

Kvantnokemijski izračuni svojstava glicina

Filipović, Martina

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:580482>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Martina Filipović

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2022.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Martina Filipović

KVANTNOKEMIJSKI IZRAČUNI SVOJSTAVA GLICINA
ZAVRŠNI RAD

Mentor: izv. prof. dr. sc. Vladimir Dananić

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
POVJERENSTVO ZA ZAVRŠNE ISPITE

Kandidatkinja **Martina Filipović**

Predala je izrađen završni rad dana: 29. kolovoza 2022.

Povjerenstvo u sastavu:

izv. prof. dr. sc. Vladimir Dananić, Fakultet kemijskog
inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu
doc. dr. sc. Iva Movre Šapić, Fakultet kemijskog inženjerstva i
tehnologije, Sveučilište u Zagrebu
prof. dr. sc. Emi Govorčin Bajsić, Fakultet kemijskog inženjerstva i
tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

povoljno je ocijenilo završni rad i odobrilo obranu završnog rada pred
povjerenstvom u istom sastavu.

Završni ispit održat će se dana: 1. rujna 2022.

Izjavljujem da sam ovaj rad izradila samostalno koristeći znanja stečena tijekom studija i navedenu literaturu.

Zahvaljujem se svom mentoru izv. prof. dr. sc. Vladimiru Dananiću na otvorenosti prilikom odabira teme, na pomoći i savjetima.

Zahvaljujem se svojim roditeljima, dečku i prijateljima na strpljenju i moralnoj podršci.

Martina Filipović

SAŽETAK

U ovom radu provedene su kvantnokemijske simulacije i izračuni za određivanje strukture i svojstava molekule glicina. Za izračune i simulacije korišten je programski paket Gaussian 09, u kojem je primjenjena teorija funkcionala gustoće (eng. Density functional theory - DFT). Optimizacija glicina provedena je u osnovnom i dipolarnom obliku, u otopini i plinovitom agregatnom stanju te na različitim temperaturama. Iz dobivenih energija izračunata je jačina peptidne veze i slobodna Gibbsova energija u reakciji dobivanja glicilglicina. Spektri glicina prikazani su pomoću grafičkog sučelja GaussView 6.0, a dobiveni rezultati energija i kemijskih pomaka uspoređeni su s eksperimentalnim podacima dostupnim u literaturi.

Ključne riječi: glicin, peptidna veza, kvantnokemijski izračun, Gaussian 09

SUMMARY

Within this study, quantum chemical simulations and calculations are performed to determine the structure and properties of the glycine molecule. For simulations and calculations the density functional theory (DFT) within the software package Gaussian 09 is applied. Optimization of glycine is performed in basic and zwitterion form, also in solution, gaseous aggregate state and at different temperatures. Peptide bond strength and Gibbs free energy in the diglycine formation reaction is calculated from the obtained energies. Glycine spectra are displayed using the GaussView 6.0 graphical interface. Obtained results of energies and chemical shifts are compared with experimental data available in the literature.

Keywords: glycine, peptide bond, quantum chemical calculation, Gaussian 09

Sadržaj

1. Uvod	1
2. Aminokiseline	2
3. Glicin.....	3
3.1. Karakteristike glicina.....	3
3.2. Polimorfi glicina	3
3.2.1. Biosinteza	5
3.2.2. Kemijska sinteza	6
3.3. Kiselo-bazna svojstva	7
3.4. Peptidna veza	9
3.5. Primjena glicina	10
4. Princip djelovanja neurotransmitera.....	11
4.1. Živčana stanica	11
4.2. Akcijski potencijal	13
4.3. Neurotransmiteri	14
4.4. Glicin kao neurotransmiter	15
5. Spektri glicina i kvantnokemijski izračuni.....	16
5.1. Programski paket Gaussian 09	16
5.2. Model molekule glicina	17
5.3. Konformeri molekule glicina.....	18
5.4. Masena spektrometrija.....	19
5.5. Nuklearna magnetska rezonancija	20
5.5.1. ^1H NMR spektar	20
5.5.2. ^{13}C NMR spektar	22
5.6. UV/VIS spektroskopija.....	23
5.7. Infracrvena spektroskopija (IR).....	25
5.8. Kvantnokemijski izračuni.....	31

5.8.1. Izračun jačine peptidne veze glicilglicina i promjene Gibbsove slobodne energije	32
6. Zaključak	36
POPIS SIMBOLA	37
LITERATURA	38

1. Uvod

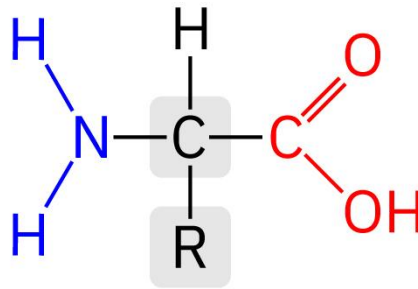
Glicin je najjednostavnija aminokiselina, koja ima vrlo važnu ulogu u ljudskom organizmu. Francuski kemičar Henri Branconnot proveo je 1820. godine pokus u kojem je pokušao dobiti šećer iz životinjskih proizvoda. Tada je prvi put izoliran glicin iz želatine, pomoću sumporne kiseline. [1]

U ovom završnom radu navedene su različite primjene i uloge glicina, a posebna pažnja posvećena je ulozi glicina kao neurotransmitera, odnosno prijenosnika živčanih signala. Osim toga glicin je bitan supstrat za sintezu raznih aminokiselina, hormona, proteina, enzima te mnogih drugih spojeva.

Za simulaciju energija optimiziranih stanja molekula te dobivanje spektara molekula, korišten je Gaussian 09, programski paket za proračun molekulskih svojstava.

2. Aminokiseline

Aminokiseline su organski spojevi koji u svojoj strukturi sadrže jednu ili više amino skupina (-NH₂) i karboksilnu skupinu (-COOH) te bočni lanac, koji može sadržavati i druge funkcionalne skupine, a jedinstven je za svaku aminokiselinu. Bočni lanac može biti alkilna skupina, atom vodika, aromatski prsten ili heterociklički prsten. [2]



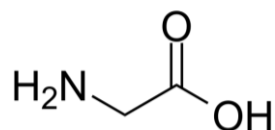
Slika 1. Opća formula aminokiselina [3]

Na temelju svojstava bočnih skupina aminokiseline se mogu podijeliti na:

- polarne ili nepolarne
- kisele, bazične ili neutralne
- pozitivno, negativno nabijene ili neutralne
- alifatske ili aromatske. [2]

U izgradnji proteina sudjeluje 20 aminokiselina i to su uvijek α -aminokiseline. Zbog toga se često nazivaju i proteinske aminokiseline. Postoje i aminokiseline koje nisu α -aminokiseline, ali one nisu monomerne jedinice proteina. Nutritivno se dijele na esencijalne i neesencijalne aminokiseline. Esencijalne aminokiseline su one koje ljudsko tijelo nije sposobno samostalno sintetizirati, nego se moraju unositi putem prehrane. To su: izoleucin, leucin, lizin, metionin, fenilalanin, histidin, metionin, treonin, triptofan, valin. Neesencijalne aminokiseline tijelo može samo proizvesti. Tu spadaju: arginin, alanin, asparagin, asparaginska kiselina, cistein, glicin, prolin, glutaminska kiselina, glutamin, serin i tirozin. [4]

3. Glicin



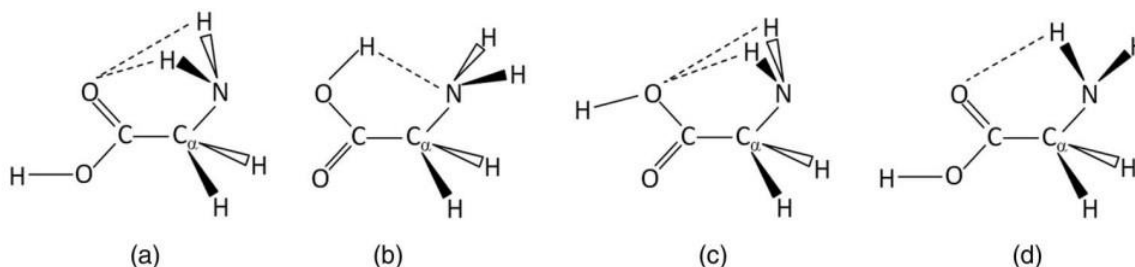
Slika 2. Strukturna formula molekule glicina [5]

3.1. Karakteristike glicina

Glicin je najjednostavnija neesencijalna aminokiselina, koja se sastoji od atoma ugljika povezanog s dva atoma vodika te s amino i karboksilnom skupinom. Kemijski naziv prema IUPAC-u je 2-aminooctena kiselina, a njegova troslovnna oznaka je Gly. Molekularna formula glicina glasi C₂H₅NO₂, a molekularna masa iznosi 75,067 g mol⁻¹. Gustoća glicina iznosi 1,1607 g cm⁻³. Jedina je aminokiselina koja ne zakreće ravninu polarizirane svjetlosti, odnosno nije optički aktivna tvar. Nalazi se u vezivnom tkivu, tetivama, ligamentima, koži, hrskavici i kostima te u želatini. [6]

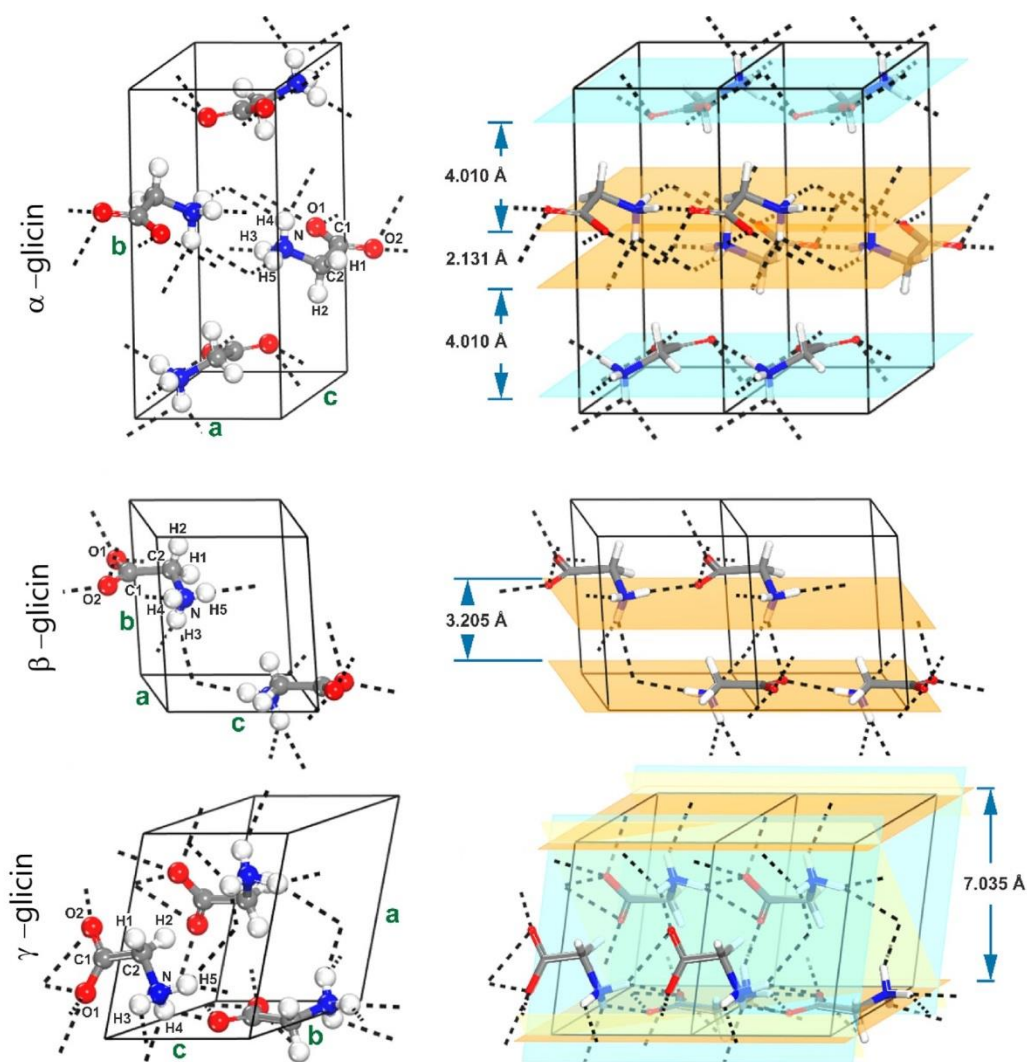
3.2. Polimorfi glicina

U plinovitoj fazi glicin može tvoriti četiri stabilna konformera koji se razlikuju prema položaju -OH i -NH₂ skupine. Na slici 3. su prikazane njihove geometrijske strukture. Najstabilniji je konformer pod (a), čija je zastupljenost 52,6 %. Zastupljenost konformera (b) iznosi 9,0 %, (c) 29,6 % te konformera (d) 6,8 %. Stabilniji konformeri su oni u kojima su -OH i -NH₂ skupine smještene na suprotnim stranama molekule. [7]



Slika 3. Četiri stabilna i najčešća konformera molekule glicina [7]

U vodenoj otopini i u čvrstom stanju dolazi u zwitterionskom obliku. Iako zwitterionizacija uzrokuje povećanje energije, zwitterionski kristali se stabiliziraju stvaranjem većeg broja vodikovih veza, nego što bi to bilo u osnovnom obliku molekule. Glicin se u kristalnom stanju može pojaviti u tri različita oblika, kao α -, β - i γ -glicin. Najstabilniji pri sobnoj temperaturi i tlaku je γ -oblik, zatim α -oblik, a najmanje stabilan je β -glicin. Polimorfi se međusobno razlikuju po kutu između C i N te po okretu C-C veze.



