

УДК 621.385.032:353.33+577.17

И. Н. Смирнова¹, Е. В. Федулова¹, М. М. Назаров¹, О. П. Черкасова²

¹ Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова
Ленинские Горы, 1/62, Москва, 119992, Россия

² Институт лазерной физики СО РАН
пр. Академика Лаврентьева, 13/3, Новосибирск, 630090, Россия

E-mail: irina_ru@mail.ru

СТРУКТУРНО-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СПЕКТРАХ ТЕРАГЕРЦОВОГО ПОГЛОЩЕНИЯ РЯДА КОРТИКОСТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ

Методом импульсной терагерцовой спектроскопии исследованы спектры поглощения последовательного ряда кортикостероидных гормонов. Показано, что форма спектров поглощения однозначно связана со структурой исследуемых молекул. Исследования проведены для веществ в конденсированной и жидкой фазах (в растворе).

Ключевые слова: импульсная терагерцовая спектроскопия, стероидные гормоны, молекулярные колебания.

I. N. Smirnova, E. V. Fedulova, M. M. Nazarov, O. P. Cherkasova

STRUCTURALLY SENSITIVE CHANGES IN ABSORPTION THZ SPECTRA OF CORTICOSTEROIDS

The series of steroid hormones, such as progesterone, 17 α -hydroxyprogesterone, cortisol and other was measured by terahertz time-domain spectroscopy (THz TDS). It was obtained that THz absorption spectra of steroid hormones have characteristic lines of absorption in the frequency range 0.1-3.0 THz. We investigate the relation between the position of side functional groups and THz spectral response. Besides pellets of polycrystalline pure substances, steroids solution in methanol was analyzed. The given method can be applied for express diagnostics of different classes of steroid.

Keywords: terahertz time – domain spectroscopy, steroid hormones, molecular vibrations.

Введение

Стероидные гормоны играют важнейшую роль в регулировании многих физиологических процессов в организме человека и животных. По своему химическому строению эти соединения представляют собой систему из четырех сопряженных колец с различными заместителями [1]. Такого типа молекулярные системы обычно обладают высокой конформационной подвижностью, что проявляется в виде низкочастотных колебаний [2].

Исследуемые в данной работе вещества относятся к кортикостероидным гормонам, которые включены в последовательность химических превращений от прогестерона к

кортизону с известными изменениями в структуре молекулы [3] (рис. 1). Молекула 17 α -гидроксипрогестерона отличается от прогестерона наличием гидроксильной группы при C¹⁷. Присоединение гидроксильных групп в 11 и 21 положения молекулы 17 α -гидроксипрогестерона приводит к образованию кортизола. При замене гидроксильной группы при C¹¹ кортизола на кетогруппу образуется молекула кортизона. Ацетат кортизона отличается от кортизона заменой гидроксильной группы на ацето – в 21-м положении стеранового кольца.

Низкочастотные молекулярные колебания лежат в терагерцовом диапазоне частот, в котором отклик молекул, организованных в кристаллическую форму, на внешнее элек-

