



УДК 577.3

## Интерпретация ИК и КР спектров альбумина

Г. Н. Тен, А. Ю. Герасименко,  
Н. Е. Щербакова, В. И. Баранов



Тен Галина Николаевна, доктор физико-математических наук, профессор кафедры радиотехники и электродинамики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, TenGN@yandex.ru

Герасименко Александр Юрьевич, кандидат физико-математических наук, доцент, Национальный исследовательский университет «Московский институт электронной техники»; начальник лаборатории биомедицинских нанотехнологий, Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова, gerasimenko@bms.zone

Щербакова Наталья Евгеньевна, младший научный сотрудник, лаборатория диагностических технологий, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, hainl@yandex.ru

Баранов Виктор Иванович, доктор физико-математических наук, заведующий лабораторией молекулярного моделирования и спектроскопии, Институт геохимии и аналитической химии имени В. И. Вернадского РАН, Москва, baranov\_50@mail.ru

**Объект исследования и цель работы.** Объектом данного исследования является бычий сывороточный альбумин (БСА). Цель работы – дать интерпретацию колебательных спектров водного раствора БСА в области  $\sim 1700\text{--}600\text{ см}^{-1}$ . **Использованные методы и подходы.** Было выполнено экспериментальное измерение ИК и КР спектров БСА и проведён расчёт колебательных спектров цвиттер-ионных форм 20 аминокислот и их дипептидов. Рассмотрено влияние ангармонизма и межмолекулярного взаимодействия (ММВ) на колебательные спектры аминокислот. **Результаты.** Показано, что формы колебаний боковых остатков аминокислот, образующих полипептид, не смешиваются с формами колебаний амидного фрагмента (Амид I, Амид II и Амид III), что позволяет использовать колебания боковых цепей для интерпретации колебательных ИК и КР спектров БСА. Сравнение экспериментальных и вычисленных спектров БСА показало, что каждая экспериментальная полоса поглощения альбумина является суперпозицией нескольких полос поглощения боковых остатков аминокислот, а влияние ММВ между аминокислотными остатками и молекулами воды приводит к смещению максимума и изменению интенсивности полос поглощения, отвечающих колебаниям Амид I, Амид II и Амид III. Вычисленные энергии и частоты колебаний связей, участвующих в образовании ММВ разных типов, меняются в достаточно широких пределах. Если при образовании водородной связи между двумя дипептидами глицил-глицина наблюдается понижение частоты валентного колебания связи  $\text{C}=\text{O}$  и усиление интенсивности как полосы поглощения, так и линии КР, то для валентных и деформационных колебаний полярных групп  $\text{COO}^-$  и  $\text{N}^+\text{H}_3$  в случае ион-ионных и ион-дипольных ММВ наблюдается смещение частот, которое составляет  $\sim 5\text{--}80\text{ см}^{-1}$ , а интенсивность меняется в  $\sim 3\text{--}10$  раз. Было показано, что пере-

крывание полос поглощения аминокислотных остатков с полосой поглощения Амид I делает её очень чувствительной к структурным изменениям, в том числе и проявлению ММВ, вследствие чего смещение частоты и интенсивности полосы поглощения Амид I позволяет определять конформационные изменения белка. Анализ интенсивностей ИК и КР аминокислотных остатков в области  $\sim 1540\text{ см}^{-1}$  показал, что ММВ приводит к более существенному изменению интенсивности полосы поглощения Амид II в ИК спектре по сравнению со спектром КР. В области колебания Амид III проявляются деформационные  $\delta(\text{OH})$  и  $\delta(\text{NH})$  колебания боковых цепей ряда аминокислот, участвующих в образовании ММВ, в результате чего могут смещаться значения соответствующих частот деформационных колебаний Амид III. В экспериментальном ИК спектре БСА в области  $\sim 660\text{ см}^{-1}$  проявляется широкая полоса поглощения средней интенсивности. Согласно выполненному расчёту в данном спектральном интервале проявляются деформационные колебания угла  $\gamma(\text{OCO}^-)$  аминокислотных остатков Glu и Asp, участие которых в ММВ с другими аминокислотными остатками и молекулами воды приводит к смещению частоты колебания данного деформационного колебания и уширению соответствующей полосы поглощения. Таким образом, детальный анализ и интерпретация колебательных ИК и КР спектров БСА позволили выявить и подробно рассмотреть одну из основных причин, приводящих к смещению частот и изменению интенсивности Амид I, Амид II и Амид III, – это образование различных ММВ между аминокислотами и между аминокислотами и молекулами растворителя. Выполненная интерпретация колебательных спектров цвиттер-ионных форм 20 стандартных аминокислот в различных спектральных интервалах позволяет использовать её не только для определения конформационных изменений белков, но и диагностики взаимодействия с другими молекулярными соединениями, приводящими, например, к образованию комплексов.

**Ключевые слова:** бычий сывороточный альбумин, интерпретация, ИК и КР спектры 20 основных аминокислот, дипептиды, ангармоническое приближение, межмолекулярное взаимодействие.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1817-3020-2019-19-1-43-57>

### Введение

Все белки образованы из 20 типов аминокислотных остатков. Образование белковой или полипептидной цепи происходит путем поликонденсации аминокислот, где аминогруппа одной аминокислоты соединяется с карбоксильной группой другой с выделением воды и образованием пептидной связи  $-\text{NH}-\text{CO}-$ .

Очевидно, что интерпретация колебательных спектров белков основана на интерпретации составляющих белок аминокислот. При этом не-



обходимо отметить, что, несмотря на достаточно существенный (более 70 лет) срок исследования колебательных спектров аминокислот, в настоящее время в литературе наблюдается интенсивное обсуждение детальной интерпретации их ИК и КР спектров. Это связано не только с развитием и усовершенствованием экспериментальных методов регистрации ИК, и особенно КР спектров, но и возросшими возможностями молекулярного моделирования и теоретического расчёта колебательных спектров. В частности, методы квантовой химии позволяют выполнить интерпретацию колебательных спектров аминокислот для разных фазовых состояний. Учёт ММВ может проводиться, как минимум, двумя способами – с помощью самосогласованного реактивного поля и расчёта молекулярных комплексов.

Колебательные спектры аминокислот были предметом многочисленных исследований как экспериментального, так и теоретического характера (например, [1–15]). Большинство из этих исследований были проведены либо для отдельных молекул, либо для группы аминокислот, характеризующихся определённой полярностью радикала (способностью аминокислот к взаимодействию аминокислот с водой), либо для разных структур в зависимости от фазового состояния и pH среды, причём в разных спектральных диапазонах. Результаты таких исследований обобщены в обзорных работах [16–20].

Существует ряд экспериментальных работ, где проводилось комплексное исследование ИК спектров всех 20 основных аминокислот (например, в [21]). Как отмечают авторы данной работы, выполненное ими отнесение является предварительным и в ряде случаев не согласуется с теоретическим отнесением. Основной причиной такого несоответствия, по мнению авторов, является расчёт колебательных спектров без учёта ангармонизма колебаний. При этом экспериментальные спектры аминокислот были измерены при разных значениях pH: так, ИК спектры алифатических аминокислот аланина (Ala), глицина (Gly), изолейцина (Ile), лейцина (Leu) и валина (Val) были измерены при pH = 6.8, 6.2, 2.0, 3.0 и 9.0 соответственно, а спектры аспарагиновой (Asp) и глутаминовой (Glu) кислот – при pH=10. Поскольку аминокислоты в соответствии со своей амфотерной природой в зависимости от кислотности среды могут иметь разную ионную форму, а именно в кислых растворах они представляют собой положительно

заряженные ионы  $N^+H_3-CH(R)-COOH$ , в щелочных растворах – отрицательно заряженные ионы  $NH_2-CH(R)-COO^-$ , в нейтральной среде – цвиттер-ионы  $N^+H_3-CH(R)-COO^-$ , то сравнение экспериментальных спектров, измеренных при разных pH, целесообразно проводить со спектрами, вычисленными с учётом структурных изменений [22–26].

ИК и КР спектры альбумина также были предметом многих исследований как экспериментального, так и теоретического характера [27–36]. Хорошо известно, что в колебательных спектрах белков, в том числе и альбумина, можно выделить колебания амидной группы полипептидов, характеристические частоты которых лежат в спектральных областях вблизи 1650, 1540 и 1240  $cm^{-1}$ , а формы колебаний определяются изменением длины C=O пептидной связи, изменениями угла CNH и длины связи CN. Эти колебания общепринято называть колебаниями Амид I, Амид II и Амид III соответственно.

Анализ частот и интенсивностей полос поглощения и линий КР колебаний амидной группы, главным образом колебаний Амид I и Амид II, широко используется для установления конформационной структуры полипептидной цепи. Например, в работе [28] был выполнен сравнительный анализ колебательных спектров овальбумина и S-овальбумина в области 800–1850  $cm^{-1}$ . Различие спектров позволило авторам установить количественные характеристики относительного содержания  $\beta$ -складчатой и  $\alpha$ -спиральной структуры этих двух близких по строению аналогов альбумина.

В настоящее время важным направлением современной нанобиомедицины является создание имплантов нового поколения, которые не отторгаются иммунной системой человека. Одним из таких биосовместимых материалов являются нанокompозиты на основе альбумина и углеродных нанотрубок. Для усовершенствования технологии производства и создания надежных имплантов необходима более детальная интерпретация колебательного спектра альбумина, позволяющая проводить анализ взаимодействия нанотрубок и альбумина в зависимости от концентрации нанотрубок и условий образования нанокompозитов.

Цель данной работы – провести интерпретацию экспериментальных колебательных ИК и КР спектров водного раствора БСА на основе вычисленных колебательных спектров цвиттер-ионных форм 20 основных аминокислот в области 1800–600  $cm^{-1}$ . Для этого необходимо



решить следующие задачи: 1) выполнить расчёт колебательных спектров цвиттер-ионных форм основных аминокислот в гармоническом приближении; 2) определить влияние ангармонизма, водородной связи и межмолекулярного ион-ионного и ион-дипольного взаимодействия на колебательные спектры цвиттер-ионных форм аминокислот.

