

БИОХИМИЯ

УДК: 547.466+54-145.3

ЭФФЕКТЫ ДЕЙСТВИЯ МАЛЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ НЕКОТОРЫХ АМИНОКИСЛОТ НА ВОДНЫЙ КОМПОНЕНТ ИХ РАСТВОРОВ

Н. Ю. Бутавин, Г. М. Зубарева

Тверская государственная медицинская академия
кафедра химии и биохимии

Цель настоящей работы состояла в том, чтобы изучить степень влияния сверхмалых количеств аминокислот метионина (Мет) и глутаминовой кислоты (Глу) на состояние водной основы модельных растворов, что может являться важным фактором в объяснении механизма действия данных соединений на биологические процессы. В качестве исследуемых жидкостей использовали дважды перегнанную деионизованную воду, 1N растворы метионина и глутаминовой кислоты. Анализируемые образцы готовили непосредственно перед снятием спектра в кварцевой посуде, быстрым последовательным разбавлением исходных растворов от 10^1 до 10^{16} раз. После чего проводили ИК-спектроскопию с регистрацией спектров поглощения в области $3500-963 \text{ см}^{-1}$. Из полученных результатов можно заключить, что эффект влияния различных сверхмалых количеств Глу и Мет в широком интервале разведений можно идентифицировать как с помощью отдельных дисперсий коэффициентов показателей пропускания, так и с помощью критерия Махаланобиса, что, возможно, связано с процессами переструктуризации воды.

Ключевые слова: модельные растворы, аминокислоты, малые концентрации, ИК-спектрометрия.

Аминокислоты являются важным составным компонентом биологических систем. В частности, глутаминовая кислота участвует в синтезе ГАМК и глутамата. Образование глутамина является важным механизмом детоксикации аммония, к которому мозг чрезвычайно чувствителен и накопление которого губительно для ЦНС. Другой важной функцией глутамата является его участие в синтезе белков и биологически активных пептидов. Глутамат и глутамин вместе составляют от 8 до 10% общих аминокислотных остатков при гидролизе белков мозга. Одной из незаменимых кислот является метионин. В организме он метаболизируется до цистатинина, с изменением концентрации которого связывают ряд психических заболеваний, и таурин, который выполняет роль трансмиттера в коре и стволе головного мозга [1]. Установлено, что многочисленные биологические эффекты аминокислот в клетке и тканях связаны с их количеством или

качеством [1]. Эти изменения влияют на функциональную активность клетки, свойства биомембран, что может вызвать соответствующие изменения структурного состояния водного компонента биологической системы [2].

Цель настоящей работы состояла в том, чтобы изучить эффект влияния сверхмалых количеств аминокислот метионина и глутаминовой кислоты на состояние водной основы модельных растворов, что может являться важным фактором в объяснении механизма действия данных соединений на биологические процессы.

При проведении исследований использовался специально разработанный аппаратно-программный комплекс [3], работающий в ИК-диапазоне. Коэффициенты пропускания регистрировали в следующих диапазонах длин волн: 3500–3200 см^{-1} (1-й канал), 3085–2832 см^{-1} (2-й канал), 2120–1880 см^{-1} (3-й канал), 1710–1610 см^{-1} (4-й канал), 1600–1535 см^{-1} (5-й канал), 1543–1425 см^{-1} (6-й канал), 1430–1210 см^{-1} (7-й канал), 1127–1057 см^{-1} (8-й канал), 1067–963 см^{-1} (9-й канал). Ширина диапазона определялась оптическими параметрами соответствующего интерференционного фильтра и соответствует колебанию воды и основных биологических компонентов. Устройство спектрометра позволяло повторять измерения в каждой области через 0,1 с. Измерение осуществляли в кюветах из хлористо-бромистого талия и йодисто-бромистого талия (KRS) толщиной 15 мк, что позволяет контролировать колебания коэффициентов пропускания. В качестве исследуемых жидкостей использовали дважды перегнанную деионизованную воду, 1N растворы метионина (Met) (64319 Sigma, SID 24883259), глутаминовой кислоты (Глу) (49449 Sigma, SID 24872908). Анализируемые образцы готовили непосредственно перед снятием спектра в кварцевой посуде, быстрым последовательным разбавлением исходных растворов от 10^1 до 10^{16} раз. В процессе анализа в кювету аппаратной части системы помещали 20 мкл полученного раствора и проводили многократные измерения коэффициентов пропускания в течение 30 с [1; 4]. За один цикл осуществляли около 300 измерений коэффициентов пропускания в каждом из девяти диапазонов и рассчитывали значения дисперсий, характеризующих флуктуацию инфракрасного спектра. 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 с помощью критерия Махаланобиса, учитывающего корреляционные связи между коэффициентами пропускания и их дисперсиями [5], количественно охарактеризовать состояния водных систем в присутствии сверхмалых количеств исследуемых веществ по

сравнению с эталоном (бидистиллированная вода). В результате по величине отношений критерия «эталон – раствор» определяется близость (принадлежность) спектральной характеристики раствора к эталону.

