

БИОФИЗИКА И МЕДИЦИНСКАЯ ФИЗИКА

Молекулярные и супрамолекулярные структуры в биологических жидкостях и их гомохиральных моделяхС. В. Стовбун^а, А. А. Скоблин*Институт химической физики имени Н. Н. Семенова РАН.**119334, Россия, Москва, ул. Косыгина, д. 4.**E-mail: ^аs.stoobun@chph.ras.ru*

Статья поступила 07.11.2011, подписана в печать 16.12.2011.

Исследована структура гомохиральных растворов, моделирующих биологические жидкости. Динамическое рассеяние света выявило в них 3 структурные группы: 1–10 нм (молекулярные ассоциаты); 10 мкм (струны), 1 мкм (изометрические гранулы). ИК-спектроскопия и хироптические измерения подтвердили наличие ассоциатов. Рассмотрены статистическая модель образования молекулярных ассоциатов и образование струн в среднем поле ассоциатов.

Ключевые слова: динамическое рассеяние света, ИК-спектроскопия, хиральность, молекулярные ассоциаты, среднее поле.

УДК: 535.71. PACS: 87.16.ad, 87.64.km, 87.64.mc.

Биологические жидкости представляют собой, как правило, хиральные растворы. Хиральность — это (в соответствии с классическим определением лорда Кельвина) свойство объекта, означающее отличие его от собственного зеркального отражения, вне зависимости от природы указанного отличия [1]. Ранее была выявлена фундаментальная структурообразующая роль хиральности, было установлено [2–4], что в низкоконтрированных (10^{-3} – 10^{-2} М) модельных гомохиральных растворах (трифторацетиловые аминокислоты в органических растворителях [2]) и в типичных биологических жидкостях (водный раствор фенилаланина, 10^{-1} М) происходит спонтанное формирование как изометрических гранул (размером $\lesssim 1$ мкм), так и анизометрических (отношение длины L к диаметру d :

$L/d \sim 10^2$ – 10^5), $d \sim 1$ мкм, $L \lesssim 1$ мм) структурных элементов — струн (рис. 1), в отличие от близких по структуре ахиральных растворов, где формируются только изометрические гранулы. Прямолинейность струн на макроскопических масштабах указывает на их упругость. Рентгеноструктурный анализ свидетельствует о кристаллической упорядоченности составляющих их молекул [5]. Формирование развитой системы струн приводит к созданию в жидкости механического каркаса и отверждению при крайне низких концентрациях (10^{-3} – 10^{-2}) М [2–4]. Для получающейся в результате среды предложено название «анизометрический гель» [6]. Следует различать анизометрию — свойство структурных элементов среды, означающее, что размеры объектов во взаимно перпендикулярных