Расчет колебательных спектров был выполнен методом DFT на уровне B3LYP/6-311++g(d,p) по программе Gaussian-09 [37]. С целью стабилизации цвиттер-ионов в водном растворе была использована модель реактивного поля (модель поляризованного континуума Polarized Continuum Model, SCRF-PCM), когда полость, в которую помещена исследуемая молекула, представляет совокупность перекрывающихся ван-дер-ваальсовых сфер, построенных по линиям изоплотности.

### Результаты и их обсуждение

#### Экспериментальная часть

*ИК спектроскопия.* Для измерения использовался БСА фирмы Amresco (США). Спектры

регистрировались при комнатной температуре с использованием ИК-Фурье спектрометра FTIR Nicolet iS50 (Thermo Scientific, США). ИК-спектр поглощения усреднялся по 256 сканам, а спектральное разрешение составляло  $1 \text{ см}^{-1}$ .

*Спектроскопия КР.* Спектр КР БСА возбуждался излучением Nd:YAG лазера с длиной волны 1.046 мкм и мощностью 0.1–0.2 Вт (в зависимости от соотношения сигнал/шум) и измерялся при комнатной температуре прибором Bruker Equinox 55/S («Bruker», Германия). Кривая усреднялась по 150 сканам, записывалась с разрешением  $4 \text{ см}^{-1}$  и подвергалась обратному преобразованию Фурье.

#### Результаты квантово-химического расчёта

*Влияние ангармонизма на колебательные спектры аминокислот.* Для выяснения влияния ангармонизма на колебательные спектры цвиттер-ионных форм аминокислот были выполнены расчет и анализ колебательных спектров двух аминокислот – глицина (Gly), цистеина (Cys) и дипептида Gly-Gly (рис. 1) в гармоническом и ангармоническом приближениях, частоты колебаний которых приведены в табл. 1.

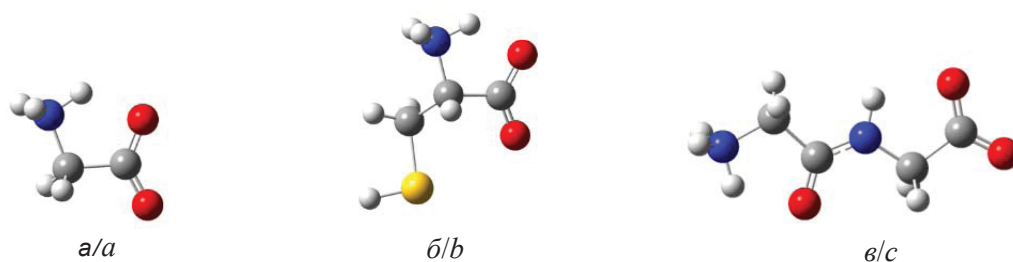


Рис. 1. Молекулярные структуры Gly (а), Cys (б) и дипептида Gly-Gly (в)

Fig. 1. Molecular structures of Gly (a), Cys (b) and dipeptide Gly-Gly (c)

Анализ вычисленных частот колебаний биполярных групп (колебания № 2–4) показывает, что расчёт в ангармоническом приближении приводит не только к значительно лучшему согласию с экспериментальными значениями, но и позволяет уточнить структуру полос поглощения в этой области. Например, в экспериментальных спектрах Gly и Cys в области  $\sim 1600 \text{ см}^{-1}$  проявляется по одной полосе поглощения сильной интенсивности, которая, согласно выполненному расчёту, является суперпозицией двух полос поглощения, проявляющихся в области 1643–1635 и 1537–1541  $\text{см}^{-1}$ .

Формы колебаний № 2–4 и № 7–12 Gly при образовании дипептида Gly-Gly не меняются, что

говорит о независимости колебаний биполярных групп от колебаний амидной группы и боковых цепей аминокислот и что также подтверждается сравнением с формами колебаний Cys. Колебания № 1, 5–6 и 13–14 – это колебания Амид I, II и III соответственно.

В области 1470–1300  $\text{см}^{-1}$  формы колебаний № 7–12 отвечают, главным образом, изменениям деформационных углов групп CH и CH<sub>2</sub>, входящих в боковые цепи всех 20 аминокислот. Исключение составляют колебание № 8 в области  $\sim 1400\text{--}1415 \text{ см}^{-1}$ , характеризующее деформационное колебание группы  $\delta(\text{N}^+\text{H}_3)$ , и колебание № 10, форма которого содержит изменения длин связей COO<sup>-</sup> биполярной группы. Отметим, что



Таблица 1 / Table 1

Экспериментальные [38, 39] и вычисленные в гармоническом и ангармоническом приближении частоты ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ) нормальных колебаний Gly (а), Cys (б) и дипептида Gly-Gly (в) в области 1750–1200  $\text{cm}^{-1}$

Experimental [38, 39] and calculated in the harmonic and anharmonic approximation frequencies ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ) of normal vibrations Gly (a), Cys (b) and dipeptide Gly-Gly (c) in the region 1750–1200  $\text{cm}^{-1}$

No. vib.	Gly (a)	Cys (b)	Gly-Gly (c)	Assignment
1			1724 <sup>1</sup> 1676 <sup>2</sup> 1673 <sup>3</sup>	C=O Amide I
2	1668 <sup>1</sup> 1643 <sup>2</sup> –	1670 <sup>1</sup> 1635 <sup>2</sup> –	1659 <sup>1</sup> 1619 <sup>2</sup> 1629 <sup>3</sup>	$\nu(\text{COO}^-)$ , $\delta(\text{N}^+\text{H}_3)$
3	1663 <sup>1</sup> 1537 <sup>2</sup> 1600 <sup>3</sup>	1662 <sup>1</sup> 1541 <sup>2</sup> 1602 <sup>3</sup>	1658 <sup>1</sup> 1627 <sup>2</sup> 1580 <sup>3</sup>	$\nu(\text{COO}^-)$ , $\delta(\text{N}^+\text{H}_3)$
4	1634 <sup>1</sup> 1500 <sup>2</sup> 1514 <sup>3</sup>	1630 <sup>1</sup> 1490 <sup>2</sup> 1520 <sup>3</sup>	1641 <sup>1</sup> 1584 <sup>2</sup> 1550 <sup>3</sup>	$\delta(\text{N}^+\text{H}_3)$
5			1506 <sup>1</sup> 1465 <sup>2</sup> 1533 <sup>3</sup>	$\delta(\text{NH})$ , Q(CN), $\delta(\text{CH}_2)$ Amide II
6			1490 <sup>1</sup> 1461 <sup>2</sup> 1494 <sup>3</sup>	$\delta(\text{NH})$ , Q(CN), $\delta(\text{CH}_2)$ Amide II
7	1481 <sup>1</sup> 1390 <sup>2</sup> 1444 <sup>3</sup>	1480 <sup>1</sup> 1456 <sup>2</sup> 1429 <sup>3</sup>	1482 <sup>1</sup> 1460 <sup>2</sup> –	$\delta(\text{CH}_2)$
8	1435 <sup>1</sup> 1325 <sup>2</sup> 1414 <sup>3</sup>	1427 <sup>1</sup> 1318 <sup>2</sup> 1401 <sup>3</sup>	1436 <sup>1</sup> 1392 <sup>2</sup> 1409 <sup>3</sup>	$\delta(\text{N}^+\text{H}_3)$
9		1383 <sup>1</sup> 1330 <sup>2</sup> 1351 <sup>3</sup>		$\delta(\text{CH})$
10	1359 <sup>1</sup> 1304 <sup>2</sup> 1332 <sup>3</sup>	1362 <sup>1</sup> 1261 <sup>2</sup> 1305 <sup>3</sup>	1353 <sup>1</sup> 1319 <sup>2</sup> –	Q(CC), $\delta(\text{CH})$
11	1322 <sup>1</sup> 1260 <sup>2</sup> –	1332 <sup>1</sup> 1266 <sup>2</sup> –	1343 <sup>1</sup> 1314 <sup>2</sup> –	$\delta(\text{CH})$ , $\delta(\text{CH}_2)$
12	1303 <sup>1</sup> 1233 <sup>2</sup> –	1302 <sup>1</sup> 1257 <sup>2</sup> –	1312 <sup>1</sup> 1289 <sup>2</sup> –	$\delta(\text{CH})$ , $\delta(\text{CH}_2)$
13			1299 <sup>1</sup> 1274 <sup>2</sup> 1253 <sup>3</sup>	Q(CN) Amide III
14			1221 <sup>1</sup> 1196 <sup>2</sup> 1234 <sup>3</sup>	Q(CN) Amide III

Примечание. <sup>1,2</sup> – частоты, вычисленные гармоническом и ангармоническом приближении; <sup>3</sup> – экспериментальные значения частот.

Note. <sup>1,2</sup> – the frequencies calculated in the harmonic and anharmonic approximation; <sup>3</sup> – the experimental frequency.



частоты колебаний, вычисленные как в гармоническом, так и ангармоническом приближениях, отличаются от экспериментальных значений на  $\sim 30\text{--}50\text{ см}^{-1}$ . Основной причиной такого расхождения между вычисленными и экспериментальными частотами является одновременное присутствие нескольких различных структур (например, конформеров,  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -форм), состав которых зависит от заряда, pH среды и температуры. Кроме того, существенное влияние на значения экспериментальных колебательных частот аминокислот оказывает ММВ либо между собой, либо с молекулами растворителя, например, молекулами воды. Как отмечают авторы серии работ, в которых представлены экспериментальные колебательные спектры цвиттер-ионных форм кристаллических аминокислот и дипептидов, например, в зависимости от температуры может наблюдаться заметное смещение частот, что объясняется изменением прочности водородных связей [39].