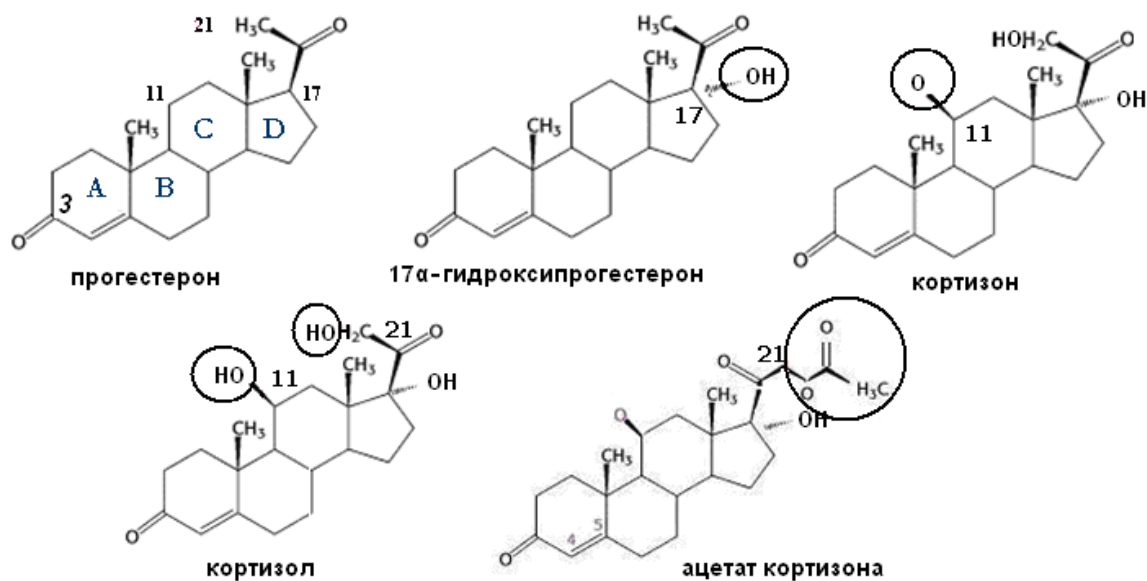


Рис. 1. Структуры исследуемых кортикостероидных гормонов

Данные о структуре исследуемых кортикостероидных гормонов

Вещество	прогестерон	17α-гидроксипрогестерон	кортизон	кортизол	ацетат кортизона	
Молекулярная формула	$C_{21}H_{30}O_2$	$C_{21}H_{30}O_3$	$C_{21}H_{28}O_5$	$C_{21}H_{30}O_5$	$C_{23}H_{30}O_6$	
Параметры элементарной ячейки a, b, c (Å)	a	12.559	9.831	10.040	14.372	11.048
	b	13.798	23.468	23.649	18.400	27.095
	c	10.340	7.839	7.784	7.706	7.102
Объем ячейки (Å ³)	1791.8	1808.5	1848.1	2037.8	2125	
Количество водородных связей	нет	1	2	5	1	

ромагнитное поле определяется как внутри-, так и межмолекулярными взаимодействиями [4]. Это приводит как к высокой информативности спектров данного диапазона частот, так и к соответствующей сложности их интерпретации.

Все исследуемые в работе вещества представлены в форме молекулярных кристаллов [5, 6, 7], относящихся к орторомбической группе симметрии $P2_12_1$, элементарные ячейки которых представляют собой прямоугольные параллелепипеды, внутри

каждого из которых расположены 4 молекулы [8]. Параметры кристаллических решеток представлены в таблице. Близость пространственной структуры всех исследуемых молекулярных систем означает подобность их дальнего кристаллического порядка, что позволяет предполагать минимальное влияние последнего на изменения в спектрах терагерцового поглощения при переходе от одного вещества к другому [9].

Целью данной работы является наблюдение структурно – чувствительных измене-

ний в спектрах поглощения ряда стероидных гормонов в терагерцовом диапазоне частот.

Экспериментальная установка и методика обработки экспериментальных данных

В работе применяется техника импульсной терагерцовой спектроскопии [10, 11], позволяющая одновременно получать информацию как о преломлении, так и о поглощении образца в терагерцовом диапазоне частот [12].

Измерения проводились на импульсном терагерцовом спектрометре, в котором в качестве источника оптического излучения использовался фемтосекундный титан-сапфировый лазер с центральной длиной волны 790 нм, частотой повторения импульсов 80 МГц и длительностью импульсов 80 фс. Для генерации терагерцового излучения использовалась поверхность полупроводника арсенида галлия (GaAs), а детектирование терагерцового излучения производилось на основе электрооптического эффекта в нелинейном кристалле теллурида цинка (ZnTe). Подробное описание спектрометра можно найти в работе [13]. Спектры поглощения образцов измерялись в диапазоне 0,1–3,0 ТГц с разрешением 0,05 ТГц.

Для определения коэффициента экстинкции образца необходимо получить спектр излучения $E_{\text{опорный}}(\omega)$, падающего на образец, и спектр излучения, прошедшего через образец, $E_{\text{образец}}(\omega)$.