Как показывают приведенные данные (рис. 1), сверхмалые количества глутаминовой кислоты и метионина в исследуемых растворах вызывают изменения критерия Махаланобиса, аналогичные высоким концентрациям. Отмечается, что анализируемый показатель изменяется волнообразно, что, вероятно, обусловлено процессами образования и распада гигантских кластеров, определяющих жидкокристаллическое состояние водных систем [6]. Установлено, что максимальные значения для Глу и Мет наблюдаются при разведении в 10^{15} раз. В этом случае, по-видимому, регистрируется неустойчивое состояние водной основы, которое согласно литературным данным, возникает в тонких слоях жидкостей [6; 7].

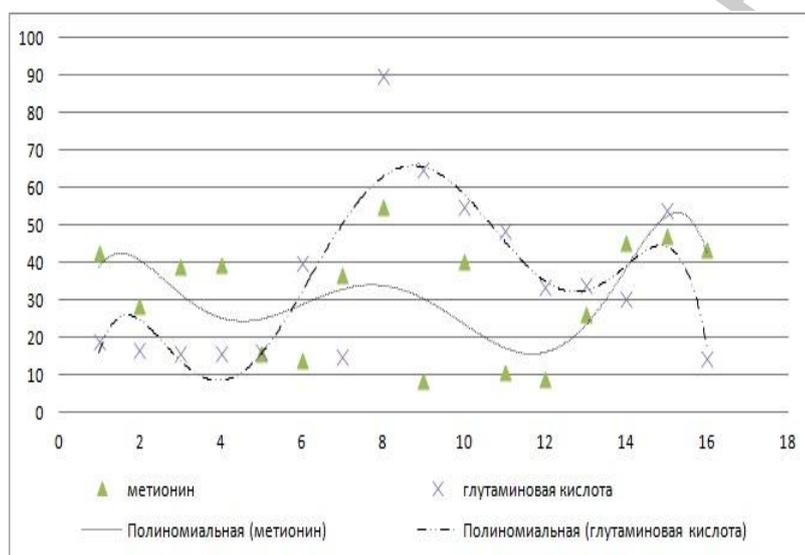


Рис. 1 Изменения расстояния Махаланобиса водных систем при разведении 1N раствора метионина и глутаминовой кислоты (примечание: ось абсцисс - разведение, ось ординат - расстояние Махаланобиса)

Следует отметить однонаправленный характер действия влияния аминокислот на водный компонент раствора. Графики этого влияния носят синусоидальный характер, что выражается в максимальных и минимальных значениях расстояния Махаланобиса при разведении исходных растворов в $10^4, 10^9, 10^{12}, 10^{15}$ раз. Для этих растворов установлены сходные значения исследуемой величины.

Представляло интерес провести сравнительный анализ

дисперсий коэффициентов пропускания отдельных исследуемых областей инфракрасного спектра, в образцах, имеющих сходные высокие или низкие критерии Махаланобиса, что может дать более детальную идентификацию состояний водных систем, возникающих в присутствии различных количеств аминокислот.

Анализ величин дисперсий растворов Глу с максимальными значениями расстояния Махаланобиса (разведения в 10^9 и 10^{15} раз) в позволил установить достоверные различия этого показателя в диапазоне длин волн: $3085-2832\text{ см}^{-1}$, $2120-1880\text{ см}^{-1}$, $1600-1535\text{ см}^{-1}$, $1543-1425\text{ см}^{-1}$, $1430-1210\text{ см}^{-1}$, где определяются, полосы поглощения, характерные для: $-\text{CH}_2$, $-\text{CH}$; $-\text{N-H}$; метиловых и метильных групп, а так же валентных и деформационных колебаний молекул воды (рис. 2).