Slika 4. Jedinične ćelije polimorfa glicina

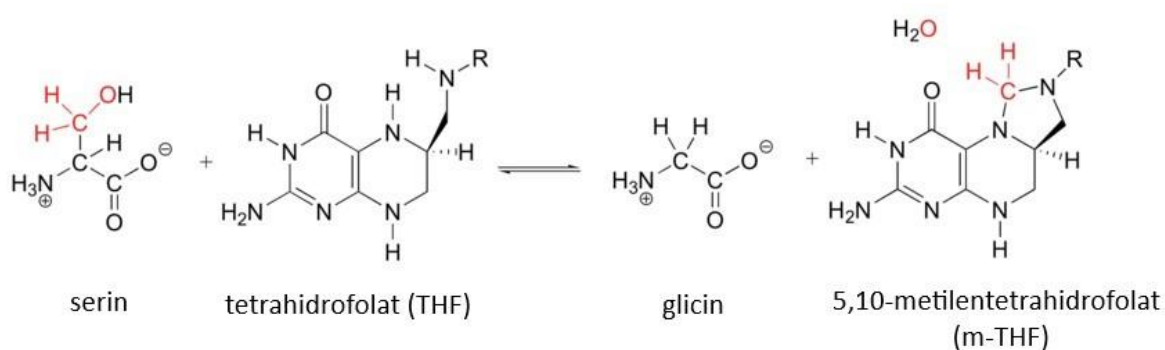
Kristal α -glicina ima jediničnu monoklinsku ćeliju s četiri zwitterionske jedinice. Dipolarni ioni su složeni u dvosloj, a povezani su pomoću tri vodikove veze koje uključuju aminske i karboksilne skupine: $N-H3 \cdots O2$, $N-H4 \cdots O2$ i $N-H5 \cdots O1$. Jedinična ćelija β -glicina je također monoklinska, ali s dvije zwitterionske jedinice. Kristal je sastavljen od monoslojeva glicinskih zwitteriona, pri čemu je svaki monosloj povezan $N-H5 \cdots O2$ vodikovom vezom, a

monoslojevi su međusobno povezani $N-H3 \cdots O1$ i $N-H3 \cdots O2$ vezama. U slučaju γ -glicina, kristal je sastavljen od heksagonalnih jediničnih ćelija, koje sadrže tri zwitterionske jedinice. U c ravnini su povezani $N-H5 \cdots O1$ vodikovim vezama, a $N-H3 \cdots O2$ i $N-H4 \cdots O1$ veze tvore spiralne strukture.

Uvjetima provedbe procesa (radnim uvjetima), sastavom otopine te dodatkom različitih organskih i anorganskih aditiva moguće je utjecati na vrstu, oblik i raspodjelu veličina kristala koja će nastati. Hlađenjem vodenih otopina glicina uglavnom nastaju α -kristali. Često se tijekom kristalizacije dobiva smjesa dva ili sva tri polimorfa, a moguće su i transformacije iz jedne vrste kristala u drugu. Transformacije se mogu provoditi na razne načine. Tako npr. zagrijavanjem α -kristala do $170\text{ }^\circ\text{C}$ dolazi do stvaranja γ -glicina. Transformacija α -glicina u γ -glicin događa se pri visokom sadržaju vlage, a β -glicin se u prisustvu vlage pri sobnoj temperaturi transformira u α - ili γ -glicin. [8]

3.2.1. Biosinteza

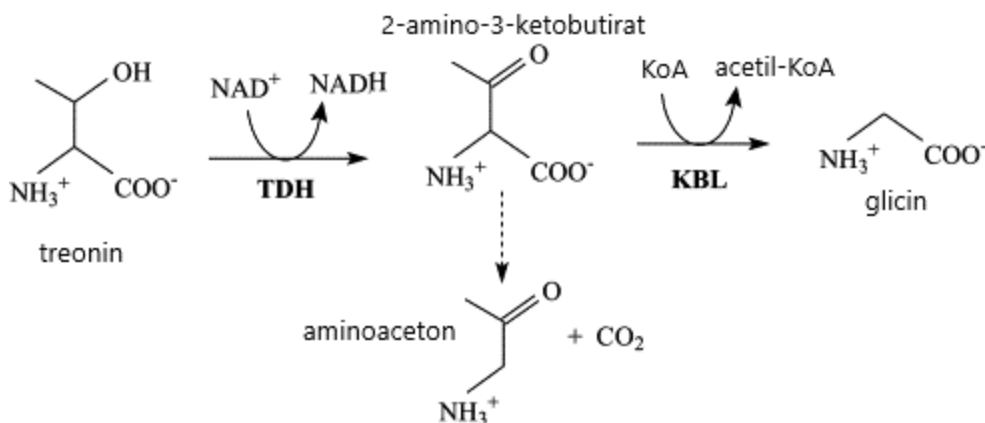
Biosinteza se odvija u jetri, gdje se uz pomoć enzima serin hidrosimetiltransferaze (SHMT), glicin proizvodi iz aminokiseline serina i tetrahidrofolata. U reakciji dolazi do prijenosa hidrosimetilne skupine sa serina na tetrahidrofolat (THF), a uz molekulu glicina, u reakciji nastaje i 5,10-metilentetrahidrofolat te se oslobađa molekula vode. Reakcija sinteze glicina iz serina je reverzibilna. [9]



Slika 5. Reakcija nastajanja glicina iz serina uz pomoć THF i enzima SHMT

Drugi način biosinteze glicina je uz pomoć aminokiseline treonina. Enzim treonin dehidrogenaza (TDH) oksidira treonin u 2-amino-3-ketobutirat. Enzim 2-amino-3-ketobutirat KoA ligaza (KBL) prevodi 2-amino-3-ketobutirat u glicin i acetyl-KoA. 2-amino-3-ketobutirat

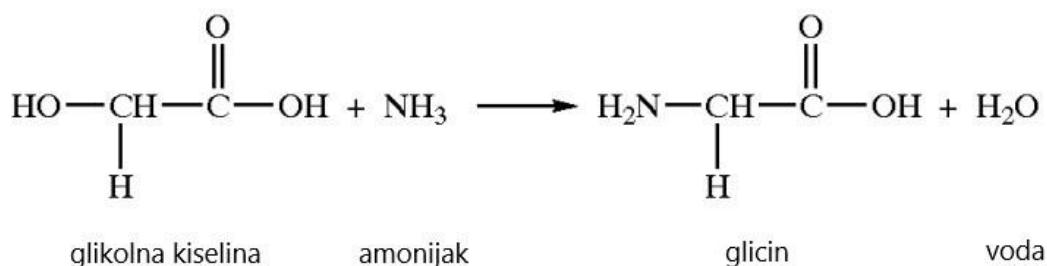
je vrlo nestabilan te zbog toga može doći do razgradnje na aminoaceton i ugljikov dioksid. Enzimi TDH i KBL tvore multienzimski kompleks, koji sprječava da dođe do razgradnje 2-amino-3-ketobutirata i usmjeravaju reakciju prema nastajanju glicina. [10]



Slika 6. Reakcija nastajanja glicina iz treonina

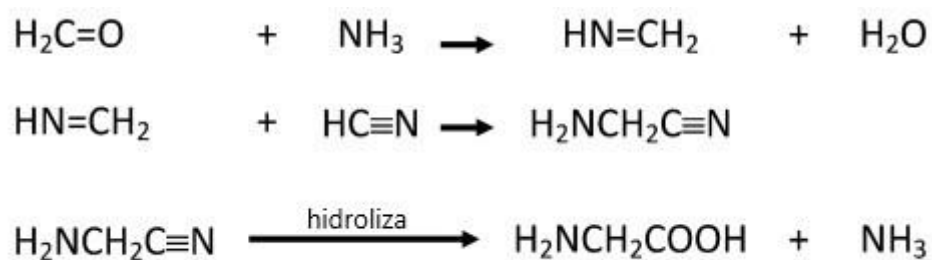
3.2.2. Kemijska sinteza

- 1) Glicin se može sintetizirati iz glikolne kiseline uz pomoć enzima glicin aminotransferaze. Enzim omogućava prijenos amino skupine s glutaminske kiseline na glikolnu kiselinu, a kao produkti reakcije nastaju glicin i 2-oksoglutarina kiselina. [11]



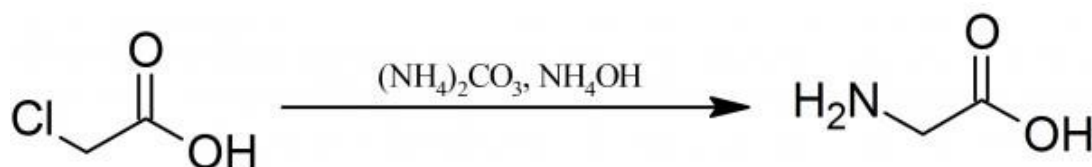
Slika 7. Reakcija nastajanja glicina iz glikolne kiseline

- 2) Streckerovom reakcijom moguće je dobiti glicin iz formaldehida. Reakcijom između amonijaka i formaldehida dolazi do nastajanja metanimina i izdvajanja molekule vode. Dodatkom cijanovodika metaniminu, nastaje aminoacetonitril. Hidrolizom aminoacetonitrila dolazi do nastajanja glicina i oslobađanja molekule amonijaka. [12]



Slika 8. Postupak nastajanja glicina Streckerovom reakcijom

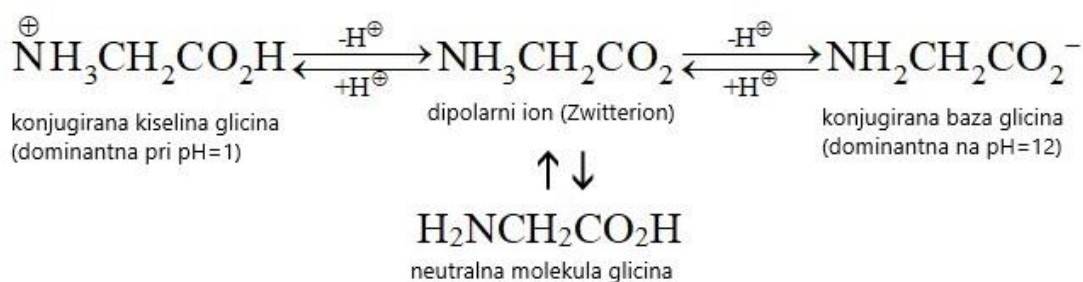
- 3) Aminiranje klorooctene kiseline s amonijakom najstariji je postupak proizvodnje glicina. [13]



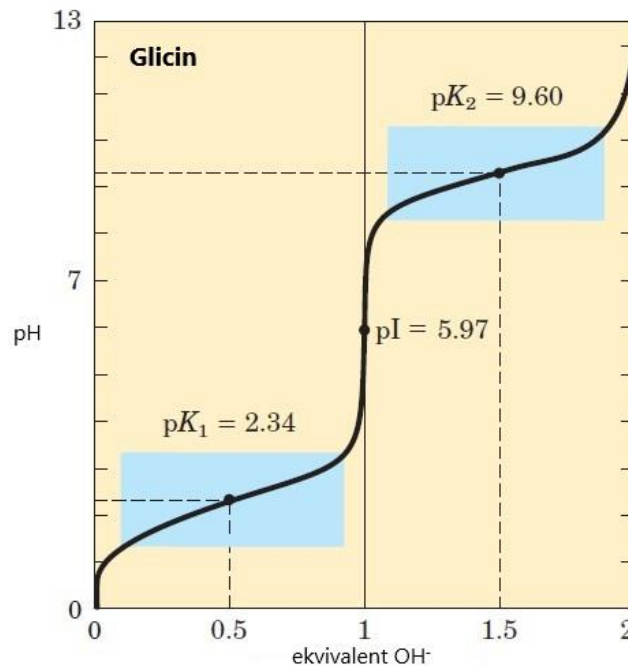
Slika 9. Postupak dobivanja glicina iz klorooctene kiseline [14]

3.3. Kiselo-bazna svojstva

Aminokiseline sadrže kiselu (-COOH) i baznu skupinu (-NH₂) što ih čini amfoternim spojevima, odnosno mogu se ponašati i kao kiseline (disocijacijom oslobađaju H⁺ ione) i kao baze (primaju H⁺ ione). U slučaju kada su i kisela i bazna skupina disocirane, nastaje dipolarni ion (tzv. zwitterion). Dipolarni ion je vrlo stabilan jer se -COO⁻ skupina i -H₃N⁺ skupina međusobno stabiliziraju, a pH vrijednost pri kojoj je prisutan dipolarni oblik naziva se izoelektrična točka (pI). Oblik u kojem je prisutan glicin ovisit će o pH vrijednosti. Pri nižim vrijednostima pH prevladava kationski oblik, a pri visokim vrijednostima prevladava anionski oblik glicina.



Slika 10. Disocijacija glicina u ovisnosti o pH vrijednosti



Slika 11. Titracijska krivulja glicina

Slika 11. prikazuje krivulju titracije glicina koncentracije 0,1 M, pri 25 °C. Konstanta disocijacije kationskog oblika iznosi $4,5 \times 10^{-3}$, što znači da je pK_a vrijednost 2,34. Konstanta disocijacije anionskog oblika glicina iznosi $2,0 \times 10^{-10}$ te stoga pK_a' vrijednost iznosi 9,60. Izrazi preko kojih je moguće izračunati pojedine pK_a vrijednosti glase:

$$pK_a = \text{pH} + \log_{10} \frac{\left[\text{H}_3 \overset{\oplus}{\text{N}} \text{CH}_2 \text{CO}_2 \text{H} \right]}{\left[\text{H}_3 \overset{\oplus}{\text{N}} \text{CH}_2 \text{CO}_2^- \right]} = 2,34$$

koji predstavlja izračun za kationski oblik glicina, i

$$pK_a' = \text{pH} + \log \frac{\left[\text{H}_3 \overset{\oplus}{\text{N}} \text{CH}_2 \text{CO}_2^- \right]}{\left[\text{H}_3 \text{NCH}_2 \text{CO}_2^- \right]} = 9,60$$

koji odgovara izračunu pK_a vrijednosti za anionski oblik glicina.

Vrijednost pI moguće je izračunati na temelju izraza:

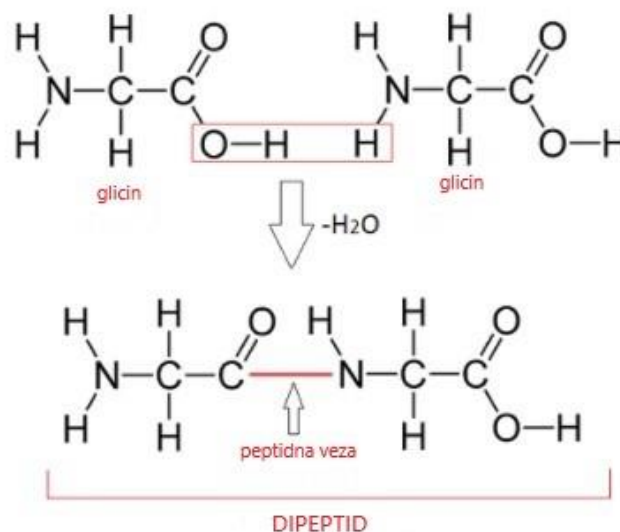
$$pI = \frac{1}{2}(pK_1 + pK_2)$$

$$pI = \frac{2,34 + 9,60}{2} = 5,97$$

Dobivena vrijednost pI odgovara vrijednosti pri kojoj su koncentracije kationskog i anionskog oblika glicina jednake te predstavlja vrijednost pH pri kojoj je topljivost glicina u vodi minimalna. [15]

3.4. Peptidna veza

Istovrsne ili različite aminokiseline mogu se međusobno povezivati i na taj način tvoriti peptide, oligopeptide, polipeptide ili proteine. Aminokiseline se povezuju peptidnim (amidnim) vezama, koje nastaju vezanjem karboksilne skupine jedne aminokiseline na amino skupinu druge aminokiseline, pri čemu dolazi do oslobađanja molekule vode. Na slici 12. prikazano je nastajanje dipeptida glicilglicina. [16]



Slika 12. Nastajanje dipeptida prikazano na primjeru povezivanja dvije molekule glicina

3.5. Primjena glicina

Glicin je jednostavna i mala molekula, koja ima vrlo važnu ulogu u organizmu. Nalazi se u namirnicama koje su bogate proteinima. Prisutan je u mesu, ribi, siru, jajima, proizvodima koji sadrže želatinu, orašastim plodovima te u žitaricama.

Normalna koncentracija glicina u ljudskoj krvi i krvnoj plazmi iznosi oko 300 $\mu\text{mol/L}$, no dokazano je kako povećana razina glicina (do približno 900 $\mu\text{mol/L}$) povećava njegovo blagotvorno djelovanje, bez štetnih nuspojava.

Ima važnu ulogu u metabolizmu serina, glutaminske kiseline, oksooctene kiseline, urinske kiseline, laktata, kreatina, glutaciona i porfirina te je bitan u sintezi purinskih nukleotida i neurotransmitera. Sudjelujući u metabolizmu ovih i još mnogih drugih proteina, hormona, enzima i aminokiselina, ima vrlo široku primjenu i neophodan je za održavanje zdravlja te normalno funkcioniranje organizama. [17]

Djelovanje glicina:

- protuupalno
- antioksidativno
- antacidno
- pomaže u izgradnji DNA i RNA lanaca
- usporava atrofiju i pridonosi rastu mišića
- pomaže u očuvanju elasticiteta kože i tkiva (ligamenata, tetiva, zglobova, kostiju)
- pomaže normalnom funkcioniranju živčanog sustava
- u prehrambenoj industriji kao modifikator arome i okusa, u obliku aditiva E 640...

[18]

4. Princip djelovanja neurotransmitera

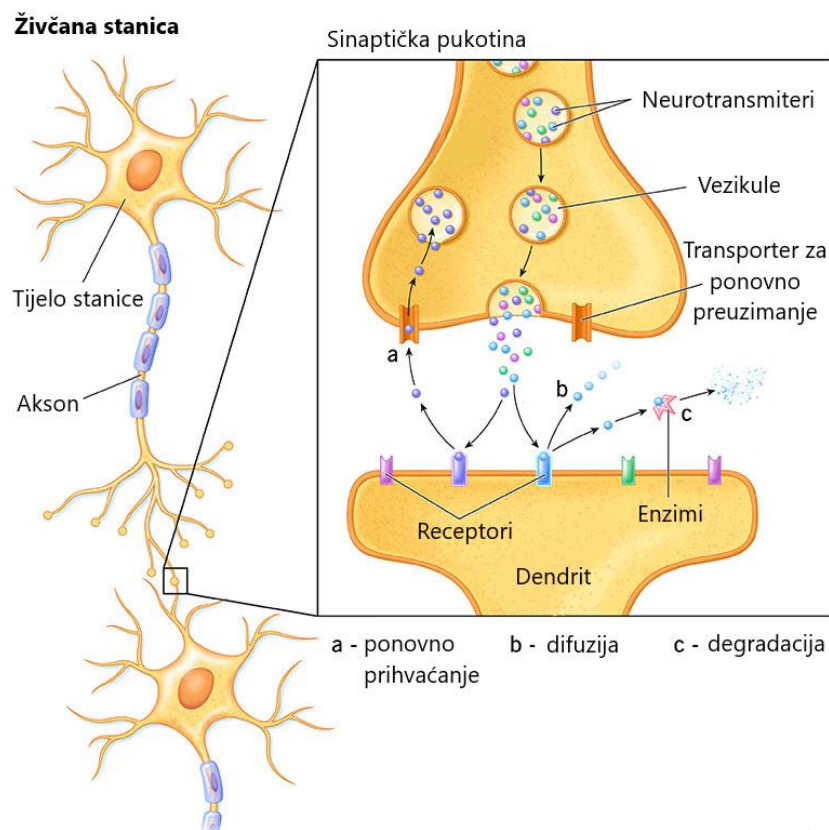
4.1. Živčana stanica

Tri su osnovna dijela svake živčane stanice:

- tijelo stanice (soma)
- akson
- sinapsa.

Na tijelo živčane stanice vežu se razgranati produžeci, koji se nazivaju dendriti. Dendriti primaju podražaje koji dolaze od drugih neurona putem sinapsi te ih pretvaraju u živčani impuls. Na tijelo živčane stanice nastavlja se jedan duži produžetak, odnosno akson, koji omogućava brzi prijenos informacija, a završava s presinaptičkim aksonskim završetkom.

[19]

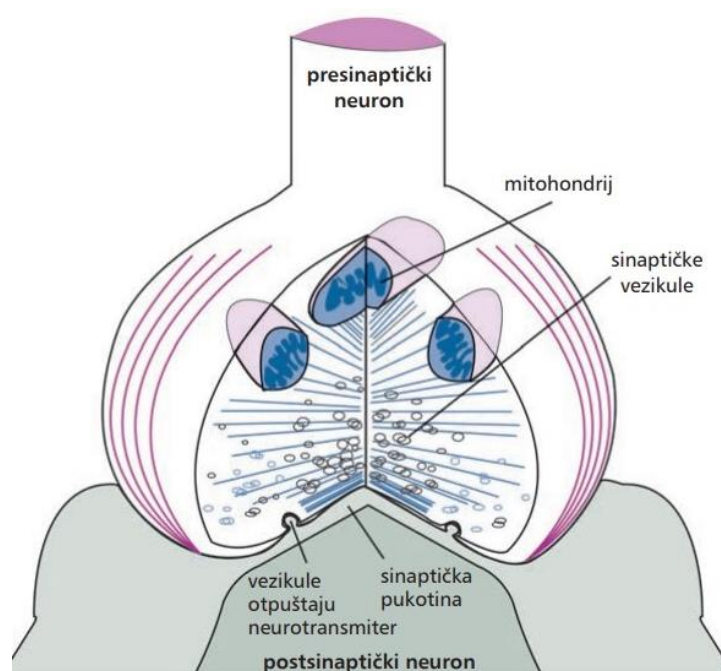


Slika 13. Prijenos živčanog impulsa između živčanih stanica

Preko neurotransmitera, droga, svjetla, hormona i živčanih impulsa dolazi do stimulacije presinaptičkog neurona te stvaranja električnog impulsa koji se šalje njegovom aksonskom završetku. Nakon toga od presinaptičkog aksonskog završetka do drugog postsinaptičkog neurona odvija se pretvorba električnih impulsa u kemijske, koji potiču stvaranje receptora na postsinaptičkom neuronu.

Mitohondriji proizvode energiju potrebnu za kemijsku neurotransmisiju iz presinaptičkog neurona. Sinaptičke vezikule su loptaste tvorevine obavijene membranom, unutar kojih su smješteni neurotransmiteri, koji se otpuštaju prilikom pucanja iz presinaptičkog neurona. Otpušteni neurotransmitter prelazi preko sinaptičke pukotine i veže se na mjesto receptora na drugom neuronu. Pri tome, svaki neurotransmitter će se vezati samo za određeni receptor, odnosno njihovo vezanje zasniva se na modelu ključ-brava.

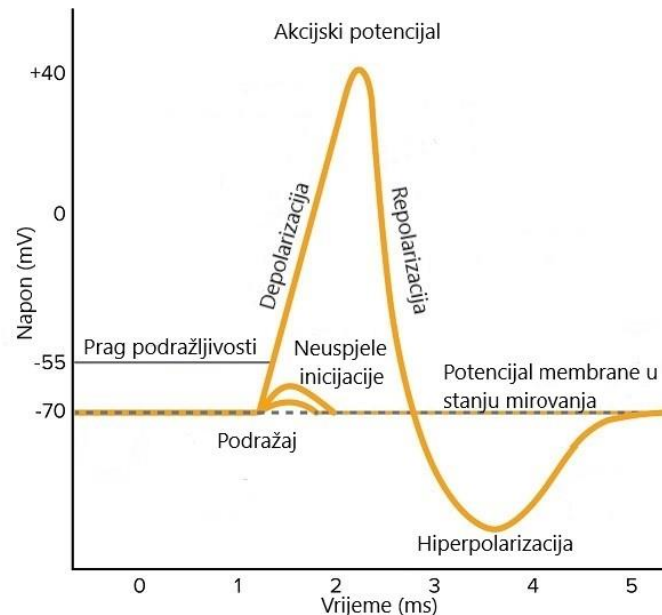
Sinaptička pukotina sadrži različite kisele i bazne proteine, a time je omogućeno stvaranje čvrste veze između presinaptičke i postsinaptičke membrane. [20]



Slika 14. Uvećani prikaz sinapse [20]

4.2. Akcijski potencijal

Akcijski potencijal (živčani signal) je promjena membranskog potencijala, uzrokovana podražajem, koji izaziva polarizaciju membrane. Ovisno o načinu nastanka akcijskog potencijala i jačini napona razlikuju se depolarizacija, repolarizacija i hiperpolarizacija.



Slika 15. Dijagram ovisnosti membranskog potencijala o vremenu

Slika 15. prikazuje faze nastajanja akcijskog potencijala. Podražaj uzrokuje brzu promjenu napona. Ukoliko je napon podražaja manji od graničnog potencijala membrane, akcijski potencijal se neće aktivirati. Kada je potencijal podražaja veći od graničnog, dolazi do depolarizacije i otvaranja ionskih kanala propusnih za katione.

Nakon postizanja pozitivnog napona stanice, proces depolarizacije završava i slijedi proces repolarizacije, kojim se živčana stanica vraća na potencijal membrane u stanju mirovanja. Za vrijeme repolarizacije povećava se propusnost kationa kroz membranu ili se otvaraju ionski kanali, koji propuštaju katione.

Zbog velikog broja propuštenih kationa ili aniona, dolazi do hiperpolarizacije, odnosno potencijal membrane postaje negativniji od membranskog potencijala u stanju mirovanja, a nakon toga se vraća u početno stanje. [21]

4.3. Neurotransmiteri

Neurotransmiteri su neuroprijenosnici, odnosno kemijski spojevi koji pojačavaju, uravnotežuju i prenose živčane impulse (signale) od neurona (živčane stanice) do ciljne stanice. Ciljna stanica može biti živčana stanica, mišićna stanica ili žlijezda. Postoji na stotine različitih neurotransmitera, a mogu se podijeliti u skupine prema njihovoj funkciji ili prema strukturi.

