

УДК 615.2/.3+615.451.13:543.42.062

ИК-СПЕКТРОМЕТРИЯ В ИЗУЧЕНИИ ВЛИЯНИЯ ГЛИЦИНА, АЛАНИНА И ИХ СМЕСИ НА ВОДНЫЙ КОМПОНЕНТ МОДЕЛЬНЫХ РАСТВОРОВ

Бутавин Н.Ю., Зубарева Г.М.

ГБОУ ВПО «Тверская государственная медицинская академия» Минздрава России, Тверь, Россия (170100, г. Тверь, ул. Советская, 4).

Многочисленные биологические эффекты аминокислот в клетке и тканях связаны с их количественным и качественным составом. Это влияет на функциональную активность клетки, свойства биологических мембран, может вызвать соответствующие изменения структурного состояния водного компонента биологической системы. Задачей исследования было: изучить влияние глицина и аланина, а также их смеси на структурное состояние воды в их модельных растворах. В качестве исследуемых жидкостей использовали дважды перегнанную деионизованную воду, 1N растворы глицина, аланина. Анализируемые образцы готовили непосредственно перед снятием спектра в кварцевой посуде. После чего проводили ИК-спектроскопию с регистрацией спектров. Из полученных результатов можно заключить, что исследованные аминокислоты по-разному действуют на водную составляющую их модельных растворов, в смешанных растворах не происходит изменения количества частиц за счет их взаимодействия.

Ключевые слова: модельные растворы, аминокислоты, ИК-спектроскопия.

STUDING OF THE GLYCINE, ALANINE AND THEIR MIXES BY IR-SPECTROMETRY AT WATER COMPONENT OF THE TEST SOLUTIONS

Butavin N.Y., Zubareva G.M.

Tver State Medical Academy, Tver, Russia (170100, Tver, Sovetskaya Street, 4)

Numerous biological effects of amino acids in cells and tissues are connected with their quantitative and qualitative composition. This affects the functional activity of the cell, the properties of the biological membranes and may cause proper changes in the structural state of the biosystem water component. The main research task was to study the effects of glycine and alanine as well as their mixes on the structural state of the water in their test solutions. We used ddH₂O, 1N glycine and alanine solutions as liquids under study. The test samples had been made in fused silica flasks shortly before spectrum taking after which infrared spectroscopy with spectral registration was performed. Based on the results obtained we've come to the conclusion that these amino acids variously affect the water component of their test solutions and in mixed solutions there are no changes in the amount of particles due to their interaction.

Key words: test solutions, aminoacids, infrared spectroscopy.

Введение

Аминокислоты относятся к классу органических амфолитов, их молекулы содержат одновременно карбоксильные и аминогруппы. Специфичность каждой аминокислоты определяется строением углеводородного радикала. Доказано, что глицин, подобно гамма-аминомасляной кислоте, является медиатором торможения в центральной нервной системы. Подтверждено его участие в патогенезе перинатальной ишемии. Примечательно, что β-аланин также является тормозным медиатором, действуя на те же рецепторы, что и глицин [9], при этом он является важным источником энергии для мышц, головного мозга и центральной нервной системы. Другими словами, аминокислоты влияют на функциональную активность клетки, свойства биологических мембран отдельных органов и их систем, или могут вызвать соответствующие изменения структурного состояния водного компонента биологической системы.

Существуют литературные данные, посвященные изучению влияния аминокислот на структуру воды [10]. Авторы работы [10] используют произведение Уальдена (произведение величины вязкости и проводимости при бесконечном разбавлении раствора) для оценки влияния аминокислот на структуру водной среды. В них показано, что большинство аминокислот обладают умеренной способностью разрушать структуру водных сред. С нашей точки зрения представляло определенный интерес изучить изменения структурного состояния воды в водных растворах глицина и аланина с использованием ИК-спектроскопии.

Цель работы

Установить влияние глицина, аланина и их смеси на водный компонент модельных растворов методом ИК-спектрометрии.

Материалы и методы исследования

В качестве исследуемых жидкостей использовали дважды перегнанную деионизованную воду, 1N растворы глицина (Гли) (50046 Sigma, SID 24873323), аланина (Ала) (05129 Sigma, SID 24845820).

Для исследования нами применялись аппаратно-программный комплекс «Икар» и ИК-спектрометр с Фурье-преобразованием Nicolet IS10.