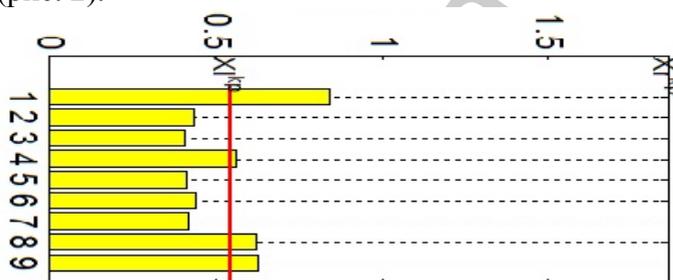


Рис. 2. Результаты сравнения дисперсий коэффициентов пропускания растворов глутаминовой кислоты в разведении 10^8 и 10^{15} раз по одномерному критерию Фишера

Для раствора Мет (разведения в 10^9 и 10^{15} раз) имеются достоверные различия в областях: $1710-1610\text{ см}^{-1}$, $1543-1425\text{ см}^{-1}$, $1430-1210\text{ см}^{-1}$, $1127-1057\text{ см}^{-1}$, $1067-963\text{ см}^{-1}$, где определяется поглощение связей вторичных аминов и карбоксильной группы; метильных и метиловых групп; $-\text{C-O}$ и $-\text{C-H}$, а так же либрационные колебания воды (рис.3).

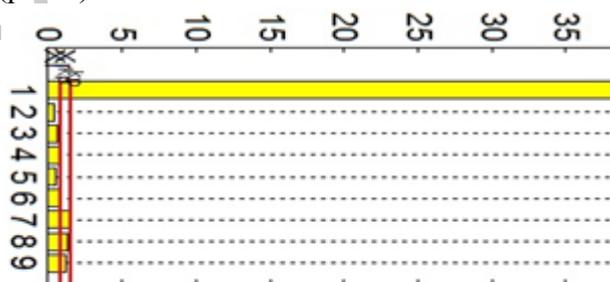


Рис. 3. Результаты сравнения дисперсий коэффициентов пропускания растворов метионина в разведении 10^9 и 10^{15} раз по одномерному критерию Фишера

Анализ величин колебаний коэффициентов пропускания растворов исследуемых аминокислот, имеющих сходные минимальные значения критериев Махаланобиса, показал наличие достоверных отличий во всех областях для глутаминовой кислоты (разведение в 10^5 и 10^{12} раз) (рис. 4), что, возможно, связано со свободными протонами Н, которые образуются при диссоциации аминокислоты [8].

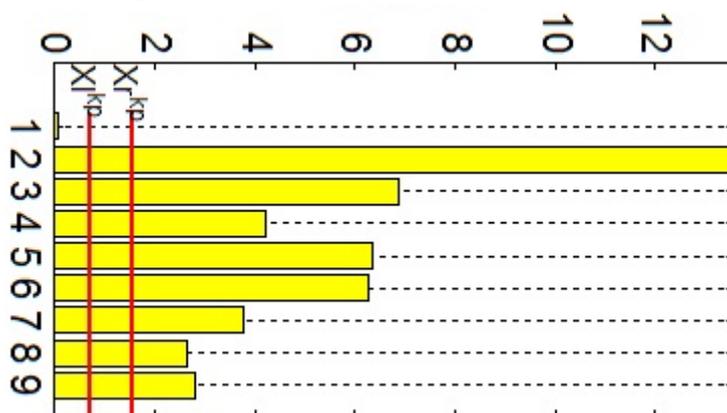


Рис. 4. Результаты сравнения дисперсий коэффициентов пропускания раствора глицина в разведении 10^5 и 10^{12} раз по одномерному критерию Фишера

Для метионина подобный анализ выявил отличия в областях ИК-спектра (рис.5) $3500-3200\text{ см}^{-1}$, $1710-1610\text{ см}^{-1}$, $1430-1210\text{ см}^{-1}$. Эти длины волн характеризуют полосы поглощения связей -ОН; вторичных аминов и карбоксильной группы; метильных, метиловых групп и валентных колебаний воды.