Молярный коэффициент экстинкции образца $\epsilon(\omega)$ [$\frac{\text{л}}{\text{моль} \cdot \text{см}}$] может быть вычислен по формуле (1), где C – концентрация вещества в образце [моль/л], d – толщина образца [см]. Концентрация C определяется как отношение плотности ρ [г/л] к его молярной массе M [г/моль]: $C = \frac{\rho}{M}$ [моль/л].

$$\epsilon(\omega) = -\frac{2}{C \cdot d} \lg \left| \frac{E_{\text{образец}}(\omega)}{E_{\text{опорный}}(\omega)} \right|. \quad (1)$$

При исследовании растворов в метило-вом спирте сначала был измерен спектр излучения $E_{\text{спирт}}(\omega)$, прошедшего через кювету с чистым растворителем с концентрацией $C_{\text{спирт}}$, и определен коэффициент экстинкции

$\epsilon_{\text{спирт}}(\omega)$ растворителя по формуле (1). После этого был измерен спектр излучения $E_{\text{образец}}(\omega)$, прошедшего через кювету с раствором с концентрацией $C_{\text{образец}}$. Толщина кюветы в обоих случаях одинаковая $d_{\text{образец}}$. Тогда молярный коэффициент экстинкции растворенного вещества вычисляется по формуле (2).

$$\epsilon_{\text{вещество}}(\omega) = \frac{\lg \left[\frac{E_{\text{спирт}}}{E_{\text{образец}}} \right] - \epsilon_{\text{спирт}}(C_{\text{спирт}} - C_{\text{вещество}}) \cdot d_{\text{образец}}}{d_{\text{образец}} \cdot C_{\text{вещество}}}. \quad (2)$$

Исследуемые вещества производства *Koch-Light Laboratories Ltd*, Великобритания, представляют собой поликристаллические порошки, из которых для проведения измерений были изготовлены таблетки толщиной около 0,4 мм, диаметром 5 мм и средней плотностью 1,2 мг/мм³, давление гидравлического пресса составляло 50 МПа.

При работе с растворами использовалась кювета с полиэтиленовыми окнами, толщина раствора составляла 0,5 мм, концентрация исследуемого вещества, прогестерона, в метиловом спирте была 37,0 г/л.

Результаты и обсуждение

В работе исследованы спектры поглощения поликристаллической формы прогестерона и раствора прогестерона в метиловом спирте, что позволило выделить в спектрах особенности, напрямую связанные с кристаллическостью образца. Как видно из представленных результатов (рис. 2), в случае поликристаллического образца наблюдаются отдельные максимумы поглощения, расположенные на некотором «пьедестале», интенсивность которого увеличивается с частотой. Природа этого «пьедестала» в основном связана с частотной зависимостью плотности колебательных мод и рассеянием на поликристаллической структуре образца. При переходе от поликристаллического вещества к раствору разрушается упорядоченная структура, что приводит к увеличению плотности колебательных состояний и уширению отдельных колебательных резонансов.

Спектры поглощения прогестерона, 17 α -гидроксипрогестерона, кортизола, кортизона и ацетата кортизона изображены

на рис. 3. Для наглядности представления спектры смещены вдоль оси ординат.

Молекулы прогестерона образуют элементарную кристаллическую ячейку с минимальным для исследуемых веществ объемом

(см. табл.), т. е. с наиболее плотной упаковкой. Это приводит к появлению в терагерцовом спектре достаточно добротных коллективных колебаний кристаллической решетки. На рис. 3 мы наблюдаем ряд до-

Рис. 2. Спектры поглощения прогестерона:
 1 – прогестерон, растворенный в метиловом спирте,
 2 – конденсированная фаза