Сравнение колебательных спектров цвиттер-ионных форм аминокислот с колебательными спектрами дипептидов показывает, что формы колебаний амидного фрагмента (колебания Амид I, Амид II и Амид III) практически не смешиваются с формами колебаний боковых цепей аминокислот, образующих дипептид. Это позволяет выполнить в средней и нижней спектральной области адекватную эксперименту теоретическую интерпретацию колебательных спектров белков, используя при этом колебательные спектры цвиттер-ионных форм аминокислот.

**Влияние водородных, ион-ионных и ион-дипольных ММВ на колебательные спектры аминокислот.** При интерпретации колебательных спектров белков в высокочастотной области необходимо учитывать влияние водородных и ионных связей на смещение частот колебаний. Известно, что внутри- и ММВ являются важным фактором, стабилизирующим форму белков (отвечают за нативную конформацию белковой молекулы), лежат в основе таких важнейших свойств белков, как, например, сократимость, имеют решающее значение в случае химических реакций и взаимодействий с другими молекулами и ионами. В белках существует большое многообразие различных типов ММВ:

- между группами, участвующими в образовании пептидных связей;
- между пептидными связями в структуре типа складчатого слоя;

- между аминокеттогруппами лизина и аргинина и карбонилем пептидной связи;

- между гидроксильными группами тирозина, серина, треонина и карбонилем пептидной связи и др.

Характер этих взаимодействий – энергетика и геометрические параметры – хорошо изучен и представлен в обзорной работе [40].

Для выяснения влияния ММВ на смещение частот и изменение интенсивностей полос поглощения и линий КР аминокислот, во-первых, был вычислен колебательный спектр молекулярной структуры, образованной двумя дипептидами глицил-глицина (Gly-Gly), позволяющий определить влияние водородной связи. Во-вторых, в качестве других молекулярных структур были рассмотрены аминокислоты, имеющие положительно (Lys, Arg) и отрицательно (Asp, Glu) заряженные боковые остатки и способные образовывать ион-ионные и ион-дипольные взаимодействия. На рис. 2 приведены структуры молекулярных комплексов, для которых были вычислены колебательные спектры:

1) структуры двух дипептидов глицил-глицина (Gly-Gly), образующих водородную связь  $\text{NH}\dots\text{O}$ ;

2) комплексов Glu:2w и Lys:3w с двумя и тремя молекулами воды, образующих ион-ионный тип ММВ  $\text{R-COO}^- \rightarrow \leftarrow \text{nH}_2\text{O}$  и  $\text{R-N}^+\text{H}_3 \rightarrow \leftarrow \text{nH}_2\text{O}$  соответственно;

3) комплекса Asp-Lys, образующего ион-дипольный тип ММВ  $\text{R-COO}^- \rightarrow \leftarrow \text{N}^+\text{H}_3\text{-R}$ .

Расчёт колебательных спектров молекулярных комплексов был выполнен методом SCRF, позволяющий наряду с рассматриваемыми типами ММВ учитывать влияние сил Ван-дер-Ваальса.

В табл. 2 приведены энергия и частоты колебаний связей, участвующих в ММВ, анализ которых показывает, что и энергия, и смещения частот разных типов ММВ меняются в достаточно широких пределах. Если при образовании водородной связи, как и следовало ожидать, наблюдается понижение частоты валентного колебания связи  $\text{C}=\text{O}$  и усиление интенсивности как полосы поглощения, так и линии КР, то для валентных и деформационных колебаний полярных групп  $\text{COO}^-$  и  $\text{N}^+\text{H}_3$  для разных типов ММВ наблюдается как увеличение, так и уменьшение значений частот и интенсивностей на  $\sim 5\text{--}80\text{ см}^{-1}$  и в  $\sim 3\text{--}10$  раз соответственно.

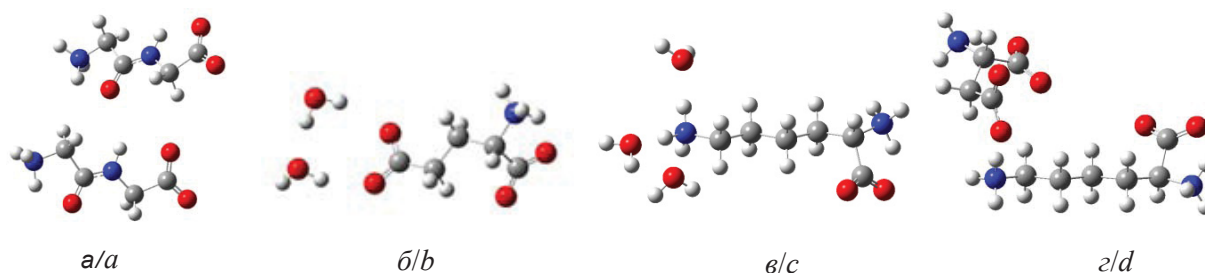


Рис. 2. Молекулярные структуры двух дипептидов Gly-Gly (а), комплексов Glu (б) и Lys (в) с молекулами воды и комплекса Asp-Lys (г)

Fig. 2. Molecular structures of two dipeptides Gly-Gly (a), complexes Glu (b) and Lys (c) with water molecules and complex Asp-Lys (d)

Таблица 2 / Table 2

Энергия ( $E$ , кДж/моль) и частоты ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ) колебаний связей, участвующих в образовании ММВ  
 Energy ( $E$ , kJ/mol) and frequencies ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ) of vibrations of bonds involved in the formation of IMB

Structure	Bond	$E$	The frequency and intensity of vibration		Assignment
			$\nu_1$	$\nu_2$	
Gly:Gly	O...HN	8	1724(337;3)	1699(472;28)	Q(C=O)
Glu:2w	COO <sup>-</sup> →←-2H <sub>2</sub> O	125	1609(479;169)	1601(538;18)	Q(COO <sup>-</sup> )
Lys:3w	N <sup>+</sup> H <sub>3</sub> →←-3H <sub>2</sub> O	81	1665(36;56) 1663(50;6) 1521 (144;1)	1732(33;1) 1722(9;2) 1608(128;1)	$\delta$ (N <sup>+</sup> H <sub>3</sub> ) asym $\delta$ (N <sup>+</sup> H <sub>3</sub> ) asym $\delta$ (N <sup>+</sup> H <sub>3</sub> ) sym
Asp-Lys	COO <sup>-</sup> →←-N <sup>+</sup> H <sub>3</sub>	315	1629(611;3) 1665(36;56) 1663(50;6) 1521 (144;1)	1699(538;18) 1670(49;5) 1688(56;5) 1487(47;7)	Q(COO <sup>-</sup> ) $\delta$ (N <sup>+</sup> H <sub>3</sub> ) asym $\delta$ (N <sup>+</sup> H <sub>3</sub> ) asym $\delta$ (N <sup>+</sup> H <sub>3</sub> ) sym

Примечание.  $\nu_1$  и  $\nu_2$  – частоты колебаний до и после образования комплексов. В скобках приведены соответствующие значения интенсивностей полос поглощения (км/моль) и линий КР ( $\text{\AA}^4/\text{a.e.m.}$ ).

Note.  $\nu_1$  and  $\nu_2$  are the frequencies of vibrations before and after the formation of complexes. The corresponding values of absorption bands (km/mol) and Ramanines ( $\text{\AA}^4/\text{a.e.m.}$ ) are given in the parentheses.

Отметим, что образование водородных связей NH...O между дипептидами Gly-Gly приводит к разделению форм колебаний биполярных групп  $\nu(\text{COO}^-)$  и  $\delta(\text{N}^+\text{H}_3)$  в колебаниях № 2, 3 (см. табл. 1), что позволяет объяснить существующую в настоящее время неоднозначность отнесения этих колебаний разными авторами

**Интерпретация колебательных ИК и КР спектров альбумина.** Белок БСА представляет полипептидную цепь, состоящую из 585 аминокислотных остатков, сложенных в виде ряда петель. В цепи много заряженных и ароматических остатков (30 фенилаланинов (Phe) и 21 тирозин (Tyr)), 5 метионинов (Met) и 35 цистеинов (Cys), которые образуют 17 дисульфидных мостиков. Эти дисульфидные связи определяют вторичную структуру молекулы

альбумина, которую на 50–68% составляют  $\alpha$ -спирали и на 16–18% –  $\beta$ -складки [41].

На рис. 3 приведены экспериментальные ИК и КР колебательные спектры водного раствора БСА, измеренные в области  $\sim 1700\text{--}600 \text{ cm}^{-1}$ .

Теоретическая интерпретация колебательных спектров БСА проводилась на основе вычисленных колебательных спектров цвиттер-ионных форм 20 аминокислот. Учитывая независимость колебаний амидного фрагмента и колебаний боковых цепей, в табл. 3 приведены колебания только аминокислотных остатков и только те колебания, интенсивность полос и линий КР которых имеет среднюю и (или) сильную интенсивность. Кроме того, в табл. 3 не приведены колебания биполярных групп  $\nu(\text{COO}^-)$  и  $\delta(\text{N}^+\text{H}_3)$ , участвующих в образовании полипептидных цепей.