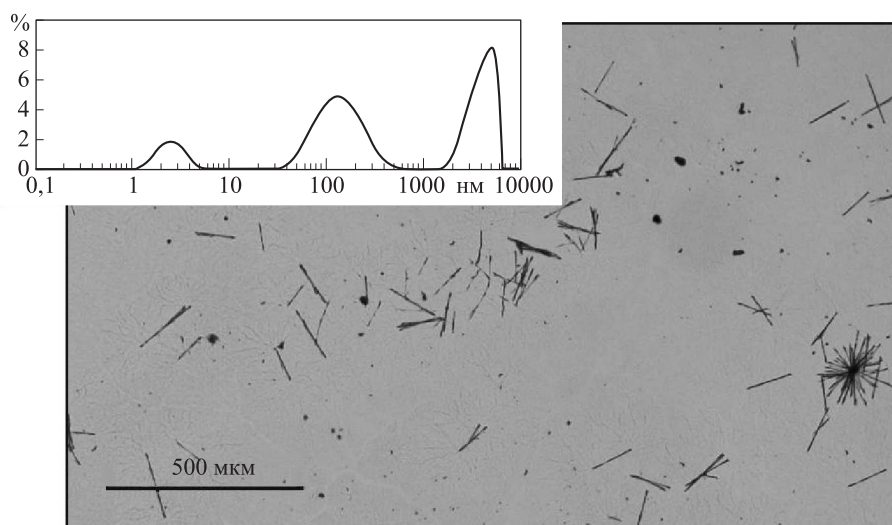


Рис. 1. Микрофото. Ксерогель (испарение растворителя из гомохирального раствора). Струны и гранулы. Врезка — типичная ДРС сигнатура гомохирального раствора. По горизонтали — размер включений в нанометрах (логарифмическая шкала). Вертикальная ось градуирована в процентах от полного числа частиц

направлениях имеют разные масштабы (квазиодномерные и квазидвумерные объекты), и анизотропию — как правило, свойство среды в целом, означающее неравнозначность различных направлений в среде или отсутствие инвариантности ее свойств относительно вращений.

Измерения динамического рассеяния света (ДРС) [7] выявили в гомохиральных растворах три четко разделенные по размеру группы структурных единиц (рис. 1, врезка): 1–10 нм (видимо, линейные молекулярные ассоциаты); десятки микрон и более (судя по всему, плавающие в растворе струны); микрон и меньше (изометрические гранулы, или небольшие струны, в зависимости от конкретного раствора). Разделение трех групп структурных единиц, по-видимому, указывает на различный механизм их формирования: анизотропная конденсация (линейные ассоциаты или элементарные струны); изотропная конденсация (изометрические гранулы); предположительно, объединение ассоциатов (элементарных струн) в микроскопические струны длиной десятки и более микрон (собственно струны). Формирование более толстых струн путем спирального сплетения более тонких является, судя по всему, основным механизмом образования струн; этот процесс экспериментально систематически прослеживается на нескольких последовательных иерархических уровнях формирования супрамолекулярной структуры растворов [8]. Если молекулы растворенного вещества имеют два хиральных центра, размер ассоциатов, как правило, приходится на интервал 10–100 нм [7], т. е. на порядок больше, чем в предыдущем случае, что согласуется с тем фактом, что отверждение этих растворов протекает при более низких концентрациях, вплоть до 10^{-4} М [2–4]. ДРС измерения для ахиральных растворов выявили только один пик, соответствующий изометрическим гранулам. Это согласуется с тем фактом, что в ахиральных растворах струны не наблюдаются, и отверждение их при низких концентрациях не происходит. Измерение ИК-спектров поглощения модельных растворов [9] показало, что спектры являются молекулярными при низкой концентрации, но далее претерпевают перестройку, сопровождающуюся появлением ярко выраженных новых максимумов и ослаблением максимумов, доминировавших ранее. При этом рост новых максимумов с концентрацией выходит на линейный, а максимумы, отвечающие неассоциированным молекулам, выходят на плато и далее несколько снижаются (рис. 2). Таким образом, молекулы растворенного вещества при определенной концентрации, начинают активно объединяться в ассоциаты, в которые далее объединяются практически все вновь растворяемые молекулы. Это хорошо согласуется с концентрационной и температурной зависимостями хироптических свойств растворов [4, 8].

Для описания объединения молекул растворенного вещества в линейные ассоциаты достаточно феноменологически учесть анизотропию или комплементарность межмолекулярного взаимодействия, обусловленную хиральностью молекул. Рассмотрим статистическую модель, опирающуюся на клеточную модель раствора [10]. Пусть N хиральных молекул блуждают

