

## РОЗДІЛ V. БІООРГАНІЧНА ХІМІЯ ТА БАР

УДК 547.458. 88: 547. 96 - 035. 57

### ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ СРЕДЫ И ОСОБЕННОСТЕЙ ХИМИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ ПЕКТИНА НА ЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ЖЕЛАТИНОЙ

Лашко Н.П., к.х.н., доцент

*Запорожский национальный университет*

С помощью метода кругового дихроизма изучено влияние степени этерификации и характера распределения эстерных групп в макромолекуле пектина, а также pH и концентрации пектина на его взаимодействие с желатиной. Показано, что взаимодействие биополимеров протекает с увеличением доли неупорядоченной структуры в макромолекуле желатины. Эти изменения более значительны при увеличении локальной концентрации эстерных групп и усиливаются с понижением pH и повышением концентрации пектина в смеси, что свидетельствует об увеличении интенсивности взаимодействия желатины с пектином в данных условиях, протекающего, по-видимому, с участием эстерных групп пектина.

*Ключевые слова: метод кругового дихроизма, желатина, пектин, степень этерификации, блочный, статистический характер распределения эстерных групп.*

Лашко Н.П. ВПЛИВ ДЕЯКИХ ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ФАКТОРІВ СЕРЕДОВИЩА ТА ОСОБЛИВОСТЕЙ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ПЕКТИНУ НА ЙОГО ВЗАЄМОДІЮ З ЖЕЛАТИНОМ / Запорізький національний університет, Україна.

За допомогою методу кругового дихроїзму вивчено вплив ступеня етерифікації та характеру розподілення естерних груп у макромолекулі пектину, а також pH і концентрації пектину на його взаємодію з желатином. Показано, що взаємодія біополімерів протікає зі збільшенням частки неупорядкованої структури в макромолекулі желатину. Ці зміни більш значні при зростанні локальної концентрації пектину в суміші, що свідчить про зростання інтенсивності взаємодії желатину із пектином у даних умовах, яка протікає, напевно, із участю естерних груп пектину.

*Ключові слова: метод кругового дихроїзму, желатин, пектин, ступінь етерифікації, блочний, статистичний характер розподілення естерних груп.*

Lashko N.P. INFLUENCE OF SOME PHYSICAL AND CHEMICAL ENVIRONMENTAL FACTORS AND FEATURES OF THE CHEMICAL STRUCTURE OF PECTIN ON IT'S INTERACTION WITH GELATIN / Zaporizhzhya National University, Ukraine

Studied by circular dichroism effect of the esterification degree and distribution of esternyh groups in the macromolecule of pectin, as well as pH and concentration of pectin on its interaction with the gelatin. The interaction of biopolymers proceeds with increasing of the proportion of the disordered structure in the macromolecule gelatin. These changes are significant Bol by increasing the local concentration of esternyh groups and becomes stronger with decreasing pH and increasing the concentration of pectin in the mixture, which was an increase of intensity of interaction gelatin with pectin in these conditions flowing, apparently involving esternyh groups of pectin.

*Key words: method of circular dichroism, gelatin, pectin, degree of esterification, the block, the statistical nature of distribution of esternyh groups.*

### ВВЕДЕНИЕ

Белки и полисахариды являются одними из ключевых компонентов пищевых систем, играя активную роль стабилизаторов, эмульгаторов и загустителей в формировании консистенции и структуры этих систем [1-3]. Необходимость знаний совместимости данных биополимеров и термодинамических параметров их взаимодействий в водных растворах дает возможность теоретического моделирования поведения и структуры их смешанных систем [4], а также позволяет разрабатывать новые принципы создания сложных многокомпонентных пищевых систем. Сведения о влиянии направленного регулирования структуры макромолекул линейных анионных полисахаридов (изменение

концентрации функциональных групп, характера распределения их по цепи) на совместимость их с белками, имеющими неупорядоченную конформацию, ограничены. К белкам такого рода относится, прежде всего, широко используемая в пищевой промышленности, желатина.

Изменение структурных особенностей линейных анионных полисахаридов, например, концентрации функциональных групп, характера распределения их по цепи, может приводить в системах вода-желатина-линейные анионные полисахариды к изменению как сродства полимеров к растворителю, так и интенсивности взаимодействия полимеров друг с другом. Для обсуждения особенностей фазовых равновесий в системах вода-желатина-линейные анионные полисахариды необходима информация о наличии или отсутствии взаимодействия между биополимерами. Одним из методов, позволяющим регистрировать слабые взаимодействия, является метод кругового дихроизма (КД). Метод КД широко используется для исследования процессов комплексообразования биополимеров [5-7], так как образование растворимых комплексов белков с синтетическими и природными полиэлектролитами в водных средах обычно сопровождается изменением вторичной структуры белков [8].

