

ՀՀ ԳԱԱ Ա.Բ. ՆԱԼԲԱՆԴՅԱՆԻ ԱՆՎԱՆ ՔԻՄԻԱԿԱՆ ՖԻԶԻԿԱՅԻ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ

**ԼԵՎՈՆ ՍՈՒՐԵՆԻ ՍԱՐԳՍՅԱՆ**

**ԳԱԼԱԹԹՎԻ ՈՒ ԴԱԲԱՂԱԹԹՎԻ ՀԵՏ ՄԻՈԳԼՈՔԻՆԻ ԵՎ ՀԵՄՈԳԼՈՔԻՆԻ  
ՓՈՆԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՖԻԶԻԿԱՔԻՄԻԱԿԱՆ ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ**

Բ.00.04 – “Ֆիզիկական քիմիա” մասնագիտությամբ քիմիական գիտությունների թեկնածուի  
գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

**ՄԵՂՍԱԳԻՐ**

Երևան– 2016

---

ИНСТИТУТ ХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ  
им. А.Б. НАЛБАНДЯНА НАН РА

**ՏԱՐԳՅԱՆ ԼԵՎՈՆ ՏՐԵՆՈՎԻՉ**

**ФИЗИКОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ГАЛЛОВОЙ И  
ДУБИЛЬНОЙ КИСЛОТ С МИОГЛОБИНОМ И ГЕМОГЛОБИНОМ**

**ԱՎՏՈՐԵՓԵՐԱՏ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук по специальности  
02.00.04–“Физическая химия”

Երևան – 2016

Ատենախոսության թեման հաստատվել է Երևանի պետական համալսարանում:

Գիտական ղեկավար՝	քիմ. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր Վ. Ռ. Գրիգորյան
Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝	քիմ. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր Հ. Գ. Խաչատրյան քիմ. գիտ. թեկնածու Լ. Ա. Մանուչարովա
Առաջատար կազմակերպություն՝	Հայաստանի ազգային պոլիտեխնիկական համալսարան

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2016 թ. հունիսի 3 – ին ժամը 15<sup>00</sup> – ին ՀՀ ԳԱԱ Ա.Բ. Նալբանդյանի անվան Քիմիական ֆիզիկայի ինստիտուտում գործող ՀՀ ԲՈՀ – ի 017 << Ֆիզիկական և անօրգանական քիմիա>> մասնագիտական խորհրդում (0014, Երևան, Պ. Սևակի փող., 5/2):

Ատեղնախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ Ա.Բ. Նալբանդյանի անվան Քիմիական ֆիզիկայի ինստիտուտի գրադարանում:

Սեղմագիրն առաքված է 2016թ. մայիսի 3 – ին:

Մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար,  
քիմիական գիտությունների թեկնածու

Հ.Գ. Հակոբյան

---

Тема диссертации утверждена в Ереванском государственном университете.

Научный руководитель: доктор хим. наук, профессор  
К.Р. Григорян

Официальные оппоненты: доктор хим. наук, профессор  
А.Г. Хачатрян  
кандидат хим. наук  
Л.А. Манучарова

Ведущая организация: Армянский национальный политехнический университет

Защита диссертации состоится “3” июня 2016 г. В 15<sup>00</sup> часов на заседании специализированного совета 017 ВАК РА “Физическая и неорганическая химия”, действующего при Институте химической физики им А.Б. Налбандяна НАН РА (0014, Ереван, ул. П. Севака, 5/2)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института химической физики НАН РА.

Автореферат разослан “3” мая 2016 г.

Ученый секретарь специализированного совета,  
кандидат химических наук

А.Г. Акопян

## ԱՇԽԱՏԱՆՔԻ ԸՆԴՀԱՆՈՒՐ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ

**Թեմայի արդիականությունը:** Ժամանակակից ֆիզիկական քիմիայի անփոխարինելի դերը կենսաբանական մոլեկուլների՝ սպիտակուցների, ԴՆԹ - ի, լիպիդների տարբեր լիզանդների հետ միաժամանակյա փոխազդեցությունների, կայունության և կառուցվածքային փոփոխությունների ուսումնասիրությունն է:

Բժշկության, ինչպես նաև թեթև արդյունաբերության տարբեր բնագավառներում նախընտրում են օգտագործել բնական ծագում ունեցող նյութեր, որոնց շարքին են դասվում տանինները: Այս դասի նյութերը օժտված են կենսաբանական մեծ ակտիվությամբ՝ ունեն հակաբակտերիային, հակասնկային, հակաօքսիդանտային հատկություններ, ինչպես նաև հանդիսանում են հակաթույն տարբեր աղերով թունավորումների դեպքում:

Տանինների տեղափոխումը կենդանի օրգանիզմներում կարող է իրականանալ փոխադրող սպիտակուցների հետ կապման միջոցով, որոնցից են հեմոգլոբինը (Հբ), միոգլոբինը (Մբ), հեմոցիանինը (Հց): Օրինակ, Հբ-ը և Մբ-ը հիմնականում տեղափոխում են թթվածին և ածխաթթու գազ, շիճուկային ալբումինները՝ էնդոգեն ու էկզոգեն միացություններ: Այս սպիտակուցները իրենց հիմնական ֆունկցիան իրականացնելիս կարող են կատարել այլ գործընթացներ նույնպես, որոնք կարող են ինչպես նպաստել, այնպես էլ խոչընդոտել հիմնական ֆունկցիային:

Մեր կողմից ուսումնասիրվել է տանինների շարքին դասվող գալաթթվի (ԳԹ) ջրային լուծույթների կառուցվածքային առանձնահատկությունները, ԳԹ – ի և ԴԹ – ի հետ Հբ – ի ու Մբ – ի փոխազդեցությունները, առաջացած կոմպլեքսների թերմոդինամիկական և կառուցվածքային բնութագրերը: Ուսումնասիրվել է նաև Հբ - ի ջերմային և քիմիական կայունությունը ԴԹ - ի առկայությամբ:

**Աշխատանքի նպատակը:** Աշխատանքի նպատակն է պարզել հեմոգլոբինի և միոգլոբինի հետ գալաթթվի ու դաբադաթթվի փոխազդեցությունների ֆիզիկաքիմիական առանձնահատկությունները, որոնք հնարավորություն կտան գնահատել ԴԹ - ի և ԳԹ – ի կապման ազդեցությունը այդ սպիտակուցների հիմնական ֆունկցիայի և կայունության վրա:

### **Ելնելով նշված նպատակից, մեր կողմից դրվել են հետևյալ խնդիրները:**

- որոշել ԳԹ-ի ջրային լուծույթների ֆիզիկաքիմիական առանձնահատկությունները;
- որոշել Մբ-ի հետ ԳԹ-ի և ԴԹ-ի կապման ֆիզիկաքիմիական և թերմոդինամիկական բնութագրերը 298.15 - 309.75 Կ ջերմաստիճանային տիրույթում;
- որոշել Հբ-ի հետ ԳԹ-ի և ԴԹ-ի կապման ֆիզիկաքիմիական և թերմոդինամիկական բնութագրերը 298.15 - 309.75 Կ ջերմաստիճանային տիրույթում;
- պարզել Հբ – ԴԹ, Մբ - ԴԹ կոմպլեքսների առաջացման մեխանիզմը և այդ կոմպլեքսների կառուցվածքային բնութագրերը;

- ուսումնասիրել պոլիֆենոլների կապման ազդեցությունը սպիտակուցների ընդհանուր և հեմի կառուցվածքի վրա;
- ուսումնասիրել Հբ-ի ԴԹ-ի հետ առաջացրած կոմպլեքսների ջերմային կայնությունը 303.15 - 343.15 Կ ջերմաստիճանային տիրույթում:

**Գիտական նորություն:** Այս աշխատանքի գիտական նորությունը կայանում է նրանում, որ առաջին անգամ ուսումնասիրվել է Հբ – ԴԹ, Մբ – ԴԹ, Հբ – ԳԹ, Մբ – ԳԹ փոխազդեցությունների առանձնահատկությունները, առաջացած կոմպլեքսների կայունությունը ու ֆիզիկաքիմիական բնութագրերը էլեկտրոնային կլանման և ֆլուորեսցենտային սպեկտրաչափական մեթոդների օգնությամբ: Օգտագործելով խտաչափության մեթոդը՝ պարզվել է սպիտակուցի մակերևույթին տեղակայված ամինոթթվային մնացորդների տարածական դասավորվածության ազդեցությունը Հբ – ի ծավալային հատկությունների և ռեակցիոնունակության վրա: Ֆլուորեսցենտային սպեկտրաչափական մեթոդի և տեսական քվանտաքիմիական հաշվարկների (կապերի երկարությունների, վալենտային և երկնիստ անկյունների, ինչպես նաև փոխազդեցության և ընդհանուր էներգիայի) օգնությամբ դիտարկվել է ԳԹ-ի մոնոմեր և դիմեր ձևերի առկայությունը լուծույթներում: Իրականացվել են նաև Հբ – ի ջերմային և քիմիական բնափոխման ուսումնասիրություններ էլեկտրոնային կլանման և ֆլուորեսցենտային առաքման սպեկտրաչափական և շրջանային դիֆրոիզմի եղանակներով: Առաջին անգամ տրվել է Հբ - ի ջերմային բնափոխման ֆլուորեսցենտային եռչափանի սպեկտրների քանակական վերլուծությունը:

**Կիրառական նշանակությունը:** Կատարված ուսումնասիրությունների արդյունքները կարող են օգտագործվել սպիտակուց-լիզանդ փոխազդեցությունների ուսումնասիրության տեսական դրույթների և էքսպերