

БИОХИМИЯ

И. Е. ЭЛЬПИНЕР, И. Б. ЗБАРСКИЙ и В. Н. ХАРЛАМОВА

ДЕЙСТВИЕ УЛЬТРАЗВУКОВЫХ ВОЛН НА АМИНОКИСЛОТЫ

(Представлено академиком А. И. Опаринным 17 VI 1950)

Известно, что в поле ультразвуковых волн наблюдается разрушение животных и растительных клеток, гибель микробов, инактивация ферментов, вирусов, токсинов и других биологически активных веществ (^{1,2}). Наряду с этим ультразвуковые волны обладают химическим действием, механизма которого заключается, повидимому, главным образом, в процессах окисления.

Окисление имеет место только при такой интенсивности ультразвука, когда озвучивание сопровождается кавитацией, т. е. разрывом сплошности жидкости по пути распространения волн. Условия, препятствующие кавитации, подавляют как химические реакции, так и биологические эффекты, вызываемые ультразвуком.

Предыдущими исследованиями было показано, что ультразвуковые волны вызывают не только дезагрегацию белковых частиц, но и более глубокий распад структур белковой молекулы (³).

Весьма возможно, что в механизме биологического действия ультразвука значительную роль играют процессы окисления, вызываемые этим физическим агентом.

В настоящей работе исследовалось химическое действие ультразвуковых волн большой мощности на аминокислоты. Так как эти соединения играют большую биологическую роль, то выбор объекта представлял интерес с точки зрения изучения не только химического действия ультразвука, но и его биологического эффекта.

Ультразвуковые волны мы получали при помощи смонтированного в нашей лаборатории мощного генератора. Источником колебаний служила пьезокварцевая пластинка диаметром в 50 мм. Частота колебаний составляла 550 кгц. Подводимая к кварцевой пластинке мощность равнялась 8 вт/см². Излучатель погружался в трансформаторное масло. Ультразвуковой фонтан на поверхности масла достигал высоты в 15—20 см. Стеклянная колба с исследуемой жидкостью погружалась в названный фонтан, в результате чего в жидкости внутри колбы также возникал фонтан высотой в 3—4 см. Проникновение ультразвуковых волн внутрь колбы сопровождалось бурным перемешиванием исследуемой жидкости и почти мгновенным образованием густого белого тумана над ее поверхностью. Хотя во время озвучивания трансформаторное масло беспрерывно охлаждалось, температура озвучиваемого раствора все же повышалась до 30—35°.

Воздействию ультразвуковых волн подвергались водные растворы 13 аминокислот: *l*-аланина, *l*-валина, *l*-глутаминовой кислоты, *l*-гистидина, глицина, *l*-лейцина, *dL*-метионина, *l*-лизина *dl*-серина, *l*-аспартагиновой кислоты, *l*-тирофина, *dl*-тронина и *dl*-триптофана. Продолжительность озвучивания составляла 4 часа. Гистидин и лизин были в виде моногидрохлоридов, остальные препараты представляли собой свободные аминокислоты. Озвучиванию подвергались как растворы