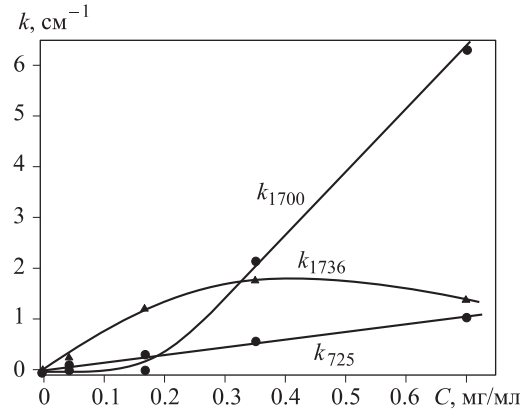


Рис. 2. Типичная зависимость коэффициентов поглощения ИК-излучения гомохиральных растворов для различных полос (указанных в см $^{-1}$) от концентрации C . Полоса k_{1736} выходит на плато при $C \approx 0.3-0.4$ мг/мл и далее немного убывает; полоса k_{1700} формируется при $C \approx 0.15$ мг/мл и растет линейно при $C > 0.25$ мг/мл; полоса k_{725} растет линейно при всех исследованных C

по N^* клеткам растворителя размера l , $N^* \gg N$, V — объем раствора, n — концентрация, $n = N/V$, $n^* = N^*/V = l^{-3}$. Хиральные молекулы объединяются в линейные ассоциаты длины $j = 1, 2, \dots, J$ (j -меры). Ограничение $j \leq J$ позволяет учесть падение подвижности ассоциатов с ростом длины. Энергия связи двух молекул равна W , энергия связи линейного j -мера: $(j-1)W$. Статистическая сумма $Z(N, V, T)$ модели (T — температура, k — постоянная Больцмана) дается следующим в основном комбинаторным выражением (допускаем попадание нескольких ассоциатов в одну клетку, что несущественно, так как растворенного вещества мало; зависимость от V дается через зависимость от $N^* = n^*V$):

$$Z(N, V, T) = \sum'_{N_1, N_2, \dots, N_J} \prod_{j=1}^J \frac{(N^*)^{N_j}}{N_j!} \exp \left\{ \sum_{j=1}^J (j-1) N_j \frac{W}{kT} \right\}, \quad (1)$$

где штрих при сумме означает, что суммирование проводится по неотрицательным N_j , удовлетворяющим условию $\sum_{j=1}^J j N_j = N$. Так как число ассоциатов каждой длины термодинамически равносильно, и его относительные флуктуации ничтожны, выражение под знаком суммы имеет острый максимум при равновесных значениях N_j , которые находятся путем минимизации величины $\ln Z$ методом неопределенных множителей Лагранжа. Тривиальное вычисление приводит к следующему результату:

$$N_j(N, V, T) = \frac{N}{\theta} x^j, \quad j = 1, 2, \dots, J, \quad (2)$$

$$\theta = \frac{N}{N^*} e^{W/kT}, \quad \sum_{j=1}^J j x^j = \theta.$$

Последнее соотношение в (2) является уравнением для определения параметра x . Это позволяет, не теряя точности в пределе $N \rightarrow \infty$, записать статистическую сумму в следующем виде:

$$Z(N, V, T) = \prod_{j=1}^J \frac{(N^*)^{N_j(N, V, T)}}{N_j(N, V, T)!} \times \exp \left\{ \sum_{j=1}^J (j-1) N_j(N, V, T) \frac{W}{kT} \right\}, \quad (3)$$

где $N_j(N, V, T)$ берутся из (2). Соотношение (3) дает выражение для свободной энергии $F = -(kT) \ln Z$, через которую выражаются все термодинамические характеристики системы. В частности, осмотическое давление p определяется соотношением $p = (T/V) \sum_{j=1}^J N_j(N, V, T)$, т.е. p зависит от полного