Анализируемые образцы готовили непосредственно перед снятием спектра в кварцевой посуде быстрым последовательным десятикратным разбавлением исходных растворов от 10^1 до 10^{16} раз. Для проведения спектрометрии использовался аппаратно-программный комплекс «ИКАР», разработанный сотрудниками ТГМА совместно с НИИ-2 МО РФ, представляющий собой девятизональный спектроанализатор. Спектрометр сертифицирован как новый тип измерителя (сертификат № 5745 от 20.11.98 г.), который позволяет регистрировать показатели пропускания ИК-излучения после их многократного определения в девяти широких диапазонах в слоях жидкости толщиной 15 мк в кюветах из хлористо-бромистого и йодисто-бромистого таллия (KRS). В процессе анализа в кювету аппаратной части системы помещали 20 мкл полученного раствора и проводили многократные измерения коэффициентов пропускания в течение 30 с [3; 4]. За один цикл осуществляли около 300 измерений коэффициентов пропускания и в каждом из девяти диапазонов частот рассчитывали значения дисперсий, характеризующих флуктуацию инфракрасного спектра [9]. Полученные результаты обрабатывались методом линейного дискриминантного анализа в вычислительной среде интегрированной системы расчетов MATLAB (лицензия № 1462295). Предварительно было отмечено, что в каждом интервале длин волн наблюдалось нормальное распределение величин флуктуаций. Это дало возможность по девяти значениям дисперсий, определенных на исследуемых частотах спектра, количественно охарактеризовать состояния воды в

присутствии сверхмалых количеств исследуемых веществ по сравнению с эталоном (бидистиллированная вода) с помощью критерия Махаланобиса, учитывающего корреляционные связи между коэффициентами пропускания и их дисперсиями [8]. В результате по величине отношений критерия «эталон – раствор» определяется близость (принадлежность) спектральной характеристики раствора к эталону.

Преобразование Фурье осуществляли с помощью Nicolet IS10 на компьютере в программной среде OMNIC.

Результаты и их обсуждение

На первом этапе работы нами была проведена ИК-спектметрия с Фурье-преобразованием водных 1М растворов глицина, аланина, а также их смеси. Результаты спектрографии представлены на рис. 1.