Prema načinu djelovanja neurotransmitera na neuron, mogu se podijeliti na:

- ekscitacijske neurotransmitere - vežu se s ionskim kanalima koji su propusni za katione te izazivaju depolarizaciju membrane i stvaranje pozitivnog naboja koji prelazi granični potencijal membrane. Time se stvara akcijski potencijal potreban za pobudu neurona i dolazi do stimulacije mozga. Najpoznatiji ekscitacijski neurotransmiteri su: epinefrin (adrenalin), norepinefrin, glutamat, acetilkolin (ekscitator i inhibitor), histamin i dr.
- inhibicijske neurotransmitere - otvaraju ionske kanale koji su propusni za negativne ione ili povećavaju propusnost membrane za pozitivno nabijene ione, stvarajući negativni potencijal membrane. Djeluju inhibitorno na neurone te smiruju mozak i održavaju moždanu stimulaciju u ravnoteži. Dopamin, GABA (γ -aminomaslačna kiselina), glicin i serotonin neki su od primjera inhibicijskih neurotransmitera.
- modulacijske neurotransmitere (neuromodulatori) – prilagođavaju način na koji stanice komuniciraju u sinapsi, djelujući na receptore. Najpoznatiji primjer neuromodulatora je adenzin.

Nakon što neurotransmiteri izvrše svoju funkciju potrebno je zaustaviti njihovu aktivnost, što se postiže degradacijom, difuzijom ili ponovnim prihvaćanjem. Degradacija je proces u kojem enzimi mijenjaju strukturu neurotransmitera, a time se sprječava njegovo prepoznavanje i vezanje na receptorsku stanicu.

Procesom difuzije dolazi do udaljavanja neurotransmitera od receptora, a ponovno prihvaćanje podrazumijeva njihovu reapsorpciju u živčanoj stanici koja ih je oslobodila te ponovno korištenje.

S obzirom na molekulsku strukturu, neurotransmiteri se mogu podijeliti u osnovne skupine:

- monoamini (dopamin, epinefrin, norepinefrin, histamin, adrenalin, serotonin...)
- aminokiseline (glutamat, glicin, GABA, aspartat...)
- peptidi (endorfini, oksitocin...)
- i ostali (acetilkolin, adenozin, dušikov oksid...). [19]

4.4. Glicin kao neurotransmiter

Velike koncentracije glicina se nalaze u trbušnim (prednjim) i dorzalnim (stražnjim) rogovima leđne moždine, u mnogim jezgrama moždanog debla te u senzornim relejnim stanicama. Mnoga istraživanja su pokazala kako je glicin glavni inhibitorni neurotransmiter, koji ima važnu ulogu u kontroli motornih i senzornih puteva. Vezikularni inhibitorni aminokiselinski transporter pakira presinaptički glicin u vezikule prije njegovog otpuštanja. Njegovi receptori su funkcijski i strukturno vrlo slični GABA receptorima.

Kako bi ostvario svoje djelovanje, glicin se veže na glicinski receptor (GlyR). Glicinski receptor je protein smješten na ligandima reguliranom kloridnom kanalu. Do otvaranja kanala dolazi nakon vezanja agonista, odnosno neurotransmitera glicina. Osim za kloridne ione, receptori glicina su propusni i za nitrate, bikarbonate, acetate te druge halogenide (fluoride, bromide). Ovisno o vrsti podjedinica koje sadrže razlikuju se $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 4$ i β receptori. GlyR $\alpha 1$ i $\alpha 2$ nalaze se u leđnoj moždini i moždanom deblu odraslih i novorođenčadi, GlyR $\alpha 3$ se nalazi u dorzalnom rogu leđne moždine, a $\alpha 4$ podjedinice su otkrivene kod kralježnjaka koji nisu sisavci. Podjedinica β je pomoćna jedinica. Ona ne može sama formirati funkcionalni kanal bez α podjedinica, ali određuje sinaptički položaj glicinskih receptora i njihov farmakološki odgovor.

Proteini, ugrađeni u membranu, koji su neophodni za vraćanje glicina u presinaptičku stanicu i prestanak njegovog djelovanja, su transporteri glicina GlyT1 i GlyT2. GlyT1 je prvenstveno zastupljen u glijalnim stanicama, a GlyT2 se ponajviše nalazi u neuronskim stanicama. [22] Strihnin je neurotoksin i djeluje kao antagonist glicina. Veže se na receptore glicina te tako sprječava inhibicijske učinke glicina na postsinaptički neuron. Posljedično, dolazi do nastajanja akcijskog potencijala uzrokovanog ekscitacijskim neurotransmiterima. Iz tog razloga se motorički neuroni lakše aktiviraju i zbog sprječavanja djelovanja inhibicijskog učinka dolazi do grčenja mišića. [23]

5. Spektri glicina i kvantnokemijski izračuni

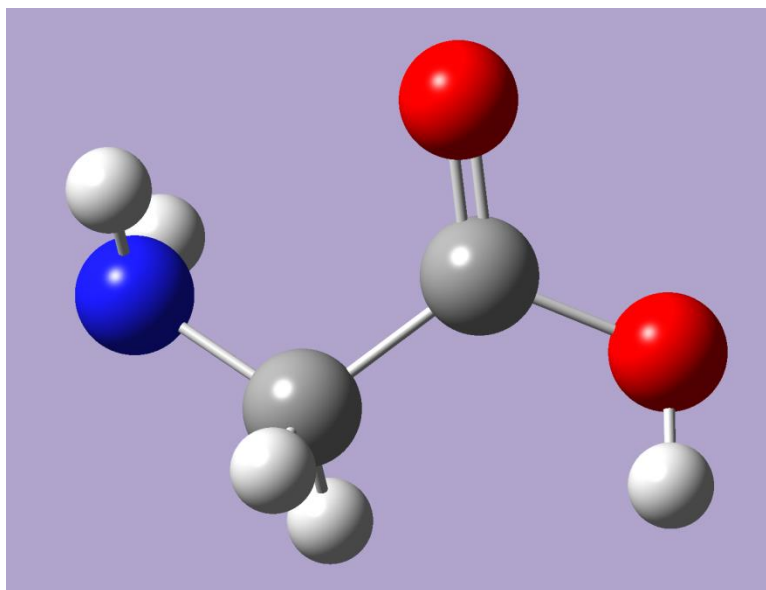
5.1. Programski paket Gaussian 09

Za izračune i simulacije je korišten programski paket Gaussian 09, u kojem je primjenjena teorija funkcionala gustoće (DFT, eng. Density Functional Theory). Gaussian je računalni program, koji koristi temeljne zakone kvantne mehanike za predviđanje energija veza i reakcija, energija prijelaznih stanja, molekularnih struktura, spektroskopskih podataka, puteva reakcija, termokemijskih svojstava te mnogih drugih proračuna.

Teorija funkcionala gustoće metoda je kvantno-mehaničkih simulacija za izračunavanje širokog spektra svojstava gotovo svih atomskih sustava (molekula, kristala, površina). Predviđa svojstva materijala za nepoznate sustave, bez potrebe za prethodnim provođenjem eksperimenta. Metoda se primjenjuje u organskoj i anorganskoj kemiji te u mnogim znanostima o materijalima, poput keramike i metalurgije. U DFT-u funkcional je gustoća elektrona, koja je funkcija prostora i vremena. Gustoća elektrona sustava određuje sva svojstva osnovnog stanja sustava. Prema tome ukoliko je poznat funkcional gustoće elektrona, poznata je i ukupna energija sustava. [24]

U izračunima je primijenjen funkcional gustoće B3LYP (engl. Becke Three Hybrid Functionals), uz standardnu bazu funkcija 6-311++G(d,p). Za čitanje izlaznih datoteka i vizualiziranje rezultata dobivenih pomoću programa Gaussian, korišteno je grafičko sučelje GaussView 6.0.

5.2. Model molekule glicina

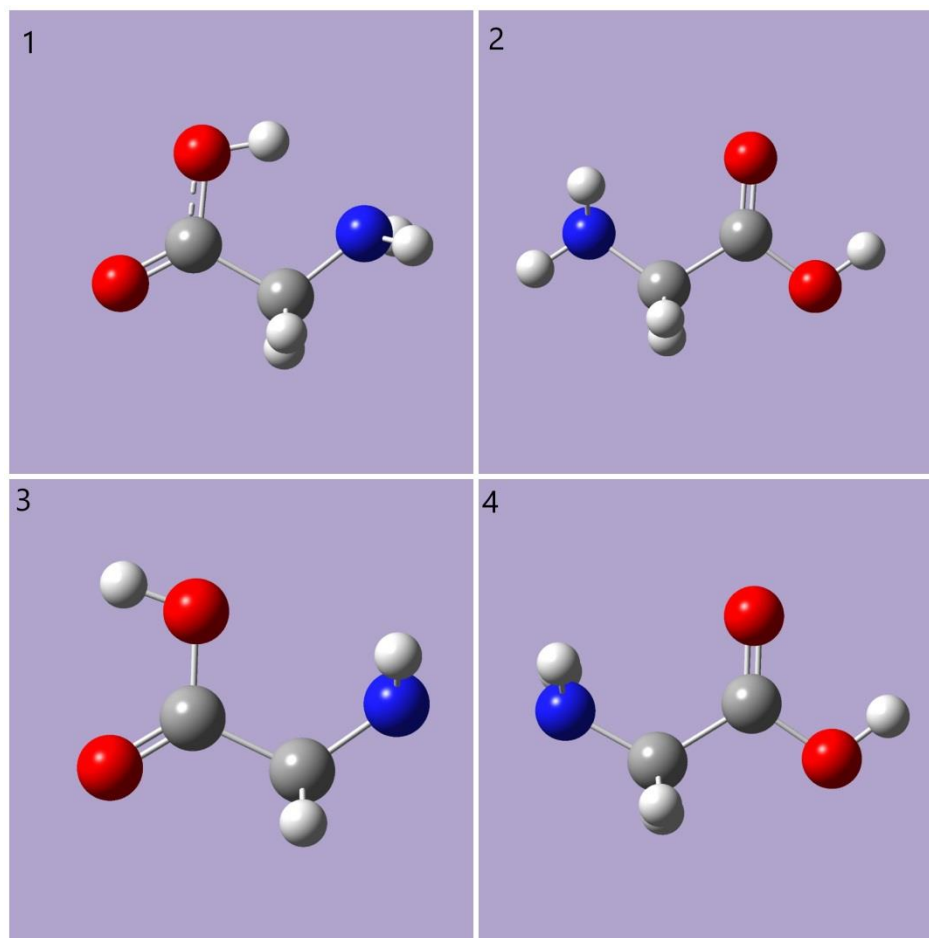


Slika 16. Model optimizirane molekule glicina

Izmjereni dipolni moment molekule iznosi 3,1401 Debye.

Može se zaključiti da je glicin polarna molekula u prikazanoj konformaciji jer je građen od amino i karboksilne skupine, koje su polarne. Kod određenih konformacija se dipolni momenti mogu međusobno poništavati te je u takvom slučaju molekula u cjelini nepolarna.

5.3. Konformeri molekule glicina



Slika 17. Modeli stabilnih konformera molekule glicina

Tablica 1. Vrijednosti energija konformera glicina

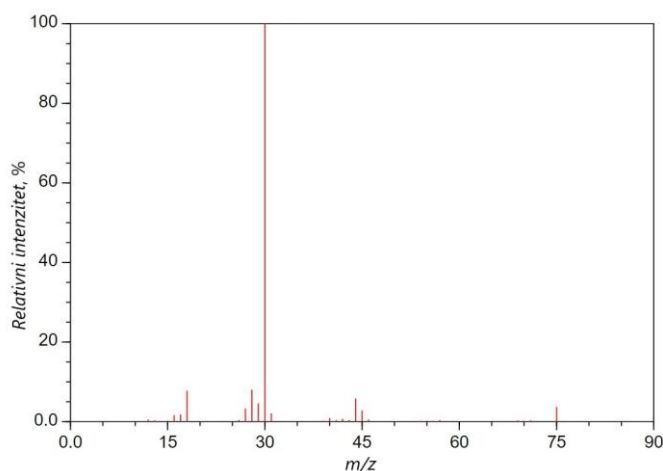
Konformer	Energija osnovnog stanja (Hartree)	Energija osnovnog stanja u kJ/mol	Energija osnovnog stanja u kcal/mol
1	-284,449389	-746821,87	-178491,99
2	-284,459198	-746847,62	-178498,15
3	-284,458795	-746846,57	-178497,89
4	-284,459991	-746849,71	-178498,64

Na slici 17. su prikazani modeli stabilnih konformera, čije su strukture prethodno prikazane na slici 3. Prema dobivenim vrijednostima energija određen je najstabilniji konformer.

Najstabilniji konformer molekule glicina je pod **4**, a nakon njega slijedi konformer pod **2**. Time je potvrđena činjenica da su stabilniji konformeri kojima su -OH i -NH₂ smještene na najvećoj međusobnoj udaljenosti.

5.4. Masena spektrometrija

Masena spektrometrija je analitička tehnika, koja se koristi za identifikaciju nepoznatih spojeva prisutnih u uzorku, kvantificiranje poznatih materijala te za određivanje strukture i kemijskih svojstava različitih materijala. Proces uključuje pretvorbu uzorka u plinovite ione, što se postiže djelovanjem ionizirajućom energijom na molekule. Pri tome dolazi do stvaranja ionskih i neutralnih fragmenata, koji se zatim odvajaju prema omjeru mase i naboja (m/z), a detektiraju se proporcionalno njihovoj relativnoj zastupljenosti. Kao rezultat dobije se dijagram (spektar masa) zastupljenosti pojedinih fragmenata u odnosu na omjer mase i naboja. Dobiveni rezultati daju informacije o prirodi i strukturi molekule. Najveći intenzitet daje fragment koji je najstabilniji. [25]



Slika 18. Maseni spektar glicina [26]

Tablica 2. Najzastupljeniji fragmenti dobiveni postupkom masene spektrometrije glicina

Fragment	m/z	Relativni intenzitet, %
H_2O^+	18	18
H_2NCH_2^+	30	100
COO^+	44	6
COOH^+	45	3
$\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH}^+$	75	4

5.5. Nuklearna magnetska rezonancija

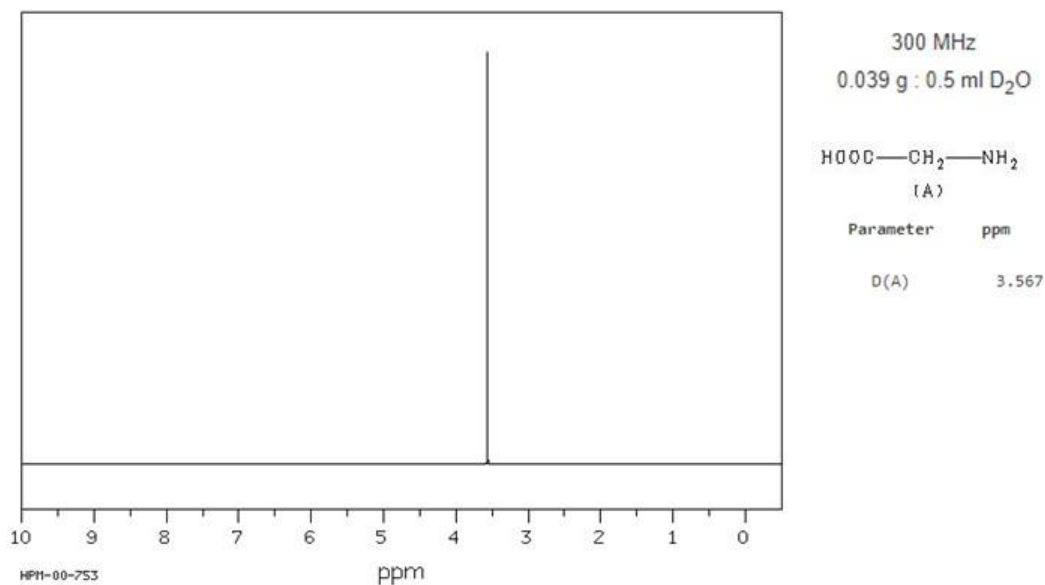
Nuklearna magnetska rezonancija ili NMR je spektroskopijska metoda, koja se temelji na interakciji magnetskog momenta jezgre s vanjskim magnetskim poljem, uz pobudu jezgre radiofrekventnim zračenjem.

Koristi se za određivanje molekularne strukture na atomskoj razini uzorka. Osim molekularne strukture, NMR spektroskopijom se mogu odrediti fazne promjene, konformacijske i konfiguracijske promjene, topljivost te difuzijski potencijal.

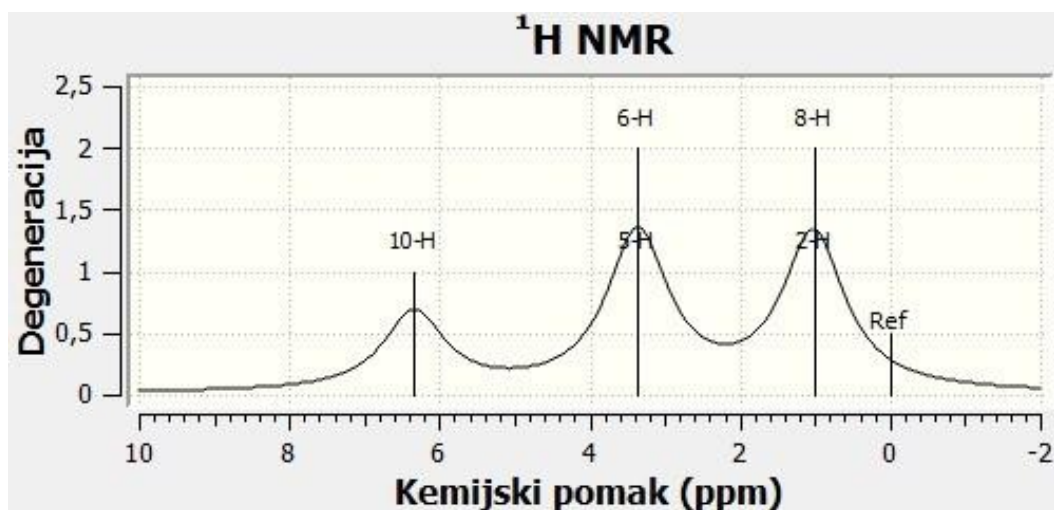
U praksi se najčešće koristi magnetska rezonancija jezgri vodika (^1H) i ugljikova izotopa ^{13}C u molekulama. ^1H i ^{13}C NMR spektri se mjere u otapalu bez vodika ili u otapalu u kojem je vodik u obliku koji se ne registrira (D_2O , CCl_4 , CDCl_3 ...).

5.5.1. ^1H NMR spektar

Pomoću ^1H NMR spektroskopije se promatraju protoni. Svi vodikovi protoni se najčešće registriraju u području od 0 do 10 ppm. [27]

Slika 19. ¹H NMR spektar molekule glicina [27]

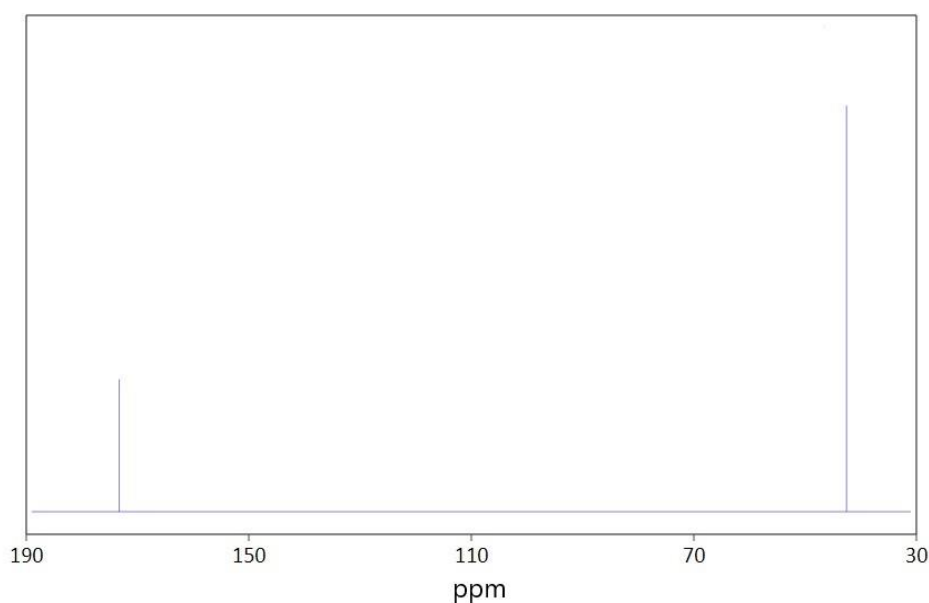
Za dobivanje ¹H NMR spektra kao otapalo je korišten deuterijev oksid, odnosno teška voda, D₂O, koja je sastavljena od vodikovog izotopa deuterija i kisika. Prikazani ¹H NMR spektar molekule glicina sadrži jedan signal koji se nalazi na 3,567 ppm i predstavlja 2 atoma vodika na metilenskoj skupini. Kao standard je korišten DSS (3-trimetilsililpropan-1-sulfonska kiselina). Nedostatak signala koji ukazuju na vodikove atome iz NH₂ i COOH skupina dokazuje da je došlo do brze izmjene deuterija između otapala i tih dviju skupina.

Slika 20. Dobiveni ¹H NMR spektar molekule glicina

Na slici 20. je prikazan ^1H NMR spektar molekule glicina. Kao otapalo je upotrijebljena voda, a kao standard je korišten TMS (tetrametilsilan). Najveći pomak pokazuje atom vodika koji je vezan na karboksilnu skupinu i njegov pomak iznosi 6,334 ppm. Potom slijedi signal, koji potječe od vodikovih atoma koji pripadaju metilenskoj skupini i njihov kemijski pomak iznosi 3,359 ppm. Najmanji pomak, iznosa 1,018 ppm, pokazuju vodikovi atomi amino skupine. Prisutno je odstupanje koje iznosi 5,83 % u odnosu na podatke dostupne u literaturi, no one su posljedica upotrebe različitih otapala i različitih standarda.

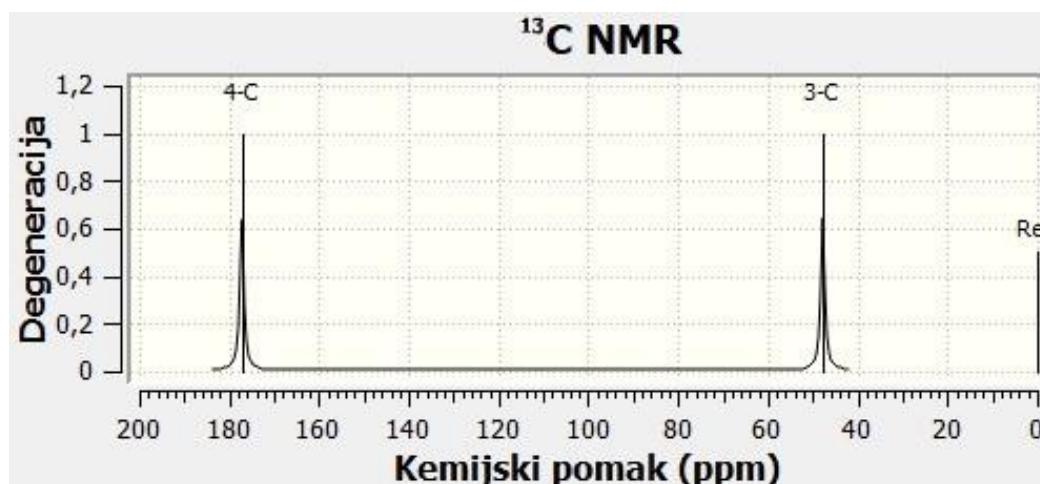
5.5.2. ^{13}C NMR spektar

Pomoću ^{13}C NMR spektroskopije se promatraju ugljikovi atomi u molekuli. Ugljikovi atomi se najčešće registriraju u intervalu od 0 do 200 ppm. Broj različitih signala prikazuje koliko se različitih atoma ugljika nalazi u molekuli, a na temelju kemijskog pomaka moguće je utvrditi kojoj funkcijskoj skupini pripada pojedini atom ugljika. [28]



Slika 21. ^{13}C NMR spektar molekule glicina [29]

Za dobivanje ^{13}C NMR spektra kao otapalo je korišten deuterijev oksid. Spektar je dobiven pri frekvenciji 22,5 MHz i pri pH vrijednosti 6,48. Prikazani ^{13}C NMR spektar molekule glicina sadrži dva signala, od kojih se jedan nalazi na 173,30 ppm i potječe od ugljikovog atoma iz karboksilne skupine, a drugi signal se nalazi na 42,56 ppm i označava ugljikov atom koji potječe iz metilenske skupine.



Slika 22. Dobiveni ^{13}C NMR spektar molekule glicina

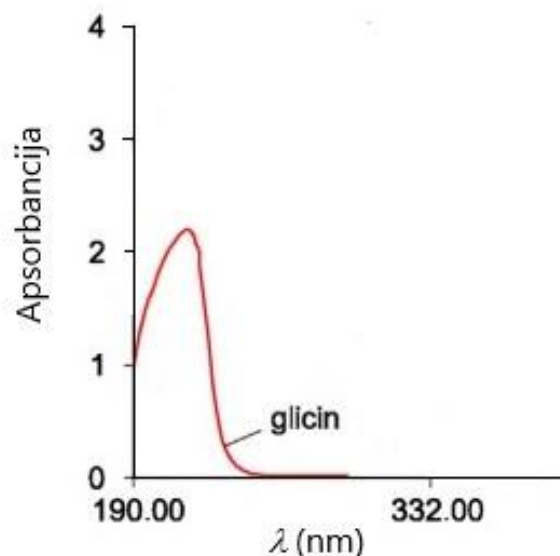
Na slici 22. je prikazan ^{13}C NMR spektar molekule glicina. Kao otapalo je upotrijebljena voda, a kao standard je korišten TMS (tetrametilsilan). Prikazani spektar molekule glicina sadrži dva signala, od kojih se jedan nalazi na 177,171 ppm i potječe od ugljikovog atoma iz karboksilne skupine, a drugi signal nalazi se na 47,755 ppm i označava ugljikov atom koji potječe iz metilenske skupine. Srednja vrijednost odstupanja kemijskih pomaka od eksperimentalnih podataka dostupnih u literaturi iznosi 7,22 %, a razlog odstupanja leži u korištenju različitih otapala i različitih standarda.

5.6. UV/VIS spektroskopija

Ultraljubičasta-vidljiva spektroskopija (UV-VIS) je analitička metoda, koja istražuje elektronske prijelaze u molekulama, koji se događaju u UV (200-400 nm) i VIS području (400-800 nm). Molekule koje apsorbiraju UV svjetlo moraju imati kromofornne grupe, odnosno naizmjenični niz dvostrukih i jednostrukih veza (konjugirane dvostruke veze, aromatske prstene ili slobodne elektronske parove). Najčešće se događaju najniži elektronski prijelazi, tj. prijelazi između najviše (HOMO) i najniže nepopunjene molekulske orbitale (LUMO) u osnovnom stanju. Mjerenjem količine svjetla koju uzorak apsorbira moguće je odrediti koncentraciju otopljenih tvari u uzorku. Lambert-Beerov zakon opisuje ovisnost apsorbancije o koncentraciji uzorka (c , mol dm $^{-3}$), duljini puta svjetlosti kroz uzorak (l , cm) i molarnom apsorpcijskom koeficijentu (ϵ , L mol $^{-1}$ cm $^{-1}$).