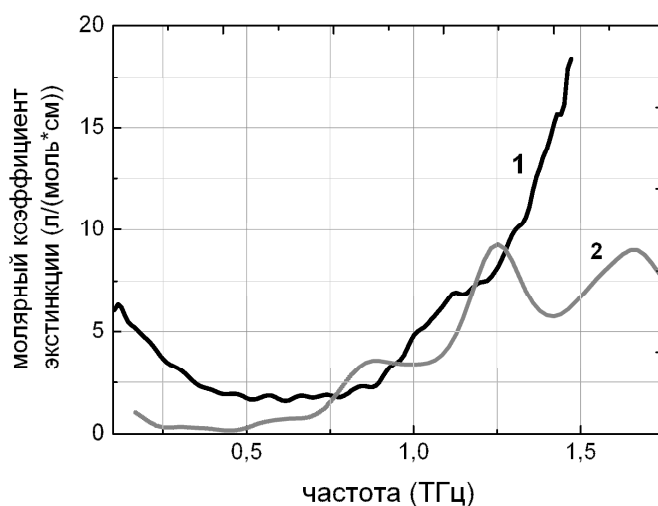
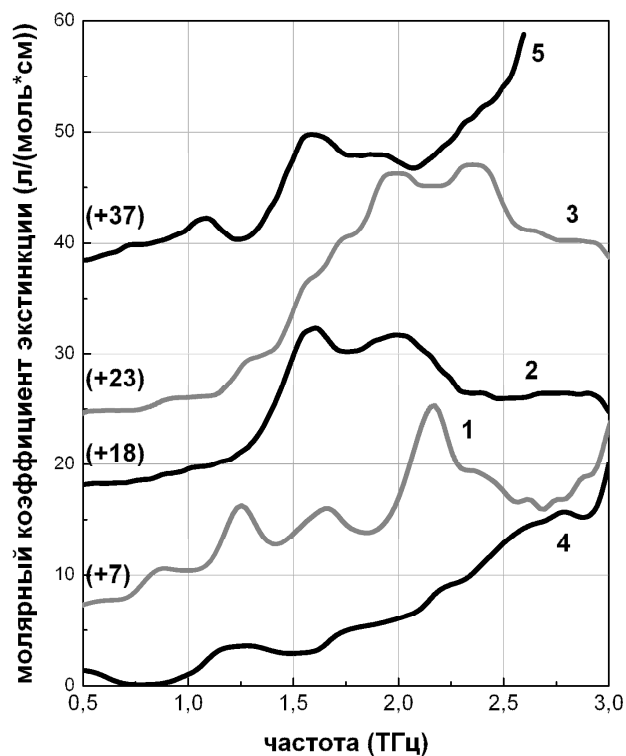


Рис. 3. Спектры поглощения гормонов в конденсированной фазе. В скобках указаны смещения графиков вдоль оси ординат:
 1 – прогестерон,
 2 – 17 α -гидроксиprogестерон,
 3 – кортизон,
 4 – кортизол,
 5 – ацетат кортизона



статочны узких для спектров комнатной температуры линий поглощения на частотах 0,87, 1,25, 1,65, 2,16 ТГц, а также «плечо» на частоте 2,42 ТГц.

Последовательное преобразование молекулярной структуры качественно отражается на динамике трех линий поглощения: 1,25, 1,65 и 2,16 ТГц. Первая модификация структуры молекулы состоит в добавлении к молекуле прогестерона одной гидроксильной группы, в результате чего получается молекула 17 α -гидроксипрогестерона. Такое изменение структуры приводит к появлению одной межмолекулярной водородной связи [14]. При этом объем ячейки увеличивается, а жесткость структуры в целом уменьшается [15]. Предположительно, это сказалось в сдвиге «дуплета» 1,25 и 1,65 ТГц в более высокие частоты (1,6 и 2,00 ТГц соответственно) и в демпфировании колебания на частоте 2,16 ТГц. Таким образом, исчезновение линии поглощения на частоте 2,16 ТГц может быть связано с возникновением более сильных, по сравнению с Ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями, водородных связей между молекулами.

Если теперь к молекуле 17 α -гидроксипрогестерона присоединить кето-группу в положение C¹¹ и гидроксильную группу в положение C²¹, то получившаяся молекула кортизона будет образовывать две водородные связи с окружающими молекулами. При этой модификации ориентация боковой цепи при C¹⁷ не изменяется. Наличие двух водородных связей приводит к увеличению объема элементарной ячейки и к уменьшению общей жесткости структуры. В спектре поглощения при этом наблюдается сдвиг «дуплета», присутствующего в спектрах прогестерона и 17 α -гидроксипрогестерона, в еще более высокие частоты до значений 2 и 2,35 ТГц соответственно. Стоит заметить, что величина этого сдвига одинакова для обеих линий и составляет 0,35 ТГц. Таким образом, анализ спектров прогестерона, 17 α -гидроксипрогестерона и кортизона позволяет связать сдвиг наблюдаемого «дуплета» с изменениями геометрических размеров элементарной ячейки.