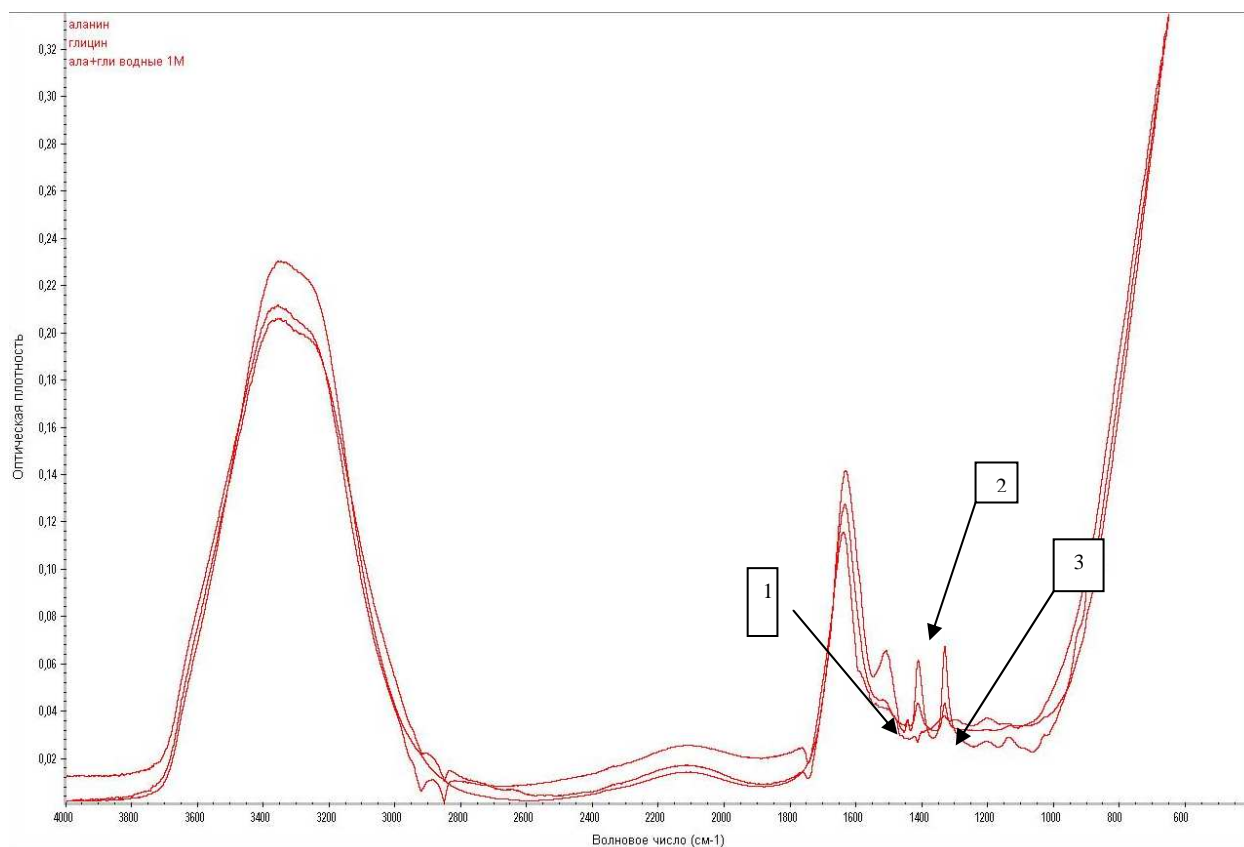


Рис. 1. Огибающие ИК-спектров 1N водных растворов аланина (1), глицина (2) и их смеси (3).

Все изучаемые растворы имеют интенсивную полосу поглощения в области 3000-3600 см⁻¹, характеризующую валентные колебания гидроксильной группы воды [1; 7]. В ИК-спектрах водных растворов глицина и аланина проявляются пики в области около 3100-3150 см⁻¹, что свидетельствует об увеличении энергетики водородной связи и структурировании воды. При длине волны 1620 см⁻¹ наблюдаются характерные для деформационных

колебаний воды пики, незначительно отличающиеся по интенсивности для исследуемых растворов. Различие в интенсивности максимумов 3100 см^{-1} - 3500 см^{-1} и 1620 см^{-1} для водных растворов глицина, по сравнению с растворами аланина, не значительно, что показывает сходное упорядочивающее действие аминокислот на структуру воды.

На следующем этапе работы было проведено исследование водного раствора глицина и аланина, полученного путем смешивания равных количеств 1N растворов исследуемых аминокислот.

В ИК-спектре этой смеси наблюдается наложение спектральных полос исследуемых аминокислот, при этом в спектре не происходило исчезновения полос поглощения, отвечающих одному из компонентов, как и не образовывалось новых спектральных полос, которые характеризовали бы образование новой связи, что говорит об отсутствии химических реакций взаимодействия данных веществ.

Анализ разведенных образцов аминокислот проводили с использованием АПК «ИКАР». Полученные данные показателей пропускания и их дисперсий обрабатывали методами многомерного анализа с вычислением критерия Махаланобиса.

Установлено (рис. 2), что для глицина анализируемый показатель изменяется волнообразно с достижением максимальных значений при разведении в 10^{16} . Разведения раствора аланина приводят к постепенному снижению критерия Махаланобиса, для которого минимальное значение исследуемой величины определено при максимальном разведении. Для данных аминокислот установлено, что исходные концентрации, а также одинаковое разведение растворов (10^5 , 10^{16}) вызывают разнонаправленное изменение структурного состояния водной основы растворов, что подтверждается величинами критерия Махаланобиса. Можно предположить, что в этом случае регистрируется неустойчивое состояние водной основы, которое, согласно литературным данным, возникает в тонких слоях жидкостей.