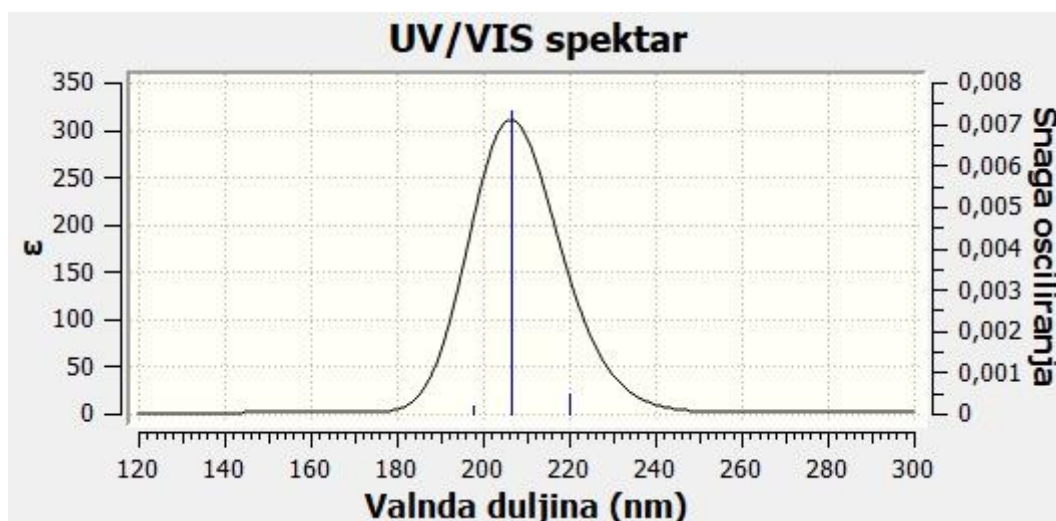
$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon \times c \times l$$

Apsorbancijom (A) se iskazuje udio apsorbiranog elektromagnetskog zračenja u otopini, pri čemu I_0 označava intenzitet upadnog zračenja, a I intenzitet propuštenog zračenja. [30]



Slika 23. UV/VIS spekter molekule glicina

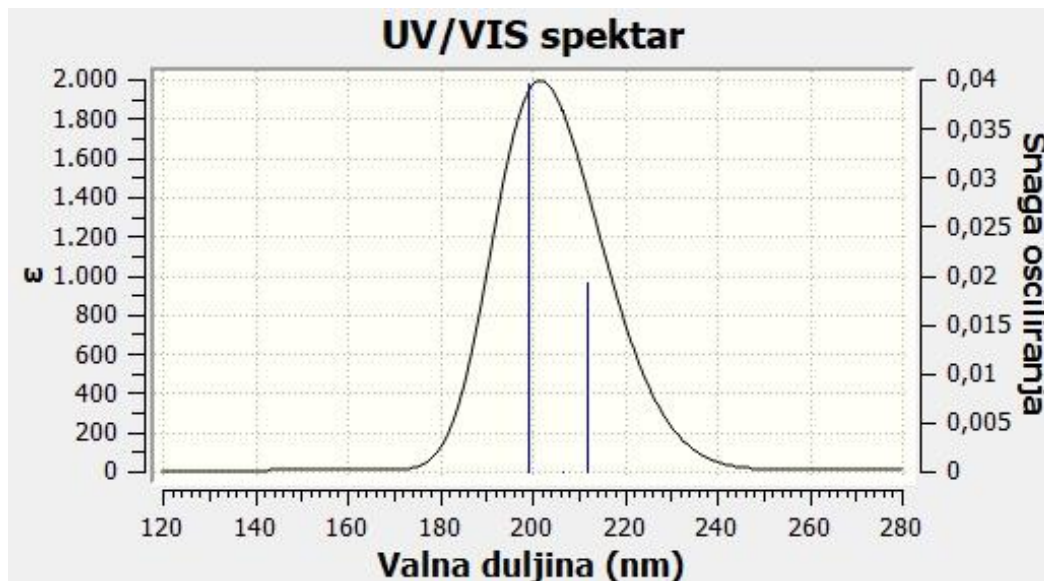
Na slici 23. je prikazan spekter 6%-tne otopine glicina, pH vrijednosti 7,00. Vidljivo je kako je maksimalna apsorbancija otopine glicina pri valnoj duljini od 216,8 nm, što znači da pri toj valnoj duljini otopina apsorbira najveću količinu elektromagnetskog zračenja.



Slika 24. Dobiveni UV/VIS spekter molekule glicina

Slika 24. prikazuje simulaciju UV/VIS spektra vodene otopine glicina. Maksimum vrijednosti molarne apsorpcijske koeficijenta (ϵ), a time i apsorbancije, nalazi se na 206,33 nm.

Dobivena vrijednost odstupa za 4,83 % od prethodno navedene eksperimentalne vrijednosti zbog razlike u ispitivanim koncentracijama.



Slika 25. Dobiveni UV/VIS spektar dipolarnog iona glicina

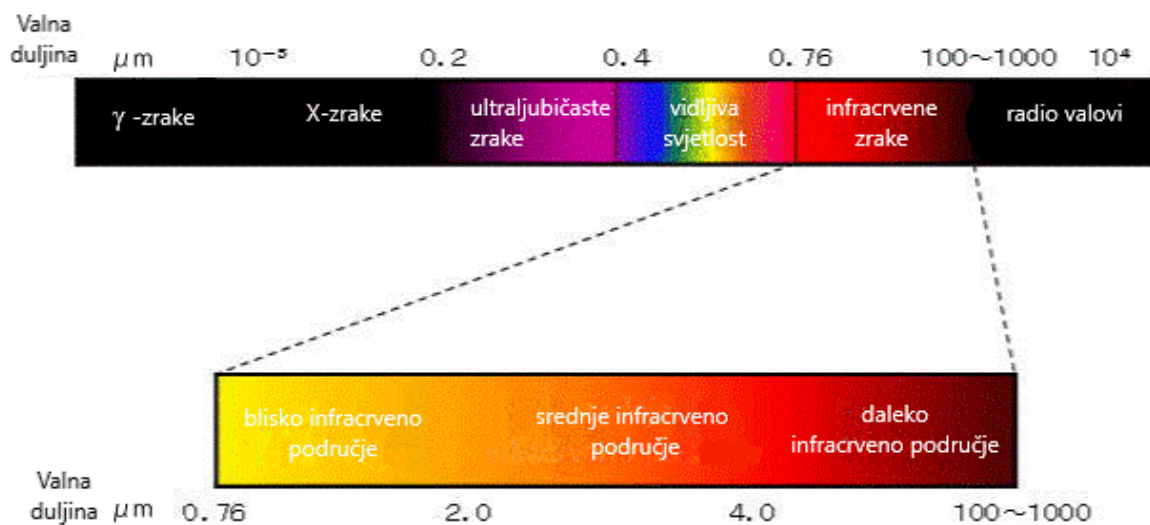
Slika 25. prikazuje simulaciju UV/VIS spektra zwitteriona u vodi. Maksimalna vrijednost molarne apsorpcijske koeficijenta (ϵ) nalazi se na 199,00 nm.

5.7. Infracrvena spektroskopija (IR)

Infracrvena spektroskopija je spektroskopska metoda, kojom se analizira interakcija molekula i zračenja iz infracrvenog dijela spektra. Infracrveno područje dijeli se na blisko (0,76-2 μm), srednje (2,0-4,0 μm) i daleko (100-1000 μm).

Prilikom apsorpcije svjetlosti iz infracrvenog područja dolazi do različitih vibracija i rotacija unutar molekula, a kao rezultat tih vibracija nastaju apsorpcijske vrpce. Infracrvena spektroskopija se primjenjuje uglavnom u organskoj i anorganskoj kemiji, za određivanje funkcionalnih skupina u molekulama, odnosno za određivanje strukture spojeva i za njihovu identifikaciju.

IR spektroskopija mjeri vibracije atoma i na temelju dobivenih rezultata određuje o kojim se funkcionalnim skupinama radi.



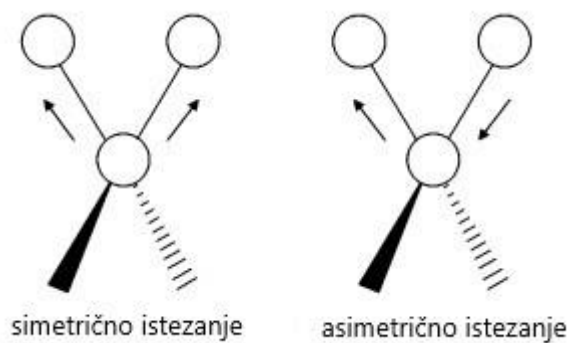
Slika 26. Spektar elektromagnetskog zračenja

IR spektar sastoji se od područja funkcionalnih skupina ($4000\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$) i područja otiska prsta ($<1500\text{ cm}^{-1}$), u kojem je apsorpcija karakteristična za molekulu u cjelini te dolazi do vibracije cijele molekule. Molekula se može identificirati uspoređivanjem njenog apsorpcijskog vrha s bazom podataka spektra.

Molekularne vibracije mogu se klasificirati kao istežanje (rastežanje) i savijanje (deformacijske vibracije). Istežanje uključuje promjenu duljine veze i odvija se pri većim vrijednostima valnog broja, dok se savijanje odnosi na promjenu kuta veze i karakteristično je za niže valne brojeve.

Na slici 27. prikazano je simetrično i asimetrično istežanje. Pri asimetričnom istežanju dolazi do promjene dipolnog momenta molekule i do apsorpcije infracrvenog zračenja, a pri simetričnom istežanju ne dolazi do promjene dipolnog momenta i u tom slučaju ne dolazi do apsorpcije IR zračenja.

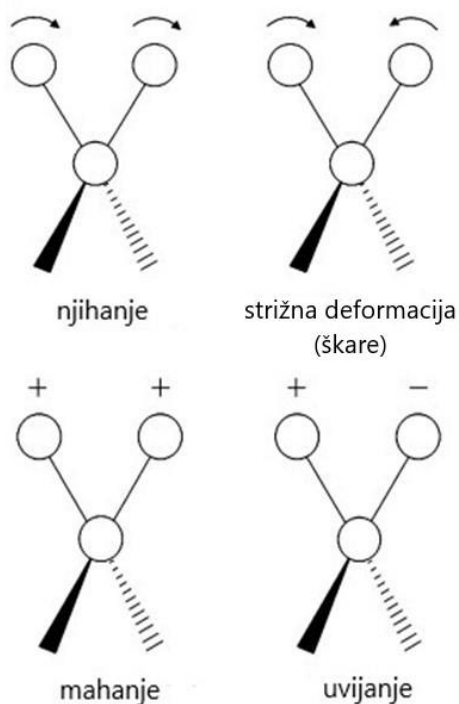
Simetrično istežanje podrazumijeva istovremeno udaljavanje ili približavanje jezgri atoma u molekuli, a pri asimetričnom istežanju istovremeno dolazi do približavanja i udaljavanja jednog ili više atoma.



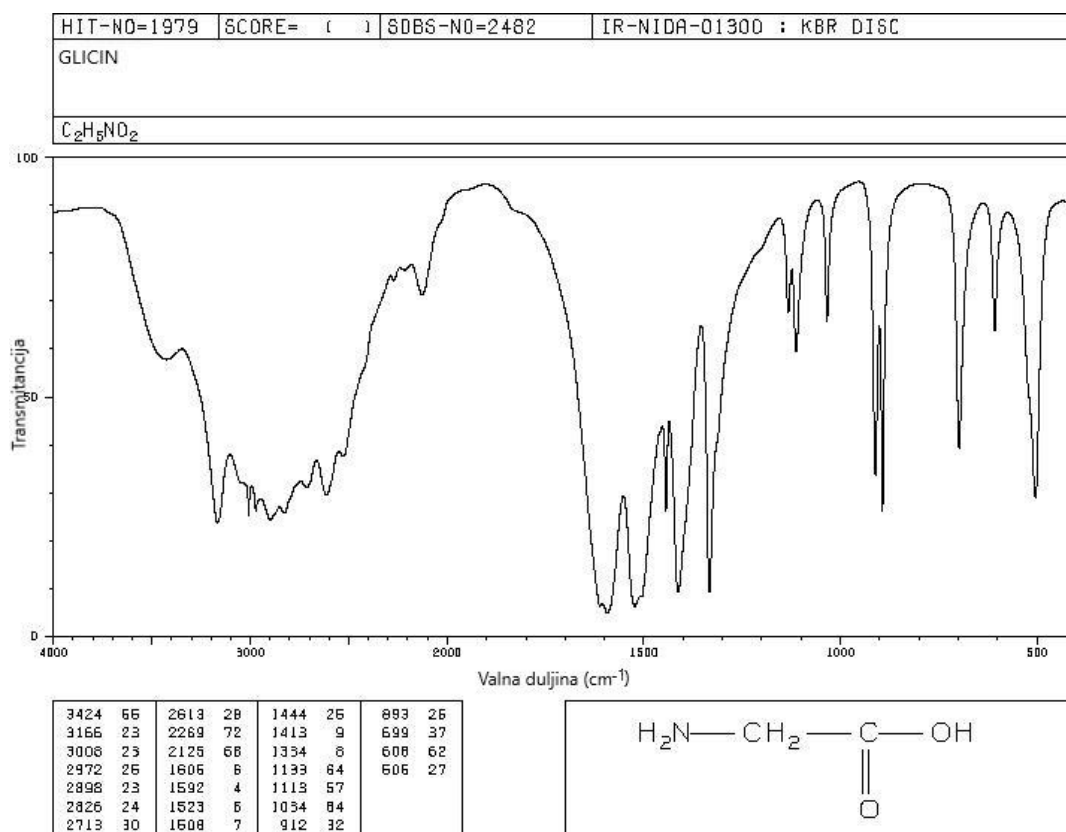
Slika 27. Vrste istezanja molekula

Na slici 28. prikazani su pokreti savijanja, koji uključuju njihanje, strižna deformacija (škare), mahanje i uvijanje.