Целью работы было изучение влияния некоторых физико-химических факторов среды (рН, концентрации) и особенностей химического строения макромолекул пектина на его совместимость с желатиной.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для проведения экспериментов готовили растворы желатины в молекулярно-дисперсном состоянии.

Для получения раствора желатины в молекулярно-дисперсном состоянии навеску геля желатины растворяли в нагретом до  $+40^{\circ}\text{C}$  фосфатном буфере с требуемыми значениями рН и ионной силы и выдерживали при этой температуре перед началом эксперимента в течении 60 минут. Далее полученный раствор центрифугировали при 50000 g в течении 90 минут. В течение эксперимента поддерживалась постоянная температура  $+40^{\circ}\text{C}$ .

В работе использовались препараты пектина с различной степенью этерификации ( $E_{\text{п}},\%$ ) и блочным, а также статистическим распределением эстерных групп по цепи.

Лиофильно высушенные препараты пектинов растворяли при интенсивном длительном (2-3 часа) перемешивании в фосфатном буфере с требуемыми значениями рН и ионной силы. После полного растворения препарата полисахарида контролировали значение рН и его раствора и, если было необходимо, раствор титровали 0,1 М NaOH до нужного значения рН.

Для более быстрого растворения препаратов пектина буфер подогревали до  $60-70^{\circ}\text{C}$ .

Во все растворы, используемые в эксперименте, вводили следы азида натрия (антисептика).

Спектры КД растворов желатины, пектинов и их смесей были получены на приборе Mark III, Jobin Yvon (Франция) в кварцевых кюветах толщиной от 0,1 до 1 см при  $+40^{\circ}\text{C}$  в диапазоне длин волн от 200 до 250 нм.

Молекулярную эллиптичность ( $\theta$ ) определяли с учетом средней молекулярной массы аминокислотного остатка желатины, равной 100 Д [9]. Взаимодействие желатины с пектином исследовали путем сопоставления спектров КД растворов желатины в составе смесей растворов желатины и пектина со спектром исходного раствора желатины, полученного в идентичных со смесью условиях. При этом принимали, что спектр пектина в комплексе с желатиной соответствует спектру КД пектина, не входящего в состав

комплекса. В связи с этим из суммарного спектра КД растворов смесей вычитали спектр КД раствора пектина соответствующей концентрации.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В работе было изучено методом КД влияние степени этерификации и характера распределения эстерных групп в макромолекуле пектина, а также рН и концентрации пектина на его взаимодействие с желатиной. Исследование взаимодействия биополимеров проводилось в условиях высокой ионной силы (0,5), чтобы исключить фактор изменения заряда макроиона полисахарида. Полученные результаты представлены на рис. 1.