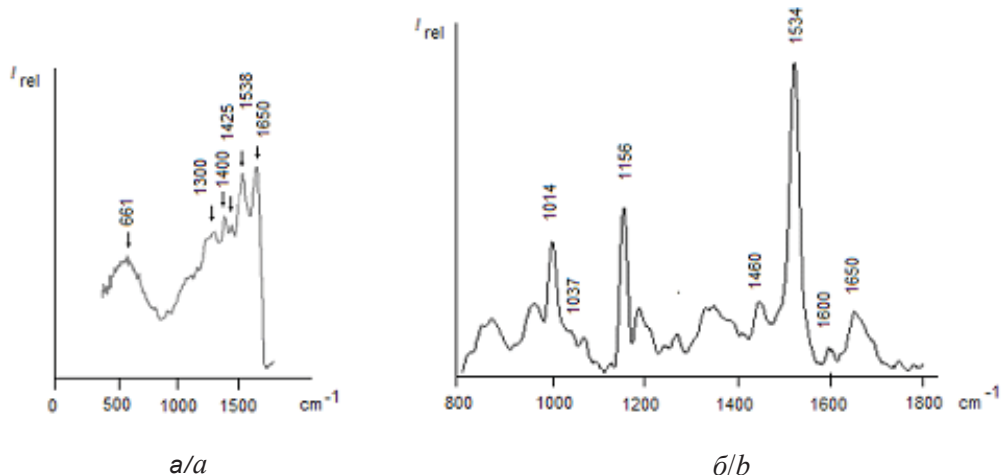


Рис. 3. Экспериментальные ИК (а) и КР (б) спектры водного раствора БСА  
 Fig. 3. Experimental IR (a) and Raman (b) spectra of aqueous solution BSA

*Область 1700–1200 см<sup>-1</sup>.* В области ~1700–1600 см<sup>-1</sup> колебательного спектра БСА помимо колебания Амид I проявляются валентные колебания  $\nu(\text{C}=\text{O})$  боковых остатков Asp и Glu, которым отвечают полосы поглощения сильной интенсивности, а также валентные  $\nu(\text{COO}^-)$  и деформационные  $\delta(\text{N}^+\text{H}_{3(2)})$  колебания аминокислот с заряженными боковыми цепями Asp, Glu, Lys и Arg (табл. 3). О проявлении в колебательных спектрах БСА нескольких соизмеримых по интенсивности как полос поглощения, так и линий КР (с учётом числа аминокислот в БСА) можно судить по экспериментальному спектру КР в области выше 1600 см<sup>-1</sup> (см. рис. 3). При этом необходимо учитывать, что вследствие образования ММВ в данной спектральной области будет наблюдаться смещение частот и изменение интенсивностей полос поглощения и линий КР аминокислотных остатков (см. табл. 2). Например, влияние водородной связи на частоту колебания Амид I с учётом ангармонизма колебаний приводит к смещению частоты колебания связи  $\text{C}=\text{O}$  в область 1650 см<sup>-1</sup>, что согласуется с экспериментальным значением данного колебания (см. табл. 1). Таким образом, перекрывание полос поглощения аминокислотных остатков с полосой поглощения Амид I делает её очень чувствительной к структурным изменениям, в том числе и проявлению ММВ, вследствие чего смещение частоты и интенсивности полосы поглощения Амид I используют для определения конформационных изменений белка.

В области колебания Амид II (~1600–1500 см<sup>-1</sup>) в вычисленных ИК спектрах проявляются полосы поглощения средней интенсивности, отвечающие деформационным  $\delta(\text{N}^+\text{H}_3)$  и валентным колебаниям  $\nu(\text{C}=\text{C})$  Lys и Trp соответственно. В спектрах КР в данной спектральной области согласно выполненным расчётам колебаниям аминокислотных остатков всех 20 аминокислот отвечают линии слабой интенсивности. Это приводит к тому, что в колебательных ИК и КР спектрах БСА в области ~1540 см<sup>-1</sup> доминирующим колебанием является колебание Амид II, причём частота и интенсивность которого в ИК спектре более чувствительна к влиянию ММВ, чем в спектре КР.

Отметим, что в области ~1500–1400 см<sup>-1</sup>, напротив, только для Leu, Lys, Glu интенсивности линий КР имеют среднее, а для Trp – сильное значение. Соответствующая Trp экспериментальная линия проявляется в области 1460 см<sup>-1</sup>. Для остальных аминокислот интенсивности линий, как и полос поглощения, имеют слабую интенсивность.

Каждая из 20 аминокислот в области ~1400–1300 см<sup>-1</sup> имеет среднюю по интенсивности полосу поглощения, форма которой является смешанной и определяется не только изменениями валентных углов  $\text{CCH}$ ,  $\text{CNH}$  и длин связей  $\text{CC}$  аминокислотных остатков, но и, в отличие от вышерассматриваемых колебаний, изменениями связей  $\text{COO}^-$  биполярной группы, особенно для алифатических аминокислот.



Таблица 3 / Table 3

Вычисленные значения частот ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ) и интенсивностей спектров ИК ( $I_{\text{ИК}}$ ,  $\text{km/mol}$ ) и КР ( $I_{\text{КР}}$ ,  $\text{\AA}^4/\text{a.e.m.}$ ) аминокислот, входящих в состав БСА.  $N$  – количество данной аминокислоты в БСА; в скобках приведены интенсивности ИК полос и КР линий

Calculated values of frequencies ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ) and intensities of IR ( $I_{\text{IR}}$ ,  $\text{km/mol}$ ) and Raman spectra ( $I_{\text{Raman}}$ ,  $\text{\AA}^4/\text{a.e.m.}$ ) of amino acids, included in the BSA.  $N$  – the amount of this amino acid in the BSA; the intensities of IR bands and Raman lines are given in the parentheses

№	AA	N	Range 1700–1600 $\text{cm}^{-1}$		Range 1600–1500 $\text{cm}^{-1}$		Range 1500–1400 $\text{cm}^{-1}$		Range 1400–1300 $\text{cm}^{-1}$		Range 1300–1200 $\text{cm}^{-1}$	
			$\nu$	Assignment	$\nu$	Assignment	$\nu$	Assignment	$\nu$	Assignment	$\nu$	Assignment
1	Leu	65			1494(5;19) 1485(4;19)	$\delta(\text{CH}_\chi)$	1352(107;14)	$\delta(\text{CH}_\chi)$				
2	Lys	60	1665(36;6) 1663(50;5)	$\delta(\text{N}^+\text{H}_3)$	1521(144;1)	$\delta(\text{N}^+\text{H}_3)$	1490(1;21)	$\delta(\text{CH}_\chi)$	1352(28;11)	$\delta(\text{CH}_\chi)$ $\nu(\text{COO}^-)^*$		
3	Glu	58	1609(479;169)	$\nu(\text{COO}^-)$			1465(2;16)	$\delta(\text{CH}_\chi)$	1360(290;28)	$\delta(\text{CH}_\chi)$ $\nu(\text{COO}^-)^*$		
4	Ala	48							1349(216;17)	$\delta(\text{CH}_\chi)$ $\nu(\text{COO}^-)^*$		
5	Asp	41	1629(611;26)	$\nu(\text{COO}^-)$					1334(358;49)	$\delta(\text{CH}_\chi)$ $\nu(\text{COO}^-)^*$		
6	Val	38							1331(263;17)	$\delta(\text{CH}_\chi)$ $\nu(\text{COO}^-)$		
7	Cys	35							1362(125;16)	$\delta(\text{CH}_\chi)$		
8	Thr	34							1345(278;22)	$\delta(\text{CH}_\chi)$	1236(66;7)	$\delta(\text{OH})$
9	Ser	32							1325(185;20)	$\delta(\text{CH}_\chi)$	1273(69;6)	$\delta(\text{OH})$
10	Pro	28							1391(140;5)	$\delta(\text{CH}_\chi, \text{NH})$	1273(102;9)	$\delta(\text{NH}, \text{CH}_\chi)$
11	Phe	30							1330(193;31)	$\nu(\text{C}), \delta(\text{CH}_\chi)$		
12	Arg	26	1705(416;3) 1692(743;2) 1650(186;2)	$\delta(\text{N}^+\text{H}_2)$					1390(67;14) 1331(34;6)	$\nu(\text{C}, \text{C}, \text{N}),$ $\delta(\text{CH}_\chi, \text{NH})$	1204(34;85)	$\delta(\text{CH}_\chi)$
13	Gln	21	1686(718;23)	$\nu(\text{C=O})$					1334(184;18)	$\nu(\text{C}, \text{C}, \text{N}),$ $\delta(\text{CH}_\chi, \text{NH})$	1277(61;1)	$\delta(\text{CH}_\chi)$
14	Tyr	21			1539(169;2)	$\nu(\text{C=C})$			1330(215;43)	$\nu(\text{C}), \delta(\text{CH}_\chi)$	1266(177;57)	$\delta(\text{OH})$
15	His	16							1339(135;30) 1324(127;7)	$\nu(\text{C}), \delta(\text{CH}_\chi)$	1259(19;33)	$\nu(\text{C}, \text{C}, \text{N})$ $\delta(\text{NH})$
16	Gly	17							1359(296;16)	$\delta(\text{CH}_\chi)$ $\nu(\text{COO}^-)^*$		
17	Ile	15							1326(226;16)	$\delta(\text{CH}_\chi)$ $\nu(\text{COO}^-)^*$		
18	Asn	14	1694(729;25)	$\nu(\text{C=O})$					1354(192;17) 1307(145;4)	$\delta(\text{CH}_\chi)$		
19	Met	5							1335(229;17)	$\delta(\text{CH}_\chi)$		
20	Trp	2							1451(42;193)	$\delta(\text{NH})$ $\nu(\text{C}, \text{C}, \text{N})$	1247(23;19) 1213(11;69)	$\delta(\text{NH})$ $\delta(\text{CH}_\chi)$