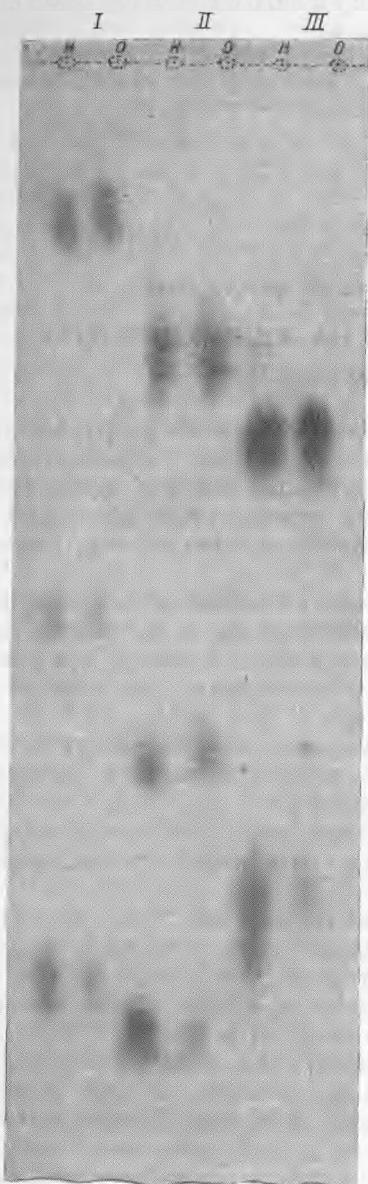


Рис. 1. В порядке возрастающего коэффициента R_F : I — аспарагиновая кислота, треонин, валин; II — глутаминовая кислота, аланин, лейцин; III — серин, гистидин, триптофан. (н — неозвученный раствор, о — озвученный раствор). В неозвученном растворе III вслед за предпоследним пятном гистидина видно слившееся с ним пятно триптофана; в соответствующем озвученном растворе пятно гистидина ослаблено, а пятно триптофана отсутствует. В озвученных растворах I и II соответственно ослаблены пятна валина и лейцина

отдельных аминокислот, так и различные смеси упомянутых растворов. Растворы обычно нейтрализовались едким натром до pH 6,0—7,0. В некоторых случаях аминокислоты озвучивались и в кислой среде при pH 3,0—4,0. Концентрация каждой аминокислоты составляла M/50 в отдельных растворах и M/150 в смесях.

Некоторые аминокислоты под действием ультразвука вышеуказанной интенсивности приобретали окраску. Так, бесцветный раствор триптофана уже через 1—1,5 часа озвучивания становился розовым, а через 4 часа — темнокрасным. Раствор тирозина под влиянием такого же воздействия становился бурым, а раствор гистидина — желтоватым. Слегка опалесцировал к концу озвучивания раствор лейцина. Видимые изменения растворов указанных аминокислот говорят об их химическом изменении и о появлении при этом окрашенных продуктов.

Результаты, указывающие на разрушение ряда аминокислот под влиянием ультразвуковых волн, были получены нами и при изучении озвученных растворов методом распределительной хроматографии на бумаге с фенолом. Сравнение пятен на хроматограммах, полученных с озвученными и неозвученными растворами аминокислот, показало, что аспарагиновая и глутаминовая кислоты, аланин, серин, треонин, лизин и глицин, повидимому, остаются в поле ультразвуковых волн без изменений, содержание же тирозина, лейцина, валина, метионина, гистидина и триптофана снижается под влиянием этого воздействия. Пятно триптофана на хроматограмме вовсе не удается обнаружить. В случае тирозина за пятном этой аминокислоты появляется окрашенная полоса („хвост“), указывающая на распад этого соединения. В месте нанесения растворов, содержащих озвученный триптофан или тирозин, обнаруживаются темные пятна образовавшегося пигмента.

Исчезновение триптофана и уменьшение содержания гистидина, лейцина и валина после озвучивания отражено на хроматограмме смесей растворов аминокислот, представленной на рис. 1.

Хроматографическое изучение растворов отдельных аминокислот, взятых в большей концентрации, дало аналогичные результаты. Кроме того, при этом обнаружилось, что озвученный раствор

гистидина дает помимо пятна, характерного для этой аминокислоты, также другое пятно, соответствующее аспарагиновой кислоте (рис. 2). Последнее обстоятельство указывает на появления аспарагиновой кислоты в растворе гистидина под влиянием ультразвуковых волн.

Распад триптофана, тирозина и гистидина в растворах, подвергшихся озвучиванию, подтвержден нами при помощи количественного определения указанных аминокислот колориметрическими методами (4-6). Триптофан при этом совсем не обнаруживался в озвученном растворе, а содержание тирозина снижалось в среднем с 3,6 мг/мл до 2,4 мг/мл. Уменьшение содержания гистидина в поле ультразвуковых волн представлено в табл. 1

Таблица 1

Количество гистидина до и после
озвучивания (в мг/мл).
(Исходный раствор М/50, 3,1 мг/мл)

№ опыта	До озвучивания.	После 4-часового озвучивания в присутствии воздуха	После 4-часового озвучивания в ат- мосфере водорода
1	3,02	1,65	2,26
2	3,06	1,62	2,29
3	3,00	1,62	2,00

Появление аспарагиновой кислоты в озвученном растворе гистидина доказано специфическим методом энзиматического декарбоксилирования по С. Р. Мардашеву (7,8) (табл. 2).