числа ассоциатов независимо от их длины. Состояние раствора определяется параметром θ , введенным в (3). Если раствор низкоконцентрированный, т.е. $\theta \ll 1$, то хиральные молекулы движутся в нем практически независимо. При этом ИК-спектр сводится к молекулярному, то же касается вращения плоскости поляризации проходящего света, а осмотическое давление зависит от полного числа хиральных молекул: $p = TN/V$. Если концентрация раствора высока, т.е. θ велико, а именно $\theta > Je'$, то практически все хиральные молекулы объединены в ассоциаты максимально допустимой длины J . При этом в ИК-спектре доминируют составляющие, отвечающие кооперативному взаимодействию молекул с проходящим светом, концентрационная зависимость поворота плоскости поляризации резко перестраивается, а осмотическое давление определяется соотношением $p = TN/VJ$. ДРС измерения и измерения осмотического давления показывают, что формирование молекулярных ассоциатов удовлетворительно описывается предлагаемой моделью при $J \sim 10-20$ (для молекул, имеющих два хиральных центра, $J \sim 100$) и $W \approx 0.2-0.5$ эВ.

Изотропная конденсация, приводящая к формированию изометрических гранул, подробно рассматривалась ранее [11].

Описанная выше иерархическая супрамолекулярная структура струн в гомохиральных растворах связана со сложным комплексом действующих в них слабых межмолекулярных сил, включающих богатый набор близкодествующих водородных связей, обеспечивающих комплементарность, и дальнедействующее диполь-дипольное взаимодействие. Последнее может оказывать существенное влияние, если энергия $W = Ed'$ ассоциата с дипольным моментом d' в среднем поле ассоциатов E сопоставима с тепловой: $W \sim kT$. Полагаем, что дипольные моменты молекул в ассоциате почти параллельны, так что $d' \approx dJ$, где d — дипольный момент молекулы. В неполярном растворителе напряженность поля E выражается через поляризацию P системы ассоциатов: $E = 4\pi P$. Оценка для поляризации P не зависит от факта ассоциирования молекул: $P \approx nd \approx n'd'$, где $n' = n/J$ — концентрация ассоциатов. Объединяя написанные выражения, получаем значение концентрации раствора n , при которой диполь-дипольное взаимодействие ассоциатов становится существенным, а также отвечающую этой концентрации характерную напряженность среднего поля E : $n \approx kT/4\pi d^2 J$; $E \approx 4\pi n d \approx kT/dJ$. Так, при $d \approx 5$ Д,

$J \approx 10$: $n \approx 10^{19}$ см $^{-3}$ (или $2 \cdot 10^{-2}$ М), $E \approx 3 \cdot 10^5$ В/см; при $L \approx 100$ (два хиральных центра): $n \approx 10^{18}$ см $^{-3}$ (или $2 \cdot 10^{-3}$ М), $E \approx 3 \cdot 10^4$ В/см. Полученные значения согласуются с экспериментально наблюдаемыми концентрациями интенсивного струнообразования [2–4]. Анализ литературных данных показывает, что при уменьшении d в гомологическом ряду соединений [12] струнообразование сменяется изотропной конденсацией, что также согласуется с проведенным анализом.

Структура диполь-дипольного гамильтониана U [13] позволяет в общем случае объяснить характер иерархической супрамолекулярной структуры, формируемой в гомохиральном растворе системой струн. Действительно, в фурье-представлении U имеет вид

$$U = \int d^3 k U(\mathbf{k}), \quad U(\mathbf{0}) = 0, \quad k \neq 0; \quad (4)$$

$$U(\mathbf{k}) = \frac{8\pi}{3} \mathbf{P}_{\parallel}(\mathbf{k}) \mathbf{P}_{\parallel}^*(\mathbf{k}) - \frac{4\pi}{3} \mathbf{P}_{\perp}(\mathbf{k}) \mathbf{P}_{\perp}^*(\mathbf{k}),$$