Окончание табл. 3 / The end of table 3

№	AA	N	Range 1200-1100 cm <sup>-1</sup>		Range 1100-1000 cm <sup>-1</sup>		Range 1000-900 cm <sup>-1</sup>		Range 900-800 cm <sup>-1</sup>		Range 800-700 cm <sup>-1</sup>		Range 700-600 cm <sup>-1</sup>	
			v	Assignment	v	Assignment	v	Assignment	v	Assignment	v	Assignment	v	Assignment
1	Leu	65	1107(62;10)	v(CC), δ(CH <sub>x</sub> )	1002(19;7)	δ(CH <sub>x</sub> )			830(53;18)	γ(CCC)				
2	Lys	60			1050(12;15)	v(CC)			832(67;1)	γ(CCC), δ(CH <sub>x</sub> )				
3	Glu	58					920(63;27)	v(CC,CN)	808(34;2)	γ(CCC)			684(17;1)	γ(OCO)
4	Ala	48	1114(70;4)	v(CC), δ(CH <sub>x</sub> )			996(35;3)	v(CC)	822(69;2)	v(CC,CN)				
5	Asp	41					890(61;40)	v(CC)					650(14;2)	γ(OCO)
6	Val	38			1085(97;9)	v(CC), δ(CH <sub>x</sub> )								
7	Cys	35							894(62;8)	δ(CH <sub>x</sub> )				
8	Thr	34			1072(121;3)	δ(OH,CH <sub>x</sub> )	921(60;10)	v(CC) δ(CH <sub>x</sub> )					660(18;2)	γ(CCC)
9	Ser	32			1088(88;7)	v(CO)	976(53;8)	v(CC,CN)						
10	Pro	28					948(28;2)	v(CC), δ(NH, CH <sub>x</sub> )						
11	Phe	30			1016(0;100)	v(CC)					712(69;0)	ρ(CH)		
12	Arg	26					930(30;11)	v(CC)						
13	Gln	21			1096 (66;15)	δ(NH,CH <sub>x</sub> )			852(50;11)	δ(CH <sub>x</sub> )				
14	Tyr	21	1181(295;26)	v(CO)					858(31;70)	γ(CCC)				
15	His	16							845(141;9)	ρ(CH)				
16	Gly	17	1101(125;9)	v(CC), δ(CCN <sup>+</sup> )			946(37;21)	v(CC)	842(86;4)	ρ(CH)			652(26;2)	ρ(CH,NH)
17	Ile	15												
18	Asn	14												
19	Met	5												
20	Trp	2											750(113;7)	ρ(CH)

Примечание. \* – симметричное колебание v(COO<sup>-</sup>) биполярной группы; CH<sub>x</sub> (x=1,2,3).

Note. \* – symmetric of vibration v(COO<sup>-</sup>) of the bipolar group; CH<sub>x</sub> (x=1,2,3).



В области  $\sim 1300\text{--}1200\text{ см}^{-1}$ , помимо колебания Амид III, проявляются деформационные  $\delta(\text{OH})$  и  $\delta(\text{NH})$  колебания Thr, Ser, Phe, Tug, His и Tgr, частоты которых могут смещаться, например, при образовании водородной связи с молекулами воды или соседними аминокислотными остатками до  $\sim 50\text{ см}^{-1}$ , а интенсивность изменяться в  $\sim 2\text{--}5$  раз (см. табл. 2).

*Область 1200–600 см<sup>-1</sup>.* Спектральная область поглощения ниже  $1200\text{ см}^{-1}$  обычно редко используется для анализа конформационных изменений белков, так как считается малоинформативной. В отличие от ИК спектра, в экспериментальном спектре КР проявляются две хорошо разрешённые линии сильной интенсивности, отвечающие колебаниям с частотами  $1156$  и  $1014\text{ см}^{-1}$ . Согласно выполненному расчёту в области  $1200\text{--}1000\text{ см}^{-1}$  в спектре КР аминокислотных остатков наиболее сильные линии отвечают колебаниям ароматических аминокислот Tug, Tgr и Phe с частотами  $1181$ ,  $1029$  и  $1016\text{ см}^{-1}$  соответственно. Причём, хотя интенсивности линий КР двух последних аминокислот мало отличаются, но поскольку число аминокислотных остатков Phe, входящих в состав БСА в 15 раз больше числа Tgr остатков, то интенсивность линии Phe выше интенсивности линии Tgr. Таким образом, экспериментальные линии сильной интенсивности, отвечающие колебаниям с частотами  $1156$  и  $1014\text{ см}^{-1}$ , характеризуют валентные колебания  $\nu(\text{CO})$  Tug и  $\nu(\text{CC})$  Phe, а экспериментальная линия средней интенсивности, отвечающая колебанию с частотой  $1037\text{ см}^{-1}$ , характеризует валентное колебание  $\nu(\text{CC})$  бензольного кольца Tgr. Отметим, что данное отнесение согласуется с отнесением, выполненным на основе анализа спектра БСА с помощью метода гигантского комбинационного рассеяния [36].

В экспериментальном ИК спектре БСА в области  $\sim 660\text{ см}^{-1}$  проявляется широкая полоса поглощения средней интенсивности. Согласно выполненному расчёту в данном спектральном интервале проявляются деформационные колебания угла  $\gamma(\text{OCO}^-)$  аминокислотных остатков Glu и Asp, участие которых в ММВ с другими аминокислотными остатками и молекулами воды приводит к смещению частоты колебания данного деформационного колебания и уширению соответствующей полосы поглощения.

## Заключение

Таким образом, в работе дана интерпретация колебательных ИК и КР спектров водного раствора БСА в области  $1700\text{--}600\text{ см}^{-1}$ . Для этого была выполнена экспериментальная регистрация ИК и КР спектров БСА и проведён расчёт колебательных спектров цвиттер-ионных форм 20 аминокислот. Анализ вычисленных ИК и КР спектров цвиттер-ионных форм аминокислот и их дипептидов в гармоническом и ангармоническом приближении показал, что формы колебаний амидного фрагмента (колебания Амид I, Амид II и Амид III) практически не смешиваются с формами колебаний боковых цепей аминокислот, образующих дипептид. Принимая во внимание, что области проявления полос поглощения Амид I, Амид II, Амид III и колебаний биполярных групп хорошо известны, характеристичны по частоте и интенсивности, при интерпретации колебательных ИК и КР спектров БСА были рассмотрены только те колебания боковых остатков аминокислот, для которых интенсивности полос поглощения и линий КР, за исключением вышеназванных, имеют максимальное значение.

Анализ колебательных спектров цвиттер-ионных форм 20 стандартных аминокислот показал, что каждая экспериментальная полоса поглощения БСА является, во-первых, суперпозицией целого ряда полос и линий, характеризующих колебания боковых остатков аминокислот. Во-вторых, ММВ (водородная связь, ион-ионное и ион-дипольное взаимодействие) между аминокислотными остатками приводит к смещению частот и изменению интенсивностей полос поглощения и линий КР, характеризующих колебания Амид I, Амид II и Амид III.

Вычисленные спектральные характеристики колебаний связей, участвующих в образовании ММВ (водородной связи, ион-ионного и ион-дипольного взаимодействий), меняются в достаточно широких пределах – смещение частот в пределах  $\sim 5\text{--}80\text{ см}^{-1}$ , а интенсивность – в  $\sim 3\text{--}10$  раз.

Показано, что перекрытие полос поглощения аминокислотных остатков с полосой поглощения Амид I делает её очень чувствительной к проявлению ММВ, в том числе и с молекулами растворителя, вследствие чего смещение частоты и интенсивности полосы поглощения Амид I позволяет определить конформационное изменение белка.



Показано, что в спектральной области  $\sim 1540 \text{ см}^{-1}$  ММВ приводит к более существенному изменению интенсивности полосы поглощения Амид II в ИК спектре по сравнению со спектром КР.

В области колебания Амид III проявляются деформационные  $\delta(\text{OH})$  и  $\delta(\text{NH})$  колебания боковых цепей ряда аминокислот, участвующих в образовании ММВ, в результате чего значения соответствующих частот деформационных колебаний смещаются, причём одновременно с частотами колебаний Амид I и Амид II.

Проявление в экспериментальном ИК спектре БСА в области  $\sim 660 \text{ см}^{-1}$  широкой полосы поглощения средней интенсивности согласно выполненному расчёту вызвано деформационными колебаниями угла  $\gamma(\text{OCO}^-)$  аминокислотных остатков Glu и Asp. Участие Glu и Asp в ММВ с другими аминокислотными остатками и молекулами воды приводит к уширению соответствующей полосы поглощения.

Таким образом, детальный анализ и интерпретация колебательных ИК и КР спектров БСА позволили выявить и подробно рассмотреть одну из основных причин, позволяющую использовать колебания Амид I, Амид II и Амид III для определения конформационных изменений БСА, – это образование различных ММВ и их разрыв, например, в результате каких-либо внешних воздействий.

Выполненная интерпретация колебательных спектров цвиттер-ионных форм 20 стандартных аминокислот в различных спектральных интервалах позволяет использовать её не только для определения конформационных изменений белков, но и диагностики взаимодействия с другими молекулярными соединениями, приводящими, например, к образованию комплексов.