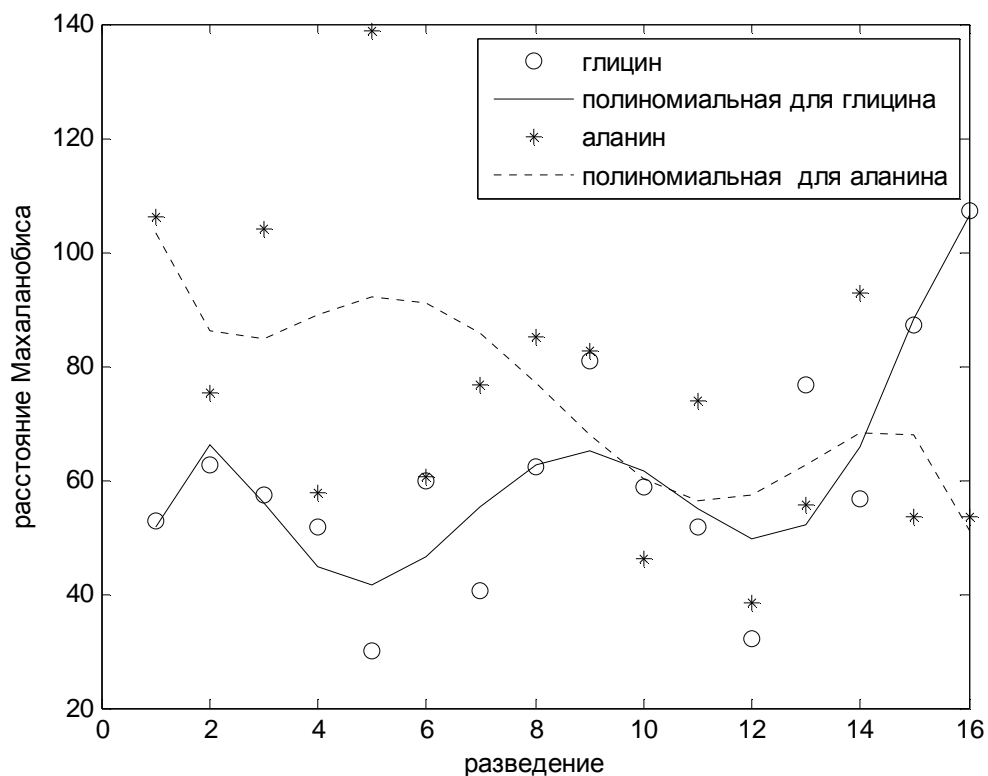


Рис. 2. Графики и их полиномиальная аппроксимация изменения расстояния Махаланобиса водных систем при разведении 1N раствора глицина и аланина.

Выводы

1. Анализ ИК-спектров водных растворов исследуемых аминокислот показывает, что в растворах аланина и глицина происходит упрочнение водородных связей между молекулами воды, за счет увеличения энергии связей ОН-групп.
2. Анализ спектральных линий смешанного водного раствора глицина и аланина подтверждает отсутствие изменения числа частиц за счет взаимодействия исследуемых веществ.
3. Установлено, что водная составляющая модельных растворов аминокислот по-разному изменяется при разведении исследуемых веществ. Вероятно, данное явление связано с процессами образования и распада гигантских кластеров, определяющих жидкокристаллическое состояние водных систем.

Список литературы

1. Беллами Л. Инфракрасные спектры сложных молекул. - М. : ИЛ, 1963. - 5190 с.
2. Зайонц В.И. Об условии существования цвиттерионов // Журн. орг. химии. - 1978. - Т. 14, № 2. - С. 402-409.

3. Каргаполов А.В., Зубарева Г.М. Способ исследования чистоты воды : патент РФ № 2164685, Б.И. - 2001. - № 9. - С. 221.
4. Каргаполов А.В., Плигин А.М., Зубарева Г.М., Шматов Г.П. Способ исследования биологических жидкостей и устройство для его осуществления : патент РФ № 2137126, Б.И. - 1999. - № 25. - С. 510.
5. Кууск А.Э. Расчет содержания ионных форм и изоэлектрических диапазонов аминокислот на основе кислотных констант диссоциации // Журн. орг. химии. - 1983. - Т. 19, № 3. - С. 485-488.
6. Май Л.А. Область существования амфолитов и цвиттер-ионов // Изв. АН Латв. ССР. - 1985. - № 1. - С.70-72.
7. Рашкес Я.В. Об основах применения инфракрасной спектроскопии в органической химии. – Ташкент : Изд-во АН Узбекской ССР, 1963. -56 с.
8. Симчера В.М. Методы многомерного анализа статистических данных. - М. : Финансы и статистика, 2008. - С. 400.
9. Carr C., Розанов А.Я. Защитный эффект и катаболизм L-аланина и L-глутамата у крыс в условиях замкнутого пространства // Современные проблемы токсикологии. - 2000. – Вып. 4. - С. 120-127.
10. Lutz O. Use of the walden product to evaluate the effect of amino acids on water structure / O. Lutz, M. Vrachopoulou, M. Groves // J. Pharm. and Pharmacol. - 1994. - V. 46. - № 9. - P. 698-703.

Рецензенты:

Лапина Галина Петровна, доктор химических наук, профессор, заведующая кафедрой физико-химической экспертизы биоорганических соединений ФГБОУ ВПО «Тверской государственный университет», г. Тверь.

Слюсарь Николай Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры химии и биохимии ГБОУ ВПО «Тверская ГМА» Минздрава России, г. Тверь.