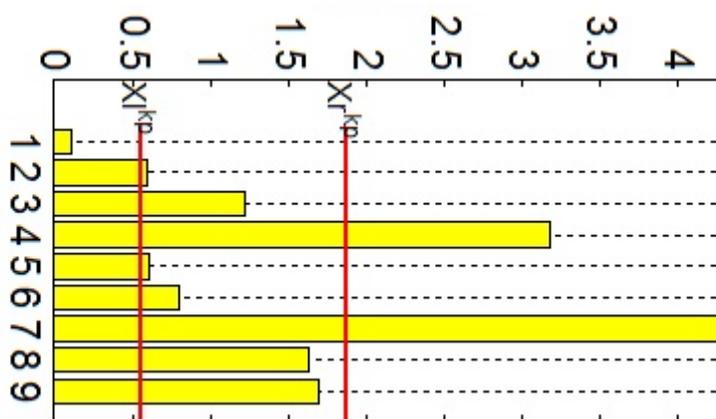


Рис. 5. Результаты сравнения дисперсий коэффициентов пропускания раствора аланина в разведении в 10^4 и 10^{12} раз по одномерному критерию Фишера

С помощью критерия Махаланобиса можно определить эффект действия Глу и Мет в широком интервале их разведений. В процессе исследования обнаружены достоверные изменения в диапазонах длин волн $1127\text{--}1057\text{ см}^{-1}$ и $3500\text{--}3200\text{ см}^{-1}$ (характерных для валентных и либрационных колебаний воды). Это дает возможность предположить, что механизм влияния этих соединений на биологические процессы может быть обусловлен переструктуризацией воды.

Из полученных результатов можно заключить, что различные сверхмалые количества Глу и Мет в широком интервале разведений изменяют структурное состояние водной основы модельных растворов аминокислот и по-разному индуцируют процесс образования кластерных структур, которые в значительной степени определяют наблюдаемые флуктуации коэффициентов пропускания.

Список литературы

1. Нейрохимия: учебник для медицинских и биологических вузов И.П. Ашмарин и др. М.: Изд. ин-та биомедицинской химии РАМН, 1996. 470с.
2. Бурлакова Е.Б., Конрадов А.А., Мальцева Е.Л. Действие сверхмалых доз биологически активных веществ и низкоинтенсивных физических факторов // Биофизика. 2004. Т. 49, вып. 3 с.551–564
3. 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.
4. Каргаполов А.В., Зубарева Г.М. Способ исследования чистоты воды. Патент РФ. № 2164685 Б.И. 2001. № 9. С.221.
5. Сошникова Л.А., Тамашевич В.Н. Многомерный статистический анализ. М.: Юнита-Дана, 1999. С. 350.
6. Фесенко Е.Е., Терпугов Е.Л. // Биофизика. 1999. Т. 44. С. 5–9
7. Пономарев О.А., Закирьянов Ф.К., Терпугов Е.Л., Фесенко Е.Е. // Биофизика. 2001. Т. 46. С. 402–407.
8. Флуктуация коэффициентов пропускания ИК-спектра водных растворов содержащих ультрамикроколичества ионов водорода // Использование ИК-спектроскопии в медицине, экологии и фармации. под ред. А.В. Каргаполова. Тверь, 1993.

INFLUENCE OF SMALL CONCENTRATIONS OF SOME AMINO ACIDS IN THE WATER COMPONENT OF THEIR SOLUTIONS

N. Y. Butavin, G. M. Zubareva

Tver State Medical Academy
Chair of chemistry and biochemistry

The aim of the present study was to investigate the effect of very-low-doses of methionine (Met) and glutamic aminoacids on the water base state of test solutions that may be an important factor in interpretation of the mechanism of action of the given compounds on the biological processes. Redistilled deionized water, methionine and glutamic aminoacid IN solutions were used as liquids under study. The samples under investigation were prepared immediately before spectrum taking in quartz dishes by rapid subsequent tenfold dilution of the initial solutions from 101 to 1016 times after which infrared spectroscopy with registration of absorbance spectra in the area 3500-963 cm⁻¹ was performed. The obtained findings showed that the effect of very-low-doses of methionine and glutamic aminoacids in a wide range of dilutions may be identified with the help of both separate dispersion ratio of transmission and Mahalanobis distance that may be connected with water restructuring processes.

Keywords: *test solutions, aminoacids, very-low-doses, infrared spectroscopy.*

Сведения об авторах

ЗУБАРЕВА Галина Мефодьевна – д.б.н., профессор, заведующая кафедрой химии и биохимии ГБОУ ВПО Тверская ГМА Минздравсоцразвития России, г.Тверь; e-mail: gmzubareva@yandex.ru

БУТАВИН Никита Юрьевич – аспирант кафедры химии и биохимии ГБОУ ВПО Тверская ГМА Минздравсоцразвития России, г.Тверь; e-mail: nikitabutavin@gmail.com