Если заменить кето-группу при C¹¹ молекулы кортизона на гидроксильную группу, то получается молекула кортизола. Эта молекула может образовывать 5 водородных

связей со своим окружением, что приводит к значительному увеличению объема элементарной ячейки (см. табл.) и уменьшению добротности всех коллективных колебаний. Как следствие, в спектре поглощения кортизона отсутствуют отдельные резонансы кроме линии поглощения на частоте 1,29 ТГц.

Следующая последовательная модификация заключается в замене группы ОН при C¹¹ на кето-группу и замене группы ОН на ацето-группу 21-ом положении стеранового кольца. Появление более «массивной» концевой группы приводит к достаточно заметному изменению геометрии молекулы. Объем элементарной ячейки ацетата кортизона является наибольшим среди всех изучаемых веществ, его значение сравнимо с объемом элементарной ячейки кортизола. Но в отличие от кортизола, молекула ацетата кортизона образует со своим окружением лишь 2 водородные связи. Как следствие, в спектрах ацетата кортизона, так же как и в спектрах кортизола, отсутствуют отдельные линии поглощения на частотах выше 2 ТГц. Но большая жесткость структуры приводит к появлению линий поглощений на частотах 1,1, 1,6 и 1,9 ТГц.

Заключение

В работе исследованы спектры поглощения ряда стероидных гормонов в диапазоне частот 0,1–3,0 ТГц, определены основные спектральные особенности и их взаимосвязь с молекулярной структурой. Полученные результаты позволяют предположить однозначную взаимосвязь топологии спектров поглощения исследуемых молекул из ряда стероидных гормонов с их структурой, что может быть использовано для их идентификации.

Список литературы

- [1] *Сергеев П. В.* Стероидные гормоны. М.: Наука, 1984.
- [2] *Minaeva V. A., Minaev B. F., Novorun D. N.* Vibrational spectra of the steroid hormones, estradiol and estriol, calculated by density functional theory. The role of low-frequency vibrations // *Ukr. Biokhim. Zh.* 2008. Vol. 80. No. 4. P. 82–95.

- [3] Гёрёг Ш. Количественный анализ стероидов. Будапешт, 1983.
- [4] Matei A., Drichko N., Gompf B., Dressel M. Far-infrared spectra of amino acids // Chem. Phys. 2005. Vol. 316. P. 61–71.
- [5] Кутайгородский А. И. Молекулярные кристаллы. М.: Наука, 1971.
- [6] Walther M., Fischer B. M., Jepsen P. Uhd. Noncovalent intermolecular forces in polycrystalline and amorphous saccharides in the far infrared // Chem. Phys. 2003. Vol. 288. P. 261.
- [7] Fischer B. M., Walther M., Jepsen P. Uhd. Far-infrared vibrational modes of DNA components studied by terahertz time-domain spectroscopy // Phys. Med. Biol. 2002. Vol. 47. P. 3807–3814.
- [8] Duax W. L., Norton D. A. Atlas of steroid structure. N. Y: Plenum press, 1975.
- [9] Borodin A. V., Gayvoronsky V. Ya., Kachkovsky O. D. et al. Structure-sensitive changes in the terahertz absorption spectra of merocyanine dye derivatives // Optics and spectroscopy. 2009. Vol. 107. No. 4. P. 505–514.
- [10] Zhang X.-C., Jingzhou Xu. Introduction to THz Wave. Photonics© Springer Science + Business Media, LLC, 2010.
- [11] Черкасова О. П., Назаров М. М., Шкуринов А. П., Фёдоров В. И. Терагерцовая спектроскопия биологических молекул // Изв. вузов, Радиофизика. 2009. Т. 52, № 7. С. 576–582.
- [12] Dexheimer S. L. Terahertz spectroscopy: principles and applications / by Taylor & Francis Group, LLC, CRC Press, 2008.
- [13] Назаров М. М., Шкуринов А. П., Кулешов Е. А., Тучин В. В. Терагерцовая импульсная спектроскопия биологических тканей // Квант. эл. 2008. Т. 38, № 7. С. 647–654.
- [14] www.ccdc.cam.ac.uk
- [15] Szyzewskia A., Holderna-Natkaniec K., Natkaniec I. Progesterone and testosterone studies by neutron scattering and nuclear magnetic resonance methods and quantum chemistry calculations // J. of Mol. Struct. 2004. Vol. 693. P. 49–71.

09.09.2010