Адрес этой статьи в интернете: www.biophys.ru/archive/congress2012/proc-p70-d.pdf

ИЗМЕНЕНИЕ ВОДНОЙ ОСНОВЫ РАСТВОРОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ МАЛЫХ КОЛИЧЕСТВ ГЛИЦИНА И АЛАНИНА

Бутавин Н.Ю., Зубарева Г.М.

ГБОУ ВПО Тверская ГМА Минздравсоцразвития России, Россия
Кафедра химии и биохимии
e-mail: nikitabutavin@gmail.com, gmzubareva@yandex.ru

Введение: Аминокислоты являются важным составным компонентом биологических систем, часто выполняя функцию трансмиттеров. Так для глицина доказана роль тормозного нейромедиатора практически во всех отделах ЦНС, где он обеспечивает защитное торможение (Fagg G.E., Foster A.C. 1983 , Mayor F., Valdivieso F. 1991). Кроме того, у данной аминокислоты присутствуют общеметаболические (Лаврецкая Е.Ф. 1985), антистрессовые и ноотропные эффекты (Комиссарова И.А., Гудкова Ю.А. 1992). В то же время, потенцирующее действие глицина проявляется в концентрациях ниже 0,1 мкмоль, а концентрации от 10 до 100 мкмоль полностью насыщают глициновый сайт (Chizhmakov I.V., Kishin N.I. 1989). Интересен факт, что, например, β-аланин в составе белков не встречается, но в свободном состоянии обнаруживается в мозге и действует на те же рецепторы нейронов что и глицин[Раевский, Георгиев], оказывая тормозное действие[Керцер, Баев], а при системном введении проявляет психотропную активность. Установлено, что многочисленные биологические эффекты аминокислот в клетке и тканях связаны с их количеством или качеством. В то же время, эти изменения влияют на функциональную активность клетки, свойства биомембран, что может быть вызвано соответствующим изменением структурного состояния водного компонента биологической системы.

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

Материалы и методы: При проведении исследований использовался специально разработанный аппаратно-программный комплекс, в котором значения коэффициентов пропускания регистрировали в следующих диапазонах длин волн: 3500-3200см$^{-1}$(1 канал), 3085-2832 см$^{-1}$(2 канал), 2120-1880см$^{-1}$(3 канал), 1710-1610см$^{-1}$(4 канал), 1600-1535см$^{-1}$(5 канал), 1543-1425см$^{-1}$(6 канал), 1430-1210см$^{-1}$(7 канал), 1127-1057см$^{-1}$(8 канал), 1067-963см$^{-1}$(9 канал). Ширина диапазона определялась оптическими параметрами соответствующего интерференционного фильтра. Устройство спектрометра позволяло повторять измерения в каждой области через 0,1с. Измерение осуществляли в кюветах из хлористо-бромистого талия и йодисто-бромистого талия(KRS) толщиной 20мк, что позволяет контролировать колебания коэффициентов пропускания. В качестве исследуемых жидкостей использовали дважды перегнанную деионизованную воду, 1N растворы глицина (Гли), аланина (Ала). Анализируемые образцы готовили непосредственно перед снятием спектра в кварцевой посуде, быстрым последовательным десятикратным 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 30с. За один цикл осуществляли около 300 измерений коэффициентов пропускания и в каждом из девяти диапазонов частот 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 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. В результате по величине отношений критерия "эталон - раствор" определяется близость (принадлежность) спектральной характеристики раствора к эталону.

Результаты и их обсуждение: Как показывают приведенные данные (рис.1), в исследуемых растворах глицина сверхмалые количества, по сравнению с их высокими концентрациями, вызывают более существенные изменения критерия Махаланобиса, в то время как разведение аланина приводит к постепенному снижению данной величины. Отмечается, что анализируемый показатель изменяется волнообразно, что вероятно обусловлено процессами образования и распада гигантских кластеров, определяющих жидкокристаллическое состояние водных систем. При этом максимальные значения для глицина наблюдаются при разведении в 10^9 и 10^{16} раз, а для аланина 10^1 и 10^5 раза. В этом случае, по-видимому, регистрируется неустойчивое состояние водной основы, которое согласно литературным данным возникает в тонких слоях жидкостей.