Različite vrste vibracija i rotacija apsorbiraju na različitim frekvencijama unutar infracrvenog područja, što rezultira jedinstvenim spektralnim svojstvima za različite molekularne vrste. [31]



Slika 28. Deformacijske vibracije u molekulama

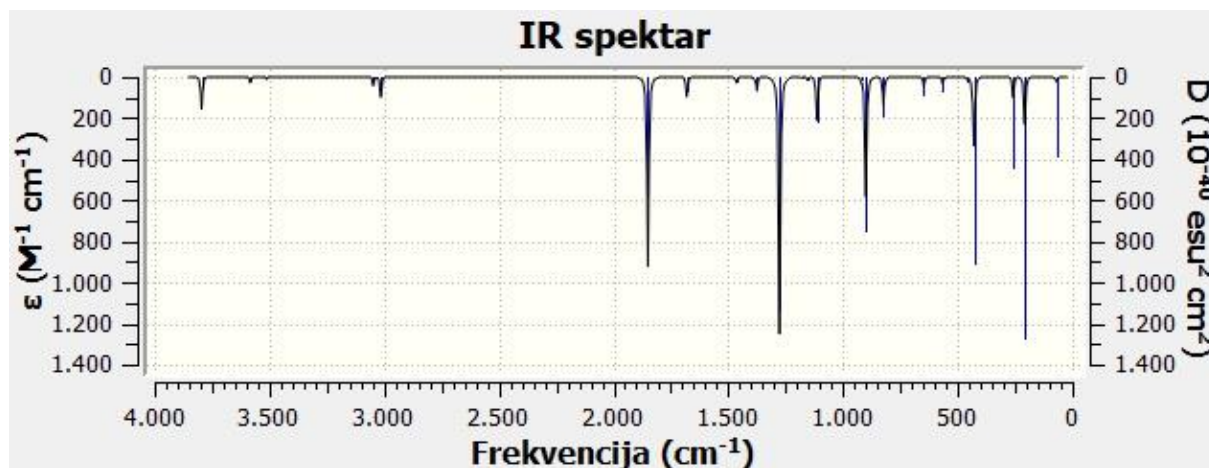


Slika 29. IR spektar molekule glicina

Iz infracrvenog spektra, na temelju frekvencija i intenziteta signala, moguće je odrediti vrste vibracija pojedinih skupina od kojih je sastavljena molekula glicina. Na 3424 cm^{-1} nalazi se vrpca, koja je nastala kao posljedica istezanja OH skupine.

Područje od 2400 cm^{-1} do 3200 cm^{-1} posljedica je simetričnih i asimetričnih istezanja CH_2 i NH_2 skupina, a signal na 2100 cm^{-1} ukazuje na uvijanje i strižnu deformaciju NH_2 . Na valnoj duljini od 1300 cm^{-1} do 1600 cm^{-1} nalaze se signali koji su nastali zbog istezanja COO, strižne deformacije NH_2 i CH_2 te uvijanja i mahanja CH_2 .

Većina vrhova u području od 800 cm^{-1} do 1300 cm^{-1} potječe od mahanja, uvijanja i ljuljanja CH_2 i NH_2 te istezanja CN, a vrhovi najvećeg intenziteta u tom području posljedica su istezanja CC skupine i strižne deformacije CH_2 . U području ispod 800 cm^{-1} nalaze se vrhovi koji su nastali zbog strižnih deformacija CCO i COO skupina.



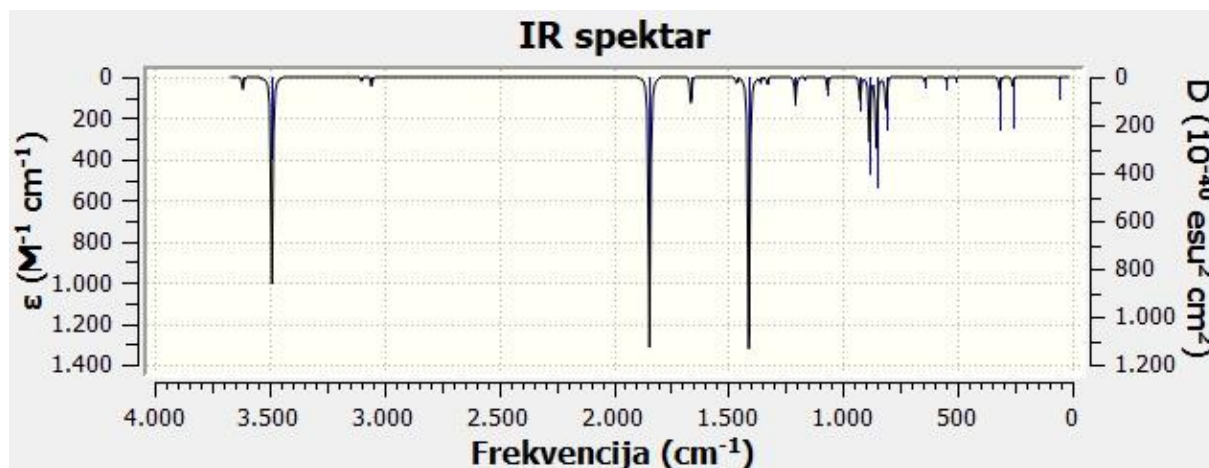
Slika 30. Dobiveni IR spektar molekule glicina

U tablici 3. prikazane su dobivene značajnije vibracije molekula u određenim frekvencijskim područjima.

Na spektru se može uočiti sličnost sa spektrom preuzetim iz literature. Za pojedine skupine su dobivene nešto drugačije vrijednosti frekvencije, no rezultati se nalaze unutar raspona karakterističnog za pojedinu skupinu.

Tablica 3. Značajne frekvencije i pripadajuće vibracije dobivene u IR spektru molekule glicina

Frekvencija (cm^{-1})	Intenzitet	Vrsta vibracije
70,27	380,85	uvijanje NH_2 i CH_2
207,88	1269,56	uvijanje NH_2 , njihanje CH_2
258,66	437,97	strižna deformacija $\text{C}=\text{O}$ i NCC
429,50	903,91	njihanje CH_2 , NH_2 i OH
823,44	186,08	mahanje NH_2 , istežanje C-C
900,37	746,97	mahanje NH_2 , mahanje CH_2
918,69	5,79	uvijanje NH_2 , njihanje CH_2
1113,24	217,66	strižna deformacija COH, mahanje NH_2 , mahanje CH_2
1179,96	1,24	uvijanje NH_2 i CH_2
1276,60	1131,42	strižna deformacija COH, mahanje CH_2
1374,93	55,01	mahanje CH_2 , istežanje C-C i istežanje C-O
1464,47	23,09	strižna deformacija CH_2
1681,11	66,28	strižna deformacija NH_2
1849,95	575,82	istežanje $\text{C}=\text{O}$, strižna deformacija COH
3014,11	37,41	simetrično istežanje CH_2
3047,87	15,63	asimetrično istežanje CH_2
3512,31	3,90	simetrično istežanje NH_2
3583,13	9,40	asimetrično istežanje NH_2
3795,11	48,13	OH istežanje



Slika 31. Dobiveni IR spektar dipolarnog iona glicina

Na slici 31. prikazan je infracrveni spektar dipolarnog iona glicina. Na $3488,61\text{ cm}^{-1}$ nalazi se signal, koji je nastao zbog istezanja NH_3 skupine.

Pri frekvenciji iznosa $1843,10\text{ cm}^{-1}$ dobiven je signal, koji je nastao kao posljedica istezanja COO skupine, mahanja CH_2 i strižne deformacije CH_3 skupine. Pri vrijednosti frekvencije od $1410,27\text{ cm}^{-1}$ dolazi do istezanja COO, strižne deformacije CH_2 skupine te strižne deformacije NH_3 skupine.

5.8. Kvantnokemijski izračuni

Kvantnokemijski izračuni se odnose na proučavanje energije osnovnih, pobuđenih i prijelaznih stanja atoma i molekula te njihovo modeliranje i geometrijsku optimizaciju. Proučavanjem energijskih razlika između struktura, dobivaju se informacije o stabilnosti i relativnom energijskom odnosu između tih struktura. Energija osnovnog stanja predstavlja najniže energijsko stanje molekule, u kojem je molekula najstabilnija.

Procjena promjene slobodne Gibbsove energije računa se prema izrazu:

$$\Delta G = \sum \nu_p \Delta G_f^\circ (\text{produkti}) - \sum \nu_r \Delta G_f^\circ (\text{reaktanti}).$$

Do pojedinačnih vrijednosti promjene Gibbsove energije dolazi se preko izraza:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

Tablica 4. Vrijednosti izračunatih energija molekula

Molekula/kompleks	Energija osnovnog stanja (Hartree)	Energija osnovnog stanja u kJ/mol	Energija osnovnog stanja u kcal/mol
C ₂ H ₅ NO ₂ (g)	-284,424088	-746755,44	-178476,12
NH ₃ CH ₂ CO ₂ (g)	-284,448918	-746820,63	-178491,70
C ₂ H ₅ NO ₂ (aq)	-284,442974	-746805,03	-178487,97
NH ₃ CH ₂ CO ₂ (aq)	-284,460689	-746851,54	-178499,08

U tablici 4. su prikazani rezultati provedene geometrijske optimizacije glicina i njegovog dipolarnog iona. Svi proračuni su provedeni pri temperaturi 273,15 K. Vrijednosti energije su izražene u atomskim jedinicama Hartree, pri čemu vrijedi:

$$1 \text{ Hartree} = 27,212 \text{ eV} = 2625,5 \text{ kJ/mol} = 627,5 \text{ kcal/mol}$$

Iz dobivenih energija vidljivo je kako je energija zwitteriona nešto negativnija od energije neutralne molekule glicina, iz čega se može zaključiti da je stabilnost zwitteriona glicina nešto veća. Osim toga može se uočiti da je stabilnost molekula veća u vodi kao sredstvu.

5.8.1. Izračun jačine peptidne veze glicilglicina i promjene Gibbsove slobodne energije

Opći izraz za izračun jačine peptidne veze:

$$E_{\text{peptidne veze}} = E_{\text{opt.dipeptidni kompleks}} - (E_{\text{opt.monomer1}} + E_{\text{opt.monomer2}})$$

Reakcija nastajanja glicilglicina iz dvije molekule glicina, u prisutnosti vode:



Tablica 5. Vrijednosti izračunatih energija molekula

Molekula/kompleks	Energija osnovnog stanja (Hartree) pri T=273,15 K i p=1 atm	Energija osnovnog stanja (Hartree) pri T=298,15 K i p=1 atm
C ₂ H ₅ NO ₂ (g)	-284,424088	-284,441555
C ₂ H ₅ NO ₂ (aq)	-284,442974	-284,457001
H ₂ O (g)	-76,436842	-76,437249
H ₂ O (l)	-76,444679	-76,421161
C ₄ H ₈ N ₂ O ₃ (g)	-492,427548	-492,482409
C ₄ H ₈ N ₂ O ₃ (aq)	-492,449677	-492,482556
C ₄ H ₈ N ₂ O ₃ +H ₂ O (g)	-568,853916	-568,908468
C ₄ H ₈ N ₂ O ₃ +H ₂ O (aq)	-568,883473	-568,930841

Sve vrijednosti energija su korigirane za energiju nulte točke. Energija nulte točke predstavlja korekciju elektronske energije, koja omogućava procjenu energije molekule u njezinom najnižem vibracijskom stanju, odnosno stanju molekule na 0 K, kada ne posjeduje rotacijsku ili translacijsku energiju. [32]

Jačinu peptidne veze moguće je izračunati iz razlike energije nastalog kompleksa i energije dviju molekula aminokiseline, odnosno u ovome slučaju iz razlike energije nastalog kompleksa glicilglicina i vode te energije dviju molekula glicina.

Prema tome, u slučaju kada su sve komponente u plinovitom agregatnom stanju, pri 273,15 K vrijedi

$$E(\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3 + \text{H}_2\text{O}) - 2 \times E(\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2) = -0,00574 \text{ Hartree} = -15,07 \text{ kJ/mol},$$

a u slučaju kada se reakcija odvija u vodi kao sredstvu vrijedi

$$E(\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3 + \text{H}_2\text{O}) - 2 \times E(\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2) = -0,035297 \text{ Hartree} = -92,67 \text{ kJ/mol}.$$

Energija veze je u oba slučaja negativna, što znači da je stvaranje peptidne veze egzoterman proces.

U drugom slučaju se dobije niža vrijednost energije peptidne veze, što znači da je više energije potrebno dovesti za kidanje veze te se može zaključiti da je nastala peptidna veza jača u reakciji u kojoj dolazi do kondenzacije vode.

Dobivena duljina peptidne (C-N) veze iznosi 1,353 Å.