где \mathbf{k} — аргумент фурье-преобразования, $k = |\mathbf{k}|$, звезда означает комплексное сопряжение, $\mathbf{P}(\mathbf{k})$ — поляризация в фурье-представлении, введены ее продольная и поперечная компоненты $\mathbf{P}_{\parallel}(\mathbf{k}) = (\mathbf{P}(\mathbf{k}) \mathbf{k}) \mathbf{k}/k^2$, $\mathbf{P}_{\perp}(\mathbf{k}) = \mathbf{P}(\mathbf{k}) - \mathbf{P}_{\parallel}(\mathbf{k})$. Очевидно, минимуму (4) отвечает чисто поперечная поляризация, что, в частности реализуется для коллинеарных ассоциатов с антипараллельными дипольными моментами и со средней поляризацией, равной нулю (что на примере двух диполей вообще очевидно). Фактически это означает, что именно такая квазиодномерная флуктуация (с самым большим временем жизни) и вызовет сборку системы струн. При этом близко расположенные струны (как правило, имеющие противоположную ориентацию, так как суммарный дипольный момент равен нулю) с распределенной волной зарядовой плотности, имеющей спиральный мотив (навязанный короткодействующими силами), могут притянуться друг к другу и спирально залестись друг вокруг друга. Этот сюжет может быть повторен в нескольких масштабах. На наиболее высоком макроскопическом уровне это может привести к следующей типологии: а) уединенная струна (имеющая спиральный мотив), окруженная мезофазой — распределенными в растворителе в окрестности струны ассоциатами, ориентированными в основном так, чтобы скомпенсировать дипольный момент струны; б) пара коллинеарных струн с противоположной поляризацией (рис. 3); в) ДНК-подобная структура, образованная парой струн с противоположной поляризацией; г) струна, свитая из нескольких более тонких струн. Все перечисленные случаи многократно наблюдались экспериментально [8]. Вообще требование антипараллельности дипольных моментов, имеющих спиральные огибающие одной хиральности, при плотной их упаковке, неизбежно ведет к образованию структуры антипода имеющего соответственно спиральную огибающую другой хиральности. Существует огромное число фундаментальных примеров, подтверждающих этот вывод (ДНК, РНК-двойные спирали и др.).

Сборка струны по механизму среднего поля характеризуется временами, отвечающими диффузии вещества радиально к оси струны. При этом длина струны определяется только однородностью раствора. Этот процесс может быть прерван (например, при испарении

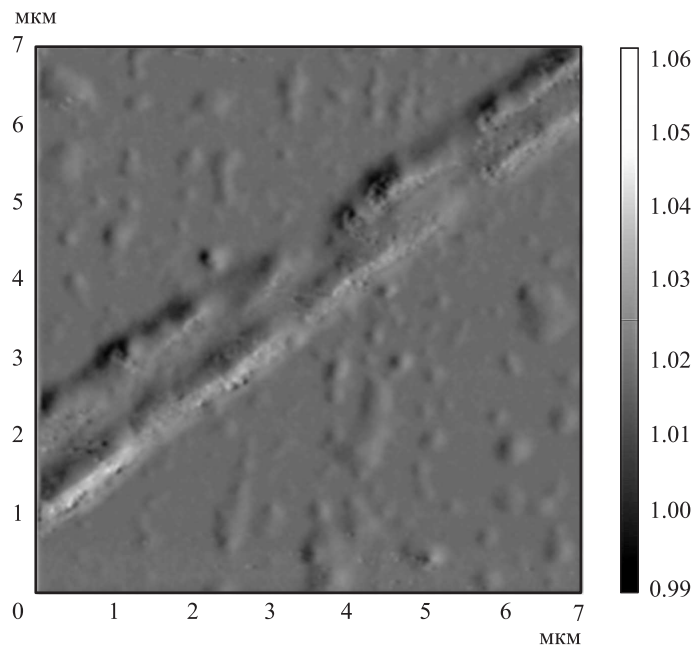


Рис. 3. Атомно-силовая микроскопия. Размер кадра 7×7 мкм. Ксерогель. Пара коллинеарных «пунктирных» струн (незавершенное формирование струн в самосогласованном поле)

растворителя), что порождает в ксерогеле характерные «пунктирные» струны (рис. 3).