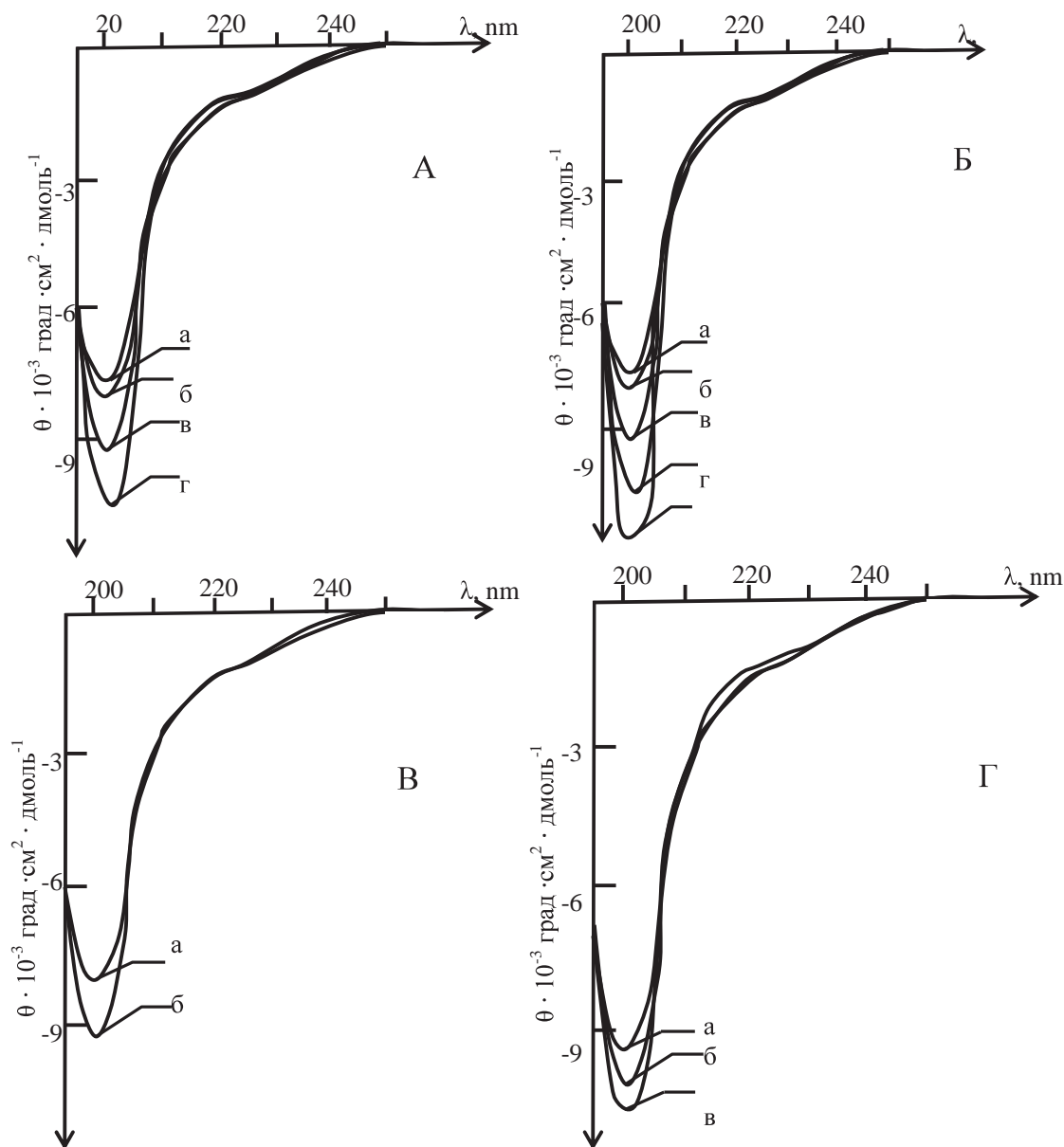


Рис. 1. Спектры КД желатины в присутствии пектина в дальней УФ-области ( $C_{\text{ж}}=0,02\%$ ;  $I=0,5$ ; и  $\text{pH}=6,0$ ;  $T=40^{\circ}$ ): А (а, б, в, г) –  $C_{\text{п}} = 0,01\%$ ;  $0,02\%$ ;  $0,04\%$  и  $0,06\%$ , соответственно;

Б (а) – спектр КД желатины; Б (б, в, г, д) –  $E_{\text{п}} = 35\%$ ;  $57\%$ ;  $73$  и  $94\%$ , соответственно;  
В (а) – статистическое распределение функциональных групп,  $C_{\text{п}}=0,06\%$ ;  $E_{\text{п}}=35\%$ ;

(б) – блочное распределение функциональных групп,  $C_n=0,06\%$ ;  $E_n=35\%$ ; Г (а, б, в) – рН 6,0; ИЭТ; 3,5, соответственно.

На рис.1 Б (а) изображен спектр КД желатины в дальней ультрафиолетовой области, полученный при рН 6,0 и ионной силе 0,5. Для него характерно наличие одного отрицательного эффекта Коттона (одной дихроичной полосы) относительно низкой интенсивности при  $\lambda = 200$  нм. Такой вид спектра характерен для белков с неупорядоченной структурой. Интересно отметить, что спектр КД раствора пектина имеет один положительный эффект Коттона в дальней ультрафиолетовой области при  $\lambda=200-210$  нм в зависимости от рН и ионной силы раствора и здесь не приводится.

Влияние концентрации пектина в смеси на стабильность структуры макромолекул желатины иллюстрируют данные на рис. 1 А. Здесь представлены спектры КД желатины в присутствии пектина различных концентраций при рН 6,0 и ионной силе 0,5. С повышением относительной концентрации пектина исследуемой смеси биополимеров от 0,01 до 0,06% при постоянной концентрации желатины интенсивность отрицательного эффекта Коттона при  $\lambda = 200$  нм в этой области спектра заметно возрастает. Таким образом, с увеличением концентрации пектина в смеси имеет место некоторое увеличение доли неупорядоченной структуры в макромолекуле желатины. Соответствующие изменения спектра КД желатины в присутствии пектина различных концентраций наблюдается и при более низкой ионной силе.