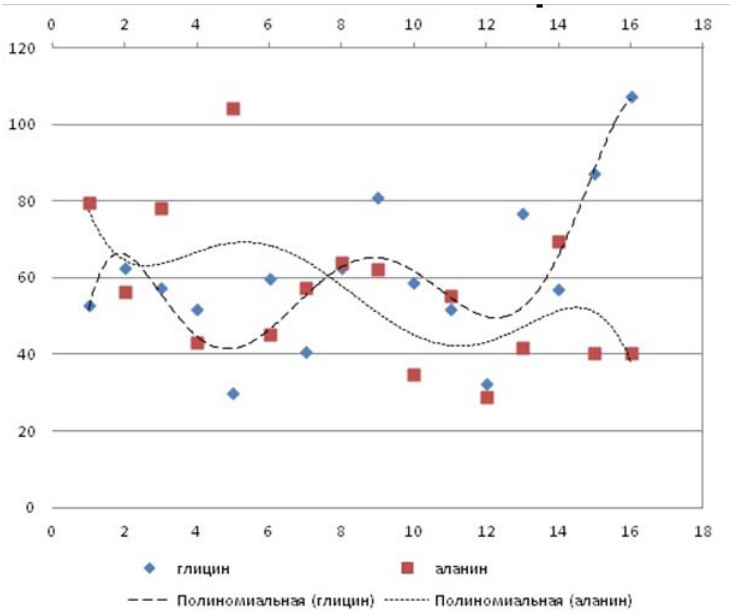

Рис.1 Изменения расстояния Махаланобиса водных систем при разведении 1N раствора глицина и аланина (примечание: ось абсцисс - разведение, ось ординат - расстояние Махаланобиса).

Следует отметить разнонаправленный характер влияния аминокислот на водный компонент раствора, что выражается в максимальных и минимальных значениях расстояния Махаланобиса при разведении исходных растворов в 10^5, 10^{13}, 10^{16} раз. Для растворов (10^{-4}, 10^{-6}, 10^{-9} и 10^{-12}) установлены сходные значения расстояния Махаланобиса. Поэтому 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 глицина с максимальными значениями расстояния Махаланобиса (разведения 10^9 и 10^{13} раз) в позволил установить достоверные различия этого показателя во всем диапазоне длин волн (рис. 2).

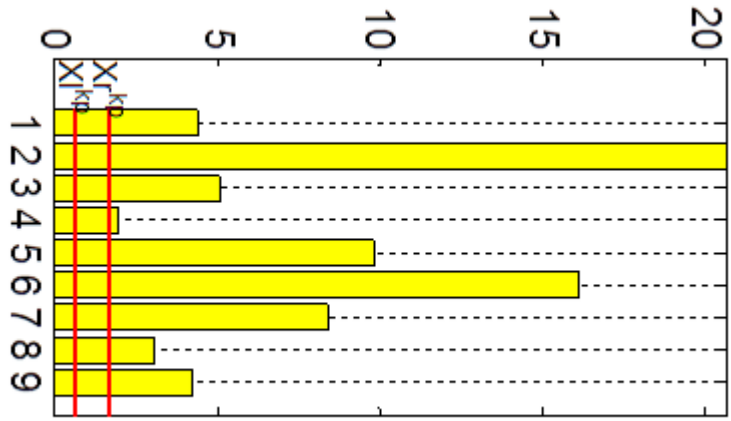

Рис. 2. Результаты сравнения дисперсий коэффициентов пропускания растворов глицина в разведении 10^9 и 10^{13} раз по одномерному критерию Фишера.

Для раствора аланина (разведения 10^5 и 10^{14}) имеются достоверные различия во всех исследуемых областях ИК-спектра, кроме области 1127-1057см$^{-1}$, где определяется поглощение связей групп –P-O-C и –C-O-C. (рис.3).