Полученные результаты позволяют утверждать, что гомохиральные модели биологических жидкостей и, по-видимому, также типичные биологические жидкости, гомохиральные по целому ряду составляющих, являются дисперсными системами, содержащими линейные молекулярные ассоциаты длиной до нескольких десятков молекул, изометрические гранулы или небольшие струны размерами в пределах микрона, а также струны, длина которых составляет десятки микрон и более. Образование системы линейных ассоциатов

удовлетворительно описывается статистической моделью, учитывающей комплементарность (обусловленную хиральностью) при образовании слабых межмолекулярных связей. При этом формирование иерархической супрамолекулярной структуры струн, по-видимому, происходит в среднем поле ассоциатов, связанном с дальнедействующим диполь-дипольным взаимодействием ассоциатов.

Список литературы

1. Твердислов В.А., Яковенко Л.В., Жаворонков А.А. // Росс. хим. журн. (Журн. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). 2007. **LI**, № 1. С. 13.
2. Стовбун С.В., Михайлов А.И., Занин А.М., Костяновский Р.Г. // Вестн. МГОУ. Сер. Естественные науки. 2011. № 3. С. 92.
3. Стовбун С.В. // Хим. физ. 2011. **30**, № 8. С. 3.
4. Стовбун С.В., Занин А.М., Скоблин А.А. и др. // Хим. физ. 2011. **30**, № 12. С. 55.
5. Стовбун С.В., Скоблин А.А., Михайлов А.И. и др. // Вестн. МГОУ. Сер. Естеств. науки. 2012 (в печати). <http://stringresearchesgroup.org/>.
6. Стовбун С.В., Скоблин А.А., Занин А.М. и др. // Докл. РАН. 2012. **442**, № 5. С. 645.
7. Стовбун С.В., Скоблин А.А., Занин А.М. и др. // Вестн. МГОУ. Сер. Естеств. науки. 2012. № 1. С. 87. <http://stringresearchesgroup.org/>.
8. Стовбун С.В., Скоблин А.А., Занин А.М. и др. // Росс. нанотехнологии. 2012 (в печати). <http://stringresearchesgroup.org/>.
9. Стовбун С.В., Скоблин А.А., Занин А.М. и др. // Хим. физ. 2012 (в печати). <http://stringresearchesgroup.org/>.
10. Денисов Е.Т. Кинетика гомогенных химических реакций. М., 1988.
11. Тигер Р.П., Тарасов Д.Н., Левина М.А., Берлин А.А. Энциклопедия инженера-химика. 2010. № 9. С. 13.
12. Бредихин А.А. // Современная химическая физика. Туапсе, 2011. С. 65.
13. Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. Теоретическая физика. Т. II. Теория поля. М., 2006.

Molecular and supramolecular structures in biological fluids and their homochiral models

S. V. Stovbun^a, A. A. Skoblin

*N. N. Semenov Institute of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences,
Kosygina str. 4, Moscow 119334, Russia.
E-mail: ^a s.stovbun@chph.ras.ru.*

The structure of the homochiral solutions that simulate biological fluids has been investigated. Three types of particles were detected in mentioned solutions by means of dynamic light scattering: 1–10 nm (molecular associates), 10 μm (strings), 1 μm (isometric granules or small strings). The formation of molecular associates was confirmed by means of infrared spectroscopy. Statistical model for the formation of molecular associates was considered.

Keywords: dynamic light scattering, infrared spectroscopy, chirality, molecular associates?

PACS: 87.16.ad, 87.64.km, 87.64.mc.

Received 7 November 2011.

English version: *Moscow University Physics Bulletin* 3(2012).

Сведения об авторах

1. Стовбун Сергей Витальевич — канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотрудник; тел: (495) 222-67-88, e-mail: s.stovbun@chph.ras.ru.
2. Скоблин Алексей Алексеевич — канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотрудник; тел: (495) 939-73-27.