Результаты исследования влияния степени этерификации пектина на его взаимодействие с желатиной представлены на рис. 1 Б. Здесь изображены спектры КД желатины в присутствии пектинов различных степеней этерификации в дальней ультрафиолетовой области, полученные при рН 6,0 и ионной силе 0,5. Спектры КД желатины в присутствии пектата натрия ( $E=0$ ) в дальней ультрафиолетовой области идентичны тем, что получены для раствора желатины в отсутствие пектина. Повышение степени этерификации пектина в смеси от 0 до 93,8%, как видно из рисунка, приводит к значительному увеличению интенсивности отрицательного эффекта Коттона при  $\lambda = 200$  нм, достигающего максимального значения при степени этерификации 93,8%. Такой характер изменения спектров КД желатины в присутствии пектина различных степеней этерификации свидетельствует об увеличении доли неупорядоченной структуры в макромолекуле желатины при увеличении концентрации эстерных групп в макромолекуле пектина.

Влияние характера распределения эстерных групп в макромолекуле пектина на взаимодействие его с желатиной иллюстрируют данные на рис. 1 В. Здесь представлены спектры КД желатины в присутствии пектина с блочным и статистическим характером распределения эстерных групп, полученные в дальней ультрафиолетовой области при рН 6,0 и ионной силе 0,5. Для данных спектров характерно значительное увеличение интенсивности отрицательного эффекта Коттона (при  $\lambda = 200$  нм), когда смесь содержит пектин с блочным характером распределения эстерных групп. Это изменение спектров КД желатины в присутствии пектина соответствует увеличению доли неупорядоченной структуры в макромолекуле желатины при возрастании локальной концентрации эстерных групп в макромолекуле пектина.

Результаты исследования влияния рН на спектры КД желатины в присутствии пектина представлены на рис. 1 Г. Здесь изображены спектры КД желатины в присутствии пектина в дальней ультрафиолетовой области, полученные при ионной силе 0,5 и различных значениях рН. Для них характерно усиление интенсивности отрицательного эффекта Коттона (при  $\lambda = 200$  нм) с понижением рН смеси исследуемых макромолекулярных компонентов. Доля неупорядоченной структуры в молекуле желатины достигает максимального значения на спектрах КД смеси данных биополимеров при рН = 3,5.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что спектры КД желатины в присутствии пектина не аддитивны отдельно взятым спектрам КД желатины и пектина. Неаддитивность сводится к некоторому увеличению доли неупорядоченной структуры в макромолекуле желатины с возрастанием концентрации пектина в смеси. Эти изменения усиливаются с ростом степени этерификации и локальной концентрации эстерных групп в макромолекуле пектина, а также при снижении рН в кислую область. Такие изменения спектров КД желатины в присутствии пектина свидетельствует о наличии взаимодействия желатины с пектином, протекающим с увеличением доли неупорядоченной структуры в макромолекуле желатины. Тот факт, что эти изменения более значительны при увеличении локальной концентрации эстерных групп (использование пектина с блочным распределением эстерных групп) и усиливаются с понижением рН и повышением концентрации пектина в смеси, свидетельствует об увеличении интенсивности взаимодействия желатины с пектином в данных условиях. Это взаимодействие биополимеров протекает, по-видимому, с участием эстерных групп пектина.

Полученные результаты позволяют предположить, что совместимость желатины с высокоэтерифицированными пектинами обусловлена образованием слабых растворимых комплексов, стабилизированных водородными связями, образующимися, по-видимому, между карбонильным атомом кислорода эстерных групп пектина и аминогруппами желатины.

Перспектива дальнейших исследований в этом направлении – изучение поведения белка в водных средах в присутствии других компонентов пищи с целью разработки новых принципов создания сложных многокомпонентных пищевых систем.