### Список литературы

1. Machida K., Izumi M., Kagayama A. Vibrational spectra and intermolecular potential of DL-serine crystal // Spectrochim. Acta. 1979. Vol. 35A. P. 1333–1339. DOI: 10.1016/0584-8539(79)80087
2. Иванов А. А., Королик Е. В., Инсарова Н. И., Жбанков Р. Г., Голубович В. П. Низкотемпературные колебательные спектры и молекулярная структура L-аланина // Журн. прикл. спектр. 1990. Т. 53, № 2. С. 265–270. DOI: 10.1007/BF00659399
3. Иванов А. А., Королик Е. В., Инсарова Н. И., Ильич Г. К. Применение низкотемпературной ИК спектроскопии к анализу молекулярной структуры глицина // Журн. прикл. спектр. 1991. Т. 54, № 3. С. 464–468. DOI: 10.1007/BF00673431
4. Grenie Y., Lassegues J.-C., Garrigou-Lagrange C. Infra-red spectrum of matrix-isolated glycine // J. Chem. Phys. 1970. Vol. 53. P. 2980–2982. DOI: 10.1063/1.1674426-2
5. Lu W., Liu H. Correlations between Amino Acids at Different Sites in Local Sequences of Protein Fragments with Given Structural Patterns // Chinese J. Chem. Phys. 2007. Vol. 20, № 1. P. 71–77. DOI: 10.1360/cjcp2007.20(1).71.7
6. Kakihana M., Akiyama M., Nagumo T., Okamoto M. An empirical potential function of  $\alpha$ -glycine derived from infrared spectroscopic data of D-,  $^{13}\text{C}$ -,  $^{15}\text{N}$ -, and  $^{18}\text{O}$ -labeled species // Z. Naturforsch. 1988. Bd. 43a. S. 774–792. DOI: 10.1515/zna-1988-8-911
7. Nobrega G. F., Sambrano J. R., de Souza A. R., Queralt J. J., Longo E. DFT study of  $\alpha$ -alanine as a function of the medium polarity // J. Mol. Struct. 2001. Vol. 544. P. 151–157. DOI: 10.1016/S0166-1280(01)00374-8
8. Gomez-Zavaglia A., Fausto R. Low-temperature solid-state FTIR study of glycine, sarcosine and N,N-dimethylglycine observation of neutral forms of simple  $\alpha$ -amino acids in the solid state // Phys. Chem. Chem. Phys. 2003. Vol. 5. P. 3154–3161. DOI: 10.1039/B304888H
9. Nagy P. I., Noszal B. Theoretical study of the tautomeric conformational equilibrium of aspartic acid zwitterions in aqueous solution // J. Phys. Chem. A. 2000. Vol. 104. P. 6834–6843. DOI: 10.4172/2167-0501.S4-001
10. Rai A. K., Song C., Lin Z. An exploration of conformational search of leucine molecule and their vibrational spectra in gas phase using ab initio methods // Spectrochim. Acta A. 2009. Vol. 73. P. 865–870. DOI: 10.1016/j.saa.2009.04.023
11. Cocinero E. J., Lesarri A., Grabow J.-U., Lopez J. C., Alonso J. L. The Shape of Leucine in the Gas Phase // Chem. Phys. Chem. 2007. Vol. 8. P. 599–604. DOI: 10.1002/cphc.200600730
12. Mohamed M. Ali J., Umadevi M., Ramakrishnan V. Vibrational spectral studies of ( $\beta$ -alanine) $\beta$ -alaninium nitrate // J. Raman Spectr. 2004. Vol. 35. P. 956 – 960. DOI: 10.1002/jrs.1240
13. Cao X., Fischer G. Infrared spectra of monomeric L-alanine and L-alanine- $\text{N-d}_3$  zwitterions isolated in a KBr matrix // J. Chem. Phys. 2000. Vol. 255. P. 195–204. DOI: 10.1016/S0301-0104(00)00082-3
14. Silva J. G., Arruda L. M., Pinheiro G. S., Lima C. L., Melo F. E. A., Ayala A. P., Filho J. Mendes, Freire P. T. C. The temperature-dependent single-crystal Raman spectroscopy of a model dipeptide : L-Alanyl-L-alanine // Spectrochim. Acta. Part A : Mol. Biomol. Spectr. 2015. Vol. 148. P. 244–249. DOI: 10.1016/j.saa.2015.04.010
15. Lima J. A., Freire P. T. C., Melo F. E. A., Mendes Filho J., Fischerb J., Havenithc Remco W. A., Broerc R., Bordallod Heloisa N. Using Raman spectroscopy to understand the origin of the phase transition observed in the crystalline sulfur based amino acid l-methionine // Vib. Spectr. 2013. Vol. 65. P. 132–141. DOI: 10.1016/j.vibspec.2012.12.004



16. Pearson J. F., Slifkin M. A. The infrared spectra of amino acids and dipeptides // *Spectrochim. Acta*. 1972. Vol. 28A. P. 2403–2417. DOI: 10.1016/0584-8539(72)80220-4
17. Parker F. S. Application of infrared spectroscopy in biochemistry, biology and medicine. New York : Plenum Press, 1971. 483 p.
18. Кеппу П. Применение спектроскопии КР и РКР в биохимии. М. : Мир, 1985. 272 с.
19. Barth A. The infrared absorption of amino acid side chains // *Progress in Biophysics & Molecular Biology*. 2000. Vol. 74. P. 141–173. DOI: 10.1016/S0079-6107(00)00021-3
20. Freire P. T. C. Pressure-Induced Phase Transitions in Crystalline Amino Acids // *High-Pressure Crystallography – from Fundamental Phenomena to Technological Applications* / eds. E. Boldyreva, P. Dera. New York : Springer, 2010. P. 559–572.
21. Wolpert M., Hellwig P. Infrared spectra and molar absorption coefficients of the 20 alpha amino acids in aqueous solutions in the spectral range from 1800 to 500 cm<sup>-1</sup> // *Spectrochim. Acta. Part A*. 2006. Vol. 64. P. 987–1001. DOI: 10.1016/j.saa.2005.08.025
22. Shurvell H. F., Bergin F. J. Raman Spectra of L(+)-Glutamic Acid and Related Compounds // *J. Raman Spectr.* 1989. Vol. 20. P. 163–168. DOI: 10.1002/jrs.1250200307
23. Castro J. L., Montañez M. A., Otero J. C., Marcos J. I. SERS and Vibrational Spectra of Aspartic Acid // *J. Mol. Struct.* 1995. Vol. 349. P. 113–116. DOI: 10.1016/0022-2860(95)08722-8
24. Hernández B., Pflüger F., Derbel N., Coninck J., Ghomi M. Vibrational Analysis of Amino Acids and Short Peptides in Hydrated Media. VI. Amino Acids with Positively Charged Side Chains : L-Lysine and L-Arginine // *J. Phys. Chem. B*. 2010. Vol. 114. P. 1077–1088. DOI: 10.1021/jp909517r
25. Тен Г. Н., Глухова О. Е., Слепченко М. М., Щербакова Н. Е., Баранов В. И. Моделирование колебательных спектров L-триптофана в конденсированных состояниях // *Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Физика*. 2017. Т. 17, вып. 1. С. 20–32. DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-1-20-32
26. Тен Г. Н., Щербакова Н. Е., Баранов В. И. Теоретический анализ структуры и колебательных спектров аспарагиновой и глутаминовой аминокислот в воде при разных pH // *Естественные науки*. 2017. Т. 60, № 3. С. 94–107.
27. Тен Г. Н., Щербакова Н. Е., Баранов В. И. Моделирование структуры и колебательных спектров основных аминокислот лизина и аргинина в водном растворе // *Естественные науки*. 2017. Т. 60, № 3. С. 85–94.
28. Kint S., Tomimatsu Y. A Raman difference spectroscopic investigation of ovalbumin and S-ovalbumin // *Biopolymers*. 1979. Vol. 18. P. 1073–1079. DOI: 10.1002/bip.1979.360180505
29. Lin V. C., Koenig J. L. Raman studies of bovine serum albumin // *Biopolymers*. 1976. Vol. 15. P. 203–218. DOI: 10.1002/bip.1976.360150114
30. Chen M. C., Lord R. C. Laser-excited Raman spectroscopy of biomolecules. VIII. Conformational study of bovine serum albumin // *J. Am. Chem. Soc.* 1976. Vol. 98. P. 990–992. DOI: 10.1021/ja00420a021
31. Yu N.-T. Comparison of protein structure in crystals, in lyophilized state, and in solution by laser Raman scattering alpha.-Lactalbumin // *J. Am. Chem. Soc.* 1974. Vol. 96. P. 4664–4668. DOI: 10.1021/ja00821a049
32. Bellocq A. M., Lord R. C., Mendelsohn R. Laser-excited Raman Spectroscopy of biomolecules III. Native bovine serum albumin and beta-lactoglobulin // *Biochim. Biophys. Acta*. 1972. Vol. 257. P. 280–287. DOI: 10.1016/0005-2795(72)90280-2
33. Painter P. C., Koenig J. L. Raman spectroscopic study of the proteins of egg white // *Biopolymers*. 1976. Vol. 15. P. 2155–2162. DOI: 10.1002/bip.1976.360151105
34. Nakamura K., Era S., Osaki Y., Sogami M., Hayashi T., Murakami M. Conformational Changes in Seventeen Cystin-edisulfide Bridges of Bovine Serum Albumin Proved by Raman Spectroscopy // *PERS Letters*. 1997. Vol. 417. P. 375–383. DOI: 10.1016/S0014-5793(97)01326-4
35. Bolton B. A., Sherer J. R. Raman Spectra and Water Absorption of Bovine Serum Albumin // *J. Phys. Chem.* 1989. Vol. 93. P. 7635–7640. DOI: 10.1021/j100359a021
36. Fazio B., Andrea C. D., Foti A., Messina E., Irrera A., Donato M. G., Villari V., Micali N., Maragò O. M., Gucciardi P. G. SERS detection of Biomolecules at Physiological pH via aggregation of Gold Nanorods mediated by Optical Forces and Plasmonic Heating // *Scientific Reports*. 2016. Vol. 6. P. 26952. DOI: 10.1038/srep26952
37. Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., Scuseria G. E., Robb M. A., Cheeseman J. R., Scalmani G., Barone V., Mennucci B., Petersson G. A., Nakatsuji H., Caricato M., Li X., Hratchian H. P., Izmaylov A. F., Bloino J., Zheng G., Sonnenberg J. L., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Vreven T., Montgomery J. A., Jr., Peralta J. E., Ogliaro F., Bearpark M., Heyd J. J., Brothers E., Kudin K. N., Staroverov V. N., Kobayashi R., Normand J., Raghavachari K., Rendell A., Burant J. C., Iyengar S. S., Tomasi J., Cossi M., Rega N., Millam J. M., Klene M., Knox J. E., Cross J. B., Bakken V., Adamo C., Jaramillo J., Gomperts R., Stratmann R. E., Yazyev O., Austin A. J., Cammi R., Pomelli C., Ochterski J. W., Martin R. L., Morokuma K., Zakrzewski V. G., Voth G. A., Salvador P., Dannenberg J. J., Dapprich S., Daniels A. D., Farkas O., Foresman J. B., Ortiz J. V., Cioslowski J., Fox D. J. Gaussian 09. Gaussian Inc., Wallingford CT, 2009. 394 p.
38. Derbel N., Hernández B., Pflüger F., Liquier J., Geinguenaud F., Jaidane N., Lakhdar Y. B., Ghomi M. Vibrational analysis of amino acids and short peptides in hydrated media. I. L-glycine and L-leucine // *J. Phys. Chem. B*. 2007. Vol. 111. P. 1470–1477. DOI: 10.1021/jp0633953