Таблица 2

Образование аспарагиновой кислоты
под влиянием ультразвуковых волн
в растворе гистидина (в % от исходного
количества гистидина).

(Продолжительность озвучивания 4 часа)

№ опыта	Мощность ультразвука в Вт/см ²	Количество аспарагиновой кислоты в % от исходного количества гистидина	
		до озвучивания	после озвучивания
1	8	Отсутствует	4,78
2	8	"	4,90
3	8	"	4,02
4	8	"	3,98
5	10	"	7,65
6	10	"	8,11

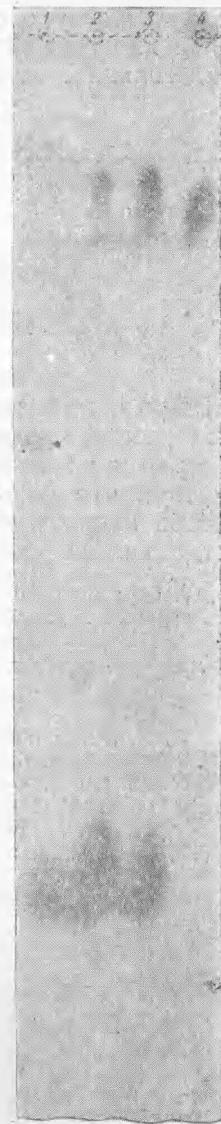
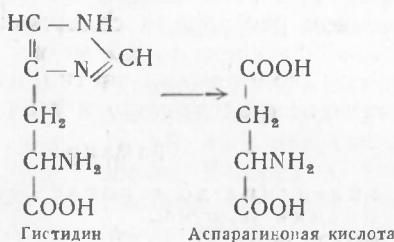


Рис. 2. 1 — гистидин неозвученный, 2 — гистидин озвученный, 3 — гистидин озвученный + аспарагиновая кислота, 4 — аспарагиновая кислота

Из табл. 1 видно, что в атмосфере водорода угнетается процесс распада гистидина. В атмосфере водорода задерживается также распад триптофана и тирозина. О последнем говорят наши наблюдения более позднего появления окрашивания при озвучивании водных растворов этих аминокислот.

Итак, можно считать установленным, что ряд аминокислот разрушается под действием ультразвуковых волн. Интересно отметить, что

разрушению подвергаются в первую очередь циклические аминокислоты (триптофан, тирозин и гистидин). Что касается аминокислот с разветвленной цепью (лейцин и валин), то их разрушение пока не подтверждено химическими методами; оно наблюдалось только на хроматограмме. В случае гистидина удалось установить один из продуктов „ультразвукового“ расщепления, а именно, аспарагиновую кислоту. Появление аспарагиновой кислоты должно быть связано с разрывом имидазольного кольца гистидина.



Разрыв имидазольного кольца наблюдается и при энзиматическом расщеплении гистидина гистидазой. Однако, при этом из гистидина образуются не аспарагиновая, а глутаминовая кислота. Необходимо отметить, что до настоящего времени не описано образования аспарагиновой кислоты при биологическом или каком-либо другом распаде гистидина.

Лаборатория по биохимии рака
Академии медицинских наук СССР

Поступило
16 VI 1950

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ И. Е. Эльпинер, Усп. совр. биол., 25, 161 (1948). ² И. Е. Эльпинер и А. П. Шейнкер, Бюлл. эксп. биол. и мед., 22, 51 (1946). ³ И. Е. Эльпинер, там же, № 8 (1950). ⁴ O. Füg h u. Z. Dische, Biochem. Zs., 146, 275 (1924). ⁵ O. Folin and V. Ciocalteu, Journ. Biol. Chem., 73, 621 (1927). ⁶ K. K. Koessleг, and M. T. Hankе, ibid., 59, 497 (1919). ⁷ С. Р. Мардашев, Микробиология, 16, 469 (1947). ⁸ С. Р. Мардашев и В. Н. Гладкова, Биохимия, 13, 315 (1948).