### ВЫВОДЫ

1. Экспериментально подтверждено, что взаимодействие желатины с пектином протекает с увеличением доли неупорядоченной структуры в макромолекуле желатины.
2. Показано, что взаимодействие желатины с пектином усиливается с ростом концентрации пектина, увеличением степени этерификации и локальной концентрации эстерных групп, снижением рН среды.
3. Экспериментально показано, что взаимодействие изученных биополимеров протекает с участием эстерных групп пектина. Совместимость желатины с высокоэтерифицированными пектинами обусловлена образованием слабых растворимых комплексов, стабилизированных водородными связями, по-видимому, между карбонильным атомом кислорода эстерных групп пектина и аминогруппами желатины.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Chandler D. Interfaces and the driving force of hydrophobic assembly / D. Chandler // *Nature*. – 2005. – V. 47. – P. 640-647.
2. Nakai S. Structure-function relationships of food proteins with an emphasis on the importance of protein hydrophobicity / S. Nakai // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 1983. – V. 31 – P. 676-683.
3. Kato A. Hydrophobicity determined by a fluorescent probe method and its correlation with surface properties of proteins / A. Kato // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 1980. – V. 624 – P. 13-20.
4. Effect of the structural features of pectins and alginates on their thermodynamic compatibility with gelatin in aqueous media / [Antonov Yu.A., Lashko N.P., Glotova Yu.K., at al.]. // *Food hydrocolloids*. – 1996. – V.10. – №1. – P.1 – 9.



5. Polavarapu P. L. Vibrational circular dichroism: a new spectroscopic tool for biomolecular structural determination. / P. L. Polavarapu // Fresenius J. Anal. Chem. – 2000. – V. 366. – P. 727–734
6. Keiderling T. A. Protein and peptide secondary structure and conformational secondary structure and conformational determination with vibrational circular dichroism. / T. A. Keiderling // Curr. Opin. Chem. Biol. – 2002. – V. 6. – P. 682–688.
7. Andrushchenko V. Vibrational circular dichroism spectroscopy and the effects of metal ions on DNA structure / V. Andrushchenko // J. Molecular Structure. – 2003. – V. 661–662. – P. 541–560.
8. Bustin M. High-mobility-group chromosomal proteins: architectural components that facilitate chromatin function. / M. Bustin // Prog. Nucleic Acids Res. Mol. Biol. – 1996. – V. 54. – P. 35–100.
9. Вейс А. Макромолекулярная химия желатины / Александр Генрихович Вейс. – М.: Пищевая промышленность, 1971. – 468 с.

УДК 577.1 : 547.831 : 004.02

## КОМП'ЮТЕРНИЙ ПРОГНОЗ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ S-ЗАМІЩЕНИХ ПОХІДНИХ ХІНОЛІНУ ТА ВИВЧЕННЯ ЗАЛЕЖНОСТІ ТОКСИЧНОЇ ДІЇ ВІД ХІМІЧНОЇ БУДОВИ

Генчева В.І., к.б.н., доцент

*Запорізький національний університет*

Створено комбінаторну бібліотеку S-заміщених похідних хіноліну. Проведено попередню оцінку можливих спектрів біологічної активності цих сполук. Для кожної зі сполук визначено найбільш ймовірні фармакологічні ефекти для їх подальших досліджень.

Вивчена середня летальна доза S-заміщених похідних хіноліну, яка залежить від довжини карбонового ланцюга, наявності аміно-, N-ацетильної групи в карбоновому ланцюзі в 4-му положенні хінолінового циклу.

*Ключові слова:* S-заміщені похідні хіноліну, комп'ютерний прогноз, біологічна активність, біорегулятори, комбінаторна бібліотека, гостра токсичність.

Генчева В.И. КОМПЬЮТЕРНЫЙ ПРОГНОЗ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ S-ЗАМЕЩЕННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ХИНОЛИНА И ИЗУЧЕНИЕ ЗАВИСИМОСТИ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ОТ ХИМИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ / Запорожский национальный университет, Украина

Создана комбинаторная библиотека некоторых S-замещенных производных хинолина. Проведена предварительная оценка возможных спектров биологической активности этих соединений. Для каждого соединения определены наиболее вероятные фармакологические эффекты для их дальнейшего изучения.

Изучена средняя летальная доза S-замещенных производных хинолина, которая зависит от длины карбоновой цепи, наличия амино-, N-ацетильной группы в карбоновой цепи в 4-м положении хинолинового цикла.

*Ключевые слова:* S-замещенные производные хинолина, компьютерный прогноз, биорегуляторы, комбинаторная библиотека, острая токсичность.

Gencheva V.I. COMPUTER FORECAST OF BIOLOGICAL ACTIVITY S-REPLACED DERIVATIVES OF QUINOLINE, AND STUDY THE DEPENDENCE OF THE TOXIC EFFECT OF THE CHEMICAL STRUCTURE / Zaporizhzhya National University, Ukraine

It is created combinatorial library some S-derivative derivatives quinoline, is made preliminary estimate of the spectra of biological activity. For each of join are marked the most probable pharmacological effects for their further study