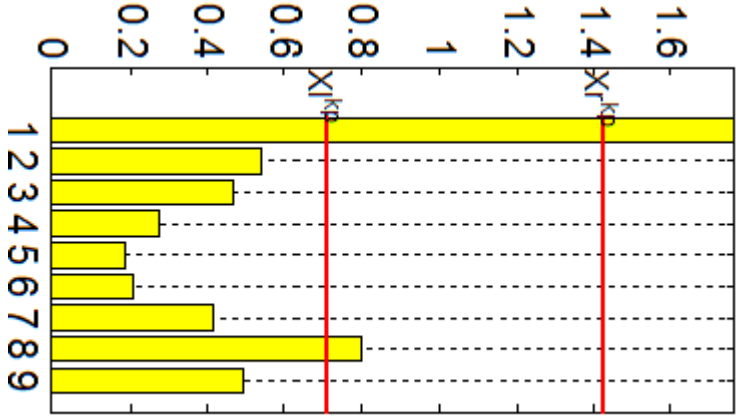

Рис. 3. Результаты сравнения дисперсий коэффициентов пропускания растворов аланина в разведении 10^5 и 10^{14} раз по одномерному критерию Фишера.

Анализ величин колебаний коэффициентов пропускания растворов исследуемых аминокислот, имеющих сходные минимальные значения критериев Махаланобиса показал, отсутствие достоверных отличий во всех областях, кроме 1543-1425см$^{-1}$ и 1710-1610 см$^{-1}$, 1067-963см$^{-1}$ для глицина (рис.4) и аланина(рис.5) соответственно. Данные диапазоны являются характеристическими для связей групп -CH_2, -CH_3;

–C=O альдегидной группы; –P-OH, –CH=CH_2.

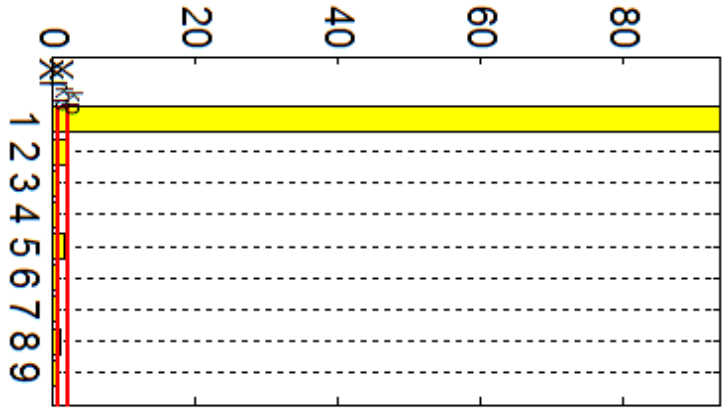

Рис. 4. Результаты сравнения дисперсий коэффициентов пропускания раствора глицина в разведении 10^5 и 10^{12} раз по одномерному критерию Фишера.

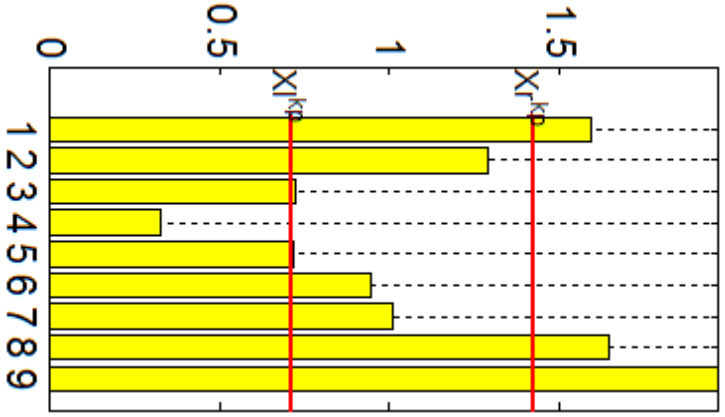

Рис. 5. Результаты сравнения дисперсий коэффициентов пропускания раствора аланина в разведении 10^4 и 10^{12} раз по одномерному критерию Фишера.

Выводы: Механизм влияния этих соединений на биологические процессы может быть обусловлен переструктуризацией воды, что можно идентифицировать как с помощью критерия Махаланобиса, так и величинами отдельных дисперсий коэффициентов пропускания в конкретной области ИК-спектра.

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

THE WATER SOLUTIONS BASIS CHANGING UNDER THE INFLUENCE OF SMALL AMOUNTS OF ALANINE AND GLYCINE.

N.Y. Butavin, G.M. Zubareva

Russia, Tver State Medical Academy
Chair of Chemistry and Biochemistry
e-mail: nikitabutavin@gmail.com, gmzubareva@yandex.ru