Promjena slobodne (Gibbsove) energije za reakciju u plinovitom agregatnom stanju, pri temperaturi 273,15 K računa se na način:

$$\begin{aligned}\Delta G_{273,15K}(g) &= \Delta G(\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3)_g + \Delta G(\text{H}_2\text{O})_g - 2 \times \Delta G(\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2)_g \\ &= -4,90 \text{ kcal/mol} = -20,52 \text{ kJ/mol}\end{aligned}$$

Promjena slobodne (Gibbsove) energije za reakciju u plinovitom agregatnom stanju, pri temperaturi 298,15 K iznosi:

$$\begin{aligned}\Delta G_{298,15K}(g) &= \Delta G(\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3)_g + \Delta G(\text{H}_2\text{O})_g - 2 \times \Delta G(\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2)_g \\ &= -19,45 \text{ kcal/mol} = -81,39 \text{ kJ/mol}\end{aligned}$$

Vjerojatnije su reakcije u kojima dolazi do reakcije dvije plinovite molekule glicina te nastajanja plinovitog glicilglicina i kondenzacije molekule vode.

Promjena Gibbsove slobodne energije za navedenu reakciju provedenu na temperaturi 273,15 K, iznosit će

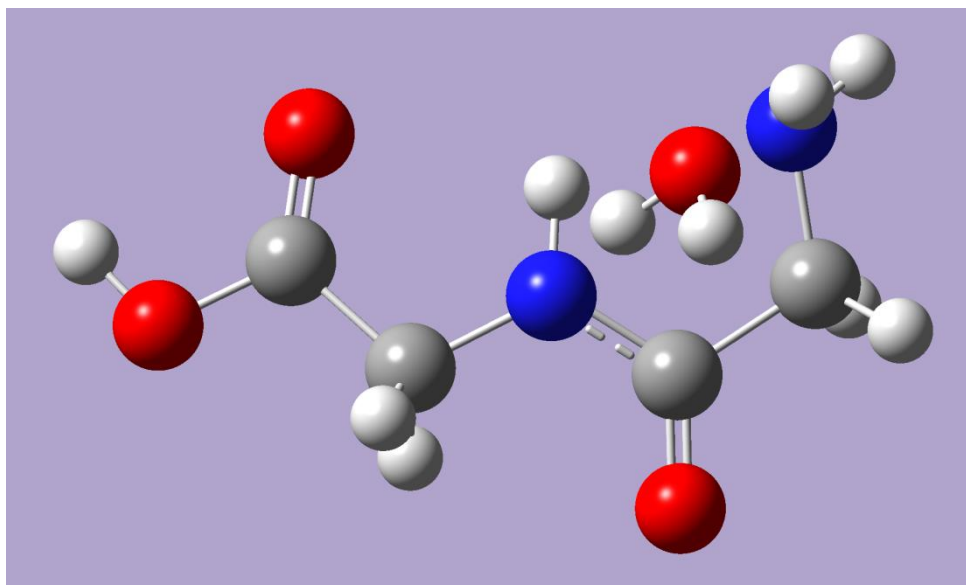
$$\begin{aligned}\Delta G_{273,15K}(aq) &= \Delta G(\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3)_g + \Delta G(\text{H}_2\text{O})_{aq} - 2 \times \Delta G(\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2)_g \\ &= -9,83 \text{ kcal/mol} = -41,13 \text{ kJ/mol}\end{aligned}$$

a pri temperaturi 298,15 K

$$\begin{aligned}\Delta G_{298,15K}(aq) &= \Delta G(\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3)_g + \Delta G(\text{H}_2\text{O})_{aq} - 2 \times \Delta G(\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2)_g \\ &= -9,43 \text{ kcal/mol} = -39,48 \text{ kJ/mol}.\end{aligned}$$

Promjena slobodne energije je u svim slučajevima negativna, što znači da su reakcije spontane, odnosno oslobađa se energija prilikom odvijanja navedenih reakcija. [33]

Za sve pojedinačne vrijednosti izračunate slobodne energije uzeta je u obzir toplinska korekcija Gibbsove slobodne energije.



Slika 32. Struktura glicilglicina i molekule vode

Tablica 6. Usporedba s literaturnim podacima

	Rezultati, kcal/mol	Eksperimentalni podaci, kcal/mol	Odstupanje, %
$\Delta G_{273,15\text{ K}}(\text{g})$	-4,90	-5,91	17,09
$\Delta G_{273,15\text{ K}}(\text{aq})$	-9,83	-10,2	3,63
$\Delta G_{298,15\text{ K}}(\text{aq})$	-9,43	-9,2	2,50

U tablici 6. je provedena usporedba s eksperimentalnim podacima dostupnim u literaturi i izračunato je odstupanje. Za reakciju pri temperaturi 298,15 K, u kojoj dolazi do kondenzacije molekule vode nisu pronađeni podaci za usporedbu rezultata. Duljina dobivene peptidne veze jednaka je vrijednosti iz literature. [34,35]

6. Zaključak

U ovom radu provedene su kvantnokemijske simulacije i izračuni za određivanje strukture i svojstava molekule glicina. Dan je uvod i ukratko su opisane aminokiseline te neke od osnovnih karakteristika glicina.

Za simulacije je korišten programski paket Gaussian 09, u kojem je primjenjena teorija funkcionala gustoće (DFT). Određena su optimizirana stanja molekula te je pretpostavljena njihova struktura. Pomoću kvantnokemijskih simulacija određena su termodinamička svojstva molekula pri temperaturama od 273,15 K i 293,15 K. Iz dobivenih rezultata izračunata je jačina peptidne veze u molekuli glicilglicina te promjena slobodne Gibbsove energije za reakcije nastajanja glicilglicina.

Osim toga dobiveni su infracrveni spektri molekule glicina i njezinog zwitteriona, a na temelju frekvencija i intenziteta signala određeni su modovi titranja vibracijskog spektra.

Rezultati su uspoređeni s eksperimentalnim podacima dostupnim u literaturi. Odstupanje dobivene vrijednosti promjene slobodne Gibbsove energije od literaturnih podataka iznosi 17,09 % za reakciju provedenu pri 273,15 K u plinovitom agregatnom stanju, odnosno 3,63 % za reakciju u kojoj dolazi do kondenzacije molekule vode. Za reakciju koja se odvija pri 293,15 K, odstupanje iznosi 2,50 % za reakciju koja se odvija u plinovitom agregatnom stanju. Razlozi navedenih odstupanja su korištenje različitih modela simulacija, različitih dielektričnih konstanti te nemogućnost simulacije realnih uvjeta.

Na temelju provedene usporedbe može se zaključiti kako dobiveni rezultati kvantnokemijskih simulacija i izračuna dobro predviđaju prirodu ponašanja molekula.

POPIS SIMBOLA

Oznaka	Jedinica	Opis
A	/	apsorbancija
c	mol dm^{-3}	koncentracija uzorka
E	J	energija
ΔG	J/mol	promjena slobodne (Gibbsove) energije
ΔG_f°	J	slobodna (Gibbsova) energija stvaranja
ΔH	J	promjena entalpije
I	/	intenzitet upadnog zračenja
I_0	/	intenzitet propuštenog zračenja
l	cm	duljina puta svjetlosti kroz uzorak
ΔS	J/K	promjena entropije
T	K	temperatura
ε	$\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$	molarni apsorpcijski koeficijent
λ	nm	valna duljina
ν	/	stehiometrijski koeficijent

LITERATURA

- [1] <https://www.lifepersona.com/glycine-functions-structure-and-properties> (pristup 08. veljače 2022.)
- [2] Karlson, P., *Biokemija*, Školska knjiga, Zagreb, 1993., str. 20-24
- [3] <https://edutorij.e-skole.hr/share/proxy/alfresco-noauth/edutorij/api/proxy-guest/fd4e4aca-de35-49a7-9436-638df9b1c154/aminokiseline-peptidi-i-proteini.html> (pristup 07. veljače 2022.)
- [4] Stryer, L., *Biokemija*, Školska knjiga, Zagreb, 1991., str. 11-16
- [5] https://www.chemicalbook.com/CASEN_56-40-6.htm (pristup 08. veljače 2022.)
- [6] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=glycine> (pristup 08. veljače 2022.)
- [7] Itala, E., Kooser, K., Rachlew E., Huels, M. A., Kukk, E., *Soft x-ray ionization induced fragmentation of glycine*, The Journal of Chemical Physics 140, 2014.
- [8] Rodriguez, J. S., Costa, G., da Silva, M. B., Silva, B. P., Honorio, L. J., de Lima-Neto, P., Santos, R. C. R., Caetano, E. W. S., Alves, H. W. L., Freire, V. N., *Structural and Optoelectronic Properties of the α -, β -, and γ -Glycine Polymorphs and the Glycine Dihydrate Crystal: A DFT Study*, Crystal Growth & Design, 2019., str. 5204-5217
- [9] Nelson, D. L., Cox M. M., *Lehninger Principles of Biochemistry*, W. H. Freeman; 4th edition, 2004., str. 75-115
- [10] Dale, R. A., *Catabolism of threonine in mammals by coupling of l-threonine 3-dehydrogenase with 2-amino-3-oxobutyrate-CoA ligase*, Biochimica et Biophysica Acta BBA - General Subjects, Vol. 544, 1978., str. 496-503
- [11] United States Patent Application Publication 10/416,494 (May 13,2004), Hatakeda, K., Ikushima, Y., Sato, O., Kawanami, H., Kanakubo, M., Torii, K. (to National Institute of Advanced Industrial Science and Technology AIST)
- [12] Rimola, A., Sodupe, M., Ugliengo, P., *Deep-space glycine formation via Strecker-type reactions activated by ice water dust mantles. A computational approach*, Physical Chemistry Chemical Physics, 2010., 12, str. 5285-5294

- [13] United States Patent Office 3,215,736 (Mar. 20, 1964), Guinot, H. M. (to Societe de Produits Chimiques industries S.P.C.E., Seine, France)
- [14] <https://www.prepchem.com/synthesis-of-glycine/> (pristup 28. veljače 2022.)
- [15] Roberts, J. D., Caserio, M. C., *Acid-Base Properties of α -Amino Acids*, predavanja, [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Book%3A_Basic_Principles_of_Organic_Chemistry_\(Roberts_and_Caserio\)/25%3A_Amino_Acids_Peptides_and_Proteins/25.02%3A_Acid-Base_Properties_of_\(alpha\)-Amino_Acids](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Book%3A_Basic_Principles_of_Organic_Chemistry_(Roberts_and_Caserio)/25%3A_Amino_Acids_Peptides_and_Proteins/25.02%3A_Acid-Base_Properties_of_(alpha)-Amino_Acids) (pristup 28. veljače 2022.)
- [16] <https://study.com/academy/lesson/dipeptide-definition-formation-structure.html> (pristup 03. ožujka 2022.)
- [17] Perez-Torres, I., Zuniga-Munoz, A. M., Lans, V. G., *Beneficial Effects of the Amino Acid Glycine*, Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 2016.
- [18] <https://www.lifepersona.com/glycine-functions-structure-and-properties> (pristup 07. ožujka 2022.)
- [19] <https://my.clevelandclinic.org/health/articles/22513-neurotransmitters> (pristup 31. ožujka 2022.)
- [20] Stahl, S. M., *Stahl's Essential Psychopharmacology*, Cambridge University Press, New York; 4th edition, 2013., str. 1-27
- [21] <https://www.moleculardevices.com/applications/patch-clamp-electrophysiology/what-action-potential> (pristup 22. travnja 2022.)
- [22] Mohler, H., *Pharmacology of GABA and Glycine Neurotransmission*, Handbook of Experimental Pharmacology, Vol 150., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2001., str. 144-146, 378-380
- [23] Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Hall, W. C., LaMantia A. S., McNamara, J. O., Williams, S. M., *Neuroscience*, Sunderland, Massachusetts U.S.A.; 3th edition, 2004., str. 137
- [24] <https://www.synopsys.com/glossary/what-is-density-functional-theory.html> (pristup 03. kolovoza 2022.)

- [25] http://www.premierbiosoft.com/tech_notes/mass-spectrometry.html (pristup 15. svibnja 2022.)
- [26] <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C56406&Mask=200> (pristup 16. svibnja 2022.)
- [27] Izunobi, J. U., Higginbotham, C. L., *Polymer Molecular Weight Analysis by ¹H NMR Spectroscopy*, Journal of Chemical Education, 2011., str. 1098-1104
- [28] https://www.chemicalbook.com/SpectrumEN_56-40-6_13CNMR.htm (pristup 16. svibnja 2022.)
- [29] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Glycine#section=13C-NMR-Spectra&fullscreen=true> (pristup 19. svibnja 2022.)
- [30] Dimitrijević, S., Rajčić-Vujasinović, M., Alagić, S., Grekulović, V., Trujić, V., *Formulation and characterization of electrolyte for decorative gold plating based on mercaptotriazole*, Journal of Electrochimica Acta, 2013., str. 330-336
- [31] Ojeda, J. J., Dittrich, M., *Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Molecular Analysis of Microbial Cells*, Journal of Methods in molecular biology (Clifton, N.J.), 2012., str. 187-196
- [32] <https://philosophy-question.com/library/lecture/read/257171-what-is-zero-point-energy-correction#0> (pristup 05. kolovoza 2022.)
- [33] Ball, D. W., Key, J. A., *Introductory Chemistry – 1st Canadian Edition*, Bccampus, Victoria, 2014., str. 903-906
- [34] Redondo, P., Barrientos, C., Martinez, H., Largo, A., *Computational study of peptide bond formation in the gas phase through ion-molecule reactions*, Journal of Physical Chemistry Chemical Physics, 2013., str. 13005-13012
- [35] Achour, S., Hosni, Z., Darghouthi, S., Syme, C., *Assisted dipeptide bond formation: glycine as a case study*, Journal of Heliyon 7, 2021.