39. Chernobay G. B., Chesalov Y. A., Boldyreva E. V. Temperature effects on the IR spectra of crystalline amino acids, dipeptides, and polyamino acids. V.L-serylglycine // J. Struct. Chem. 2008. Vol. 49. P. 1012–1021.
40. Vinogradov S. N. Hydrogen bonds in crystal structures of amino acids, peptides and related molecules // Int. J. Peptide Prot. Res. 1979. Vol. 14, № 4. P. 281–289. DOI: 10.1111/j.1399-3011.1979.tb01934.x
41. Peitpas I., Bhattacharya A. A., Twine S., East M., Curry S. Crystal structure analysis of warfarin binding to human serum albumin : anatomy of drug site I // J. Biol. Chem. 2001. Vol. 276, № 25. P. 22804–22809. DOI: 10.1074/jbc.M100575200

#### Образец для цитирования:

Тен Г. Н., Герасименко А. Ю., Щербаклова Н. Е., Баранов В. И. Интерпретация ИК и КР спектров альбумина // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Физика. 2019. Т. 19, вып. 1. С. 43–57. DOI: <https://doi.org/10.18500/1817-3020-2019-19-1-43-57>

#### Interpretation of IR and Raman Spectra of Albumin

G. N. Ten, A. Yu. Gerasimenko,  
N. E. Shcherbakova, V. I. Baranov

Galina N. Ten, <https://orcid.org/0000-0001-5037-4105>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, TenGN@yandex.ru

Aleksandr Yu. Gerasimenko, <https://orcid.org/0000-0001-6514-2411>, National Research University of Electronic Technology, 1 Shokin Sqr., Moscow, Zelenograd 124498, Russia, gerasimenko@bms.zone

Natalia E. Scherbakova, <https://orcid.org/0000-0003-3261-6128>, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46 Universitetskaya Str., Saratov 410005, Russia, hainl@yandex.ru

Viktor I. Baranov, <https://orcid.org/0000-0002-2435-9208>, V. I. Vernadsky Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry of the Russian Academy of Sciences, 19 Kosygina Str., Moscow 119991, Russia, baranov\_50@mail.ru

**Object and purpose of work:** The subject of the study is bovine serum albumin (BSA). The aim of the work is to give an interpretation of the vibrational spectra of BSA aqueous solution in the region of  $\sim 1700\text{--}600\text{ cm}^{-1}$ . **Methods:** In this regard the experimental measurement of the IR and Raman spectra of BSA and the calculation of vibrational spectra of zwitterionic ion forms 20 amino acids and their dipeptides were carried out. The effect of anharmonicity and intermolecular interaction (IMI) on the vibrational spectra of amino acids was considered. **Results:** It has been shown that the forms of vibrations of the amino acid side residues forming a polypeptide do not mix with the forms of vibrations of the amide fragment (Amide I, Amide II and Amide III), which allows them to be used for the interpretation of the vibrational IR and Raman spectra of BSA. The comparison of the experimental and calculated spectra of BSA has shown that each of the experimental absorption bands of albumin is a superposition of several absorption bands of amino acids side residues, and the influence of IMI between amino acid residues and water molecules leads to a shift of the maximum and the change in the intensity of absorption bands, corresponding to the vibrations of the Amide I, Amide II and Amide III. The calculated energies and vibration frequencies of the bonds involved in the formation of different types of IMI vary within a fairly wide range. If during the formation of a hydrogen bond between the two di-peptides of glycyl-glycine decrease in the frequency of the valence bond vibrational C=O and increase in the

intensity of both the absorption band and the Raman line is observed, then for the valence and deformation vibrational of the polar groups of COO<sup>-</sup> and N+H<sub>3</sub> in case of ion-ion and ion-dipole IMI frequency shift is registered, which is  $5\text{--}80\text{ cm}^{-1}$ , and the intensity varies – by  $\sim 3\text{--}10$  times. It has been shown that the overlap of the absorption bands of amino acid residues with the absorption band of Amide I makes it very sensitive to structural changes, including the manifestation of IMI, whereby the shift in the frequency and intensity of the absorption band of Amide I allows to determine the conformational changes of the protein. Analysis of the intensities of IR and Raman amino acid residues in the region of  $\sim 1540\text{ cm}^{-1}$  has shown that IMI leads to a more significant change in the intensity of the absorption band of Amide II in the IR spectrum as compared to the Raman spectrum. In the area of the Amide III vibrations deformation  $\delta(\text{HE})$  and  $\delta(\text{NH})$  vibrations of the side chains of several amino acids involved in the formation of IMI are manifested, resulting in the shift of the values of corresponding frequency of deformation vibrations in the Amide III. In the experimental IR spectrum of BSA in the region of  $\sim 660\text{ cm}^{-1}$ , a wide absorption band of medium intensity is manifested. According to the performed calculation, deformation vibrations of the  $\gamma(\text{OCO}^-)$  angle of amino acid residues Glu and Asp are manifested in this spectral range, whose participation in the IMI with other amino acid residues and water molecules leads to the shift in the vibration frequency of this deformation vibration and broadening of the corresponding absorption band. **Conclusion:** Thus, a detailed analysis and interpretation of the vibrational IR and Raman spectra of BSA have enabled one to identify and consider in detail one of the main reasons leading to the frequency shift and change in the intensity of Amide I, Amide II and Amide III, which is the formation of various IMI between amino acids and amino acids and solvent molecules. The interpretation of the vibrational spectra of the zwitterionic forms of 20 standard amino acids in different spectral ranges allows to use it not only to determine the conformational changes of proteins, but also to diagnose the interaction with other molecular compounds, leading, for example, to the formation of complexes.

**Keywords:** bovine serum albumin, interpretation, IR and Raman spectra of 20 basic amino acids, dipeptides, anharmonic approximation, intermolecular interaction.

#### References

1. Machida K., Izumi M., Kagayama A. Vibrational spectra and intermolecular potential of DL-serine crystal. *Spectrochim. Acta*, 1979, vol. 35A, pp. 1333–1339. DOI: 10.1016/0584-8539(79)80087



2. Ivanov A. A., Korolik E. V., Insarova N. I., Zhanikov R. G., Golubovich V. P. Low-temperature vibrational spectra and molecular structure of l-alanine. *J. Appl. Spectr.*, 1990, vol. 53, no. 2, pp. 265–270. DOI: 10.1007/BF00659399
3. Ivanov A. A., Korolik E. V., Insarova N. I., Il'ich G. K. Application of low-temperature ir spectroscopy to the analysis of the molecular structure of glycine. *J. Appl. Spectr.*, 1991, vol. 54, no. 3, pp. 464–468. DOI: 10.1007/BF00673431
4. Grenie Y., Lassegues J.-C., Garrigou-Lagrange C. Infrared spectrum of matrix-isolated glycine. *J. Chem. Phys.*, 1970, vol. 53, pp. 2980–2982. DOI: 10.1063/1.1674426-2
5. Lu W., Liu H. Correlations between Amino Acids at Different Sites in Local Sequences of Protein Fragments with Given Structural Patterns. *Chinese J. Chem. Phys.*, 2007, vol. 20, no. 1, pp. 71–77. DOI: 10.1360/cjcp2007.20(1).71.7
6. Kakihana M., Akiyama M., Nagumo T., Okamoto M. An empirical potential function of  $\alpha$ -glycine derived from infrared spectroscopic data of D-, <sup>13</sup>C-, <sup>15</sup>N-, and <sup>18</sup>O-labeled species. *Z. Naturforsch.*, 1988, vol. 43a, pp. 774–792. DOI: 10.1515/zna-1988-8-911
7. Nobrega G. F., Sambrano J. R., de Souza A. R., Queralt J. J., Longo E. DFT study of  $\alpha$ -alanine as a function of the medium polarity. *J. Mol. Struct.*, 2001, vol. 544, pp. 151–157. DOI: 10.1016/S0166-1280(01)00374-8
8. Gomez-Zavaglia A., Fausto R. Low-temperature solid-state FTIR study of glycine, sarcosine and N,N-dimethylglycine observation of neutral forms of simple  $\alpha$ -amino acids in the solid state. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2003, vol. 5, pp. 3154–3161. DOI: 10.1039/B304888H
9. Nagy P. I., Noszal B. Theoretical study of the tautomeric conformational equilibrium of aspartic acid zwitterions in aqueous solution. *J. Phys. Chem. A.*, 2000, vol. 104, pp. 6834–6843. DOI: 10.4172/2167-0501.S4-001
10. Rai A. K., Song C., Lin Z. An exploration of conformational search of leucine molecule and their vibrational spectra in gas phase using ab initio methods. *Spectrochim. Acta A*, 2009, vol. 73, pp. 865–870. DOI: 10.1016/j.saa.2009.04.023
11. Cocinero E. J., Lesarri A., Grabow J.-U., Lopez J. C., Alonso J. L. The Shape of Leucine in the Gas Phase. *Chem. Phys. Chem.*, 2007, vol. 8, pp. 599–604. DOI: 10.1002/cphc.200600730
12. Mohamed M. Ali J., Umadevi M., Ramakrishnan V. Vibrational spectral studies of ( $\beta$ -alanine) $\beta$ -alaninium nitrate. *J. Raman Spectr.*, 2004, vol. 35, pp. 956–960. DOI: 10.1002/jrs.1240
13. Cao X., Fischer G. Infrared spectra of monomeric L-alanine and L-alanine-N-d<sub>3</sub> zwitterions isolated in a KBr matrix. *J. Chem. Phys.*, 2000, vol. 255, pp. 195–204. DOI: 10.1016/S0301-0104(00)00082-3
14. Silva J. G., Arruda L. M., Pinheiro G. S., Lima C. L., Melo F. E. A., Ayala A. P., Filho J. Mendes, Freire P. T. C. The temperature-dependent single-crystal Raman spectroscopy of a model dipeptide: L-Alanyl-L-alanine. *Spectrochim. Acta. Part A: Mol. Biomol. Spectr.*, 2015, vol. 148, pp. 244–249. DOI: 10.1016/j.saa.2015.04.010
15. Lima J. A., Freire P. T. C., Melo F. E. A., Mendes Filho J., Fischer J., Havenithc Remco W. A., Broerc R., Bordallo Heloisa N. Using Raman spectroscopy to understand the origin of the phase transition observed in the crystalline sulfur based amino acid l-methionine. *Vibr. Spectr.*, 2013, vol. 65, pp. 132–141. DOI: 10.1016/j.vibspec.2012.12.004
16. Pearson J. F., Slifkin M. A. The infrared spectra of amino acids and dipeptides. *Spectrochim. Acta*, 1972, vol. 28A, pp. 2403–2417. DOI: 10.1016/0584-8539(72)80220-4
17. Parker F. S. *Application of infrared spectroscopy in biochemistry, biology and medicine*. New York, Plenum Press, 1971. 483 p.
18. Kerri P. *Primenenie spektroskopii KR i RKR v biohimii* [Application of Raman spectroscopy AND RKR in biochemistry]. Moscow, Mir Publ., 1985. 272 c.
19. Barth A. The infrared absorption of amino acid side chains. *Progress in Biophysics & Molecular Biology*, 2000, vol. 74, pp. 141–173. DOI: 10.1016/S0079-6107(00)00021-3
20. Freire P. T. C. Pressure-Induced Phase Transitions in Crystalline Amino Acids. *High-Pressure Crystallography – from Fundamental Phenomena to Technological Applications*. Eds. E. Boldyreva, P. Dera. New York, Springer, 2010, pp. 559–572.
21. Wolpert M., Hellwig P. Infrared spectra and molar absorption coefficients of the 20 alpha amino acids in aqueous solutions in the spectral range from 1800 to 500 cm<sup>-1</sup>. *Spectrochim. Acta, Part A: Mol. Biomol. Spectr.*, 2006, vol. 64, pp. 987–1001. DOI: 10.1016/j.saa.2005.08.025
22. Shurvell H. F., Bergin F. J. Raman Spectra of L(+)-Glutamic Acid and Related Compounds. *J. Raman Spectr.*, 1989, vol. 20, pp. 163–168. DOI: 10.1002/jrs.1250200307
23. Castro J. L., Montañez M. A., Otero J. C., Marcos J. I. SERS and Vibrational Spectra of Aspartic Acid. *J. Mol. Struct.*, 1995, vol. 349, pp. 113–116. DOI: 10.1016/0022-2860(95)08722-8
24. Hernández B., Pflüger F., Derbel N., Coninck J., Ghomi M. Vibrational Analysis of Amino Acids and Short Peptides in Hydrated Media. VI. Amino Acids with Positively Charged Side Chains: L-Lysine and L-Arginine. *J. Phys. Chem. B.*, 2010, vol. 114, pp. 1077–1088. DOI: 10.1021/jp909517r
25. Ten G. N., Gluhova O. E., Slepchenkov M. M., Shcherbakova N. E., Baranov V. I. Modeling of vibrational spectra of l-tryptophan in condensed States. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Physics*, 2017, vol. 17, iss. 1, pp. 20–32 (in Russian). DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-1-20-32
26. Ten G. N., Scherbakova N. E., Baranov V. I. Teoreticheskij analiz struktury i kolebatel'nyh spektrov asparaginoj i glutaminovoj aminokislot v vode pri raznyh rN [Theoretical analysis of the structure and vibrational spectra of aspartic and glutamic amino acids in water at different pH]. *Natural Science*, 2017, vol. 60, no. 3, pp. 94–107 (in Russian).
27. Ten G. N., Shcherbakova N. E., Baranov V. I. Modelirovanie struktury i kolebatel'nyh spektrov osnovnyh aminokislot lizina i arginina v vodnom rastvore [Modeling of



- the structure and vibrational spectra of the major amino acids of lysine and arginine in aqueous solution]. *Natural Science*, 2017, vol. 60, no. 3, pp. 85–94 (in Russian).
28. Kint S., Tomimatsu Y. A Raman difference spectroscopic investigation of ovalbumin and S-ovalbumin. *Biopolimers*, 1979, vol. 18, pp. 1073–1079. DOI: 10.1002/bip.1979.360180505
29. Lin V. C., Koenig J. L. Raman studies of bovine serum albumin. *Biopolimers*, 1976, vol. 15, pp. 203–218. DOI: 10.1002/bip.1976.360150114
30. Chen M. C., Lord R. C. Laser-excited Raman spectroscopy of biomolecules. VIII. Conformational study of bovine serum albumin. *J. Am. Chem. Soc.*, 1976, vol. 98, pp. 990–992. DOI: 10.1021/ja00420a021
31. Yu N.-T. Comparison of protein structure in crystals, in lyophilized state, and in solution by laser Raman scattering alpha.-Lactalbumin. *J. Am. Chem. Soc.*, 1974, vol. 96, pp. 4664–4668. DOI: 10.1021/ja00821a049
32. Bellocq A. M., Lord R. C., Mendelsohn R. Laser-excited Raman Spectroscopy of biomolecules III. Native bovine serum albumin and beta-lactoglobulin. *Biochim. Biophys. Acta*, 1972, vol. 257, pp. 280–287. DOI: 10.1016/0005-2795(72)90280-2
33. Painter P. C., Koenig J. L. Raman spectroscopic study of the proteins of egg white. *Biopolymers*, 1976, vol. 15, pp. 2155–2162. DOI: 10.1002/bip.1976.360151105
34. Nakamura K., Era S., Osaki Y., Sogami M., Hayashi T., Murakami M. Conformational Changes in Seventeen Cystinedisulfide Bridges of Bovine Serum Albumin Proved by Raman Spectroscopy. *PERS Letters*, 1997, vol. 417, pp. 375–383. DOI: 10.1016/S0014-5793(97)01326-4
35. Bolton B. A., Sherer J. R. Raman Spectra and Water Absorption of Bovine Serum Albumin. *J. Phys. Chem.*, 1989, vol. 93, pp. 7635–7640. DOI: 10.1021/j100359a021.
36. Fazio B., Andrea C. D., Foti A., Messina E., Irrera A., Donato M. G., Villari V., Micali N., Maragò O. M., Gucciardi P. G. SERS detection of Biomolecules at Physiological pH via aggregation of Gold Nanorods mediated by Optical Forces and Plasmonic Heating. *Scientific Reports*, 2016, vol. 6, pp. 26952. DOI: 10.1038/srep26952
37. Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., Scuseria G. E., Robb M. A., Cheeseman J. R., Scalmani G., Barone V., Mennucci B., Petersson G. A., Nakatsuji H., Caricato M., Li X., Hratchian H. P., Izmaylov A. F., Bloino J., Zheng G., Sonnenberg J. L., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Vreven T., Montgomery J. A., Jr., Peralta J. E., Ogliaro F., Bearpark M., Heyd J. J., Brothers E., Kudin K. N., Staroverov V. N., Kobayashi R., Normand J., Raghavachari K., Rendell A., Burant J. C., Iyengar S. S., Tomasi J., Cossi M., Rega N., Millam J. M., Klene M., Knox J. E., Cross J. B., Bakken V., Adamo C., Jaramillo J., Gomperts R., Stratmann R. E., Yazyev O., Austin A. J., Cammi R., Pomelli C., Ochterski J. W., Martin R. L., Morokuma K., Zakrzewski V. G., Voth G. A., Salvador P., Dannenberg J. J., Dapprich S., Daniels A. D., Farkas O., Foresman J. B., Ortiz J. V., Cioslowski J., Fox D. J. *Gaussian 09*. Gaussian Inc., Wallingford CT, 2009. 394 p.
38. Derbel N., Hernández B., Pflüger F., Liquier J., Geinguenaud F., Jaidane N., Lakhdar Y. B., Ghomi M. Vibrational analysis of amino acids and short peptides in hydrated media. I. L-glycine and L-leucine. *J. Phys. Chem. B.*, 2007, vol. 111, pp. 1470–1477. DOI: 10.1021/jp0633953
39. Chernobay G. B., Chesalov Y. A., Boldyreva E. V. Temperature effects on the IR spectra of crystalline amino acids, dipeptides, and polyamino acids. V. L-serylglycine. *J. Struct. Chem.*, 2008, vol. 49, pp. 1012–1021.
40. Vinogradov S. N. Hydrogen bonds in crystal structures of amino acids, peptides and related molecules. *Int. J. Peptide Prot. Res.*, 1979, vol. 14, no. 4, pp. 281–289. DOI: 10.1111/j.1399-3011.1979.tb01934.x
41. Petitpas I., Bhattacharya A. A., Twine S., East M., Curry S. Crystal structure analysis of warfarin binding to human serum albumin: anatomy of drug site I. *J. Biol. Chem.*, 2001, vol. 276, no. 25, pp. 22804–22809. DOI: 10.1074/jbc.M100575200

**Cite this article as:**

Ten G. N., Gerasimenko A. Yu., Shcherbakova N. E., Baranov V. I. Interpretation of IR and Raman Spectra of Albumin. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Physics*, 2019, vol. 19, iss. 1, pp. 43–57 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1817-3020-2019-19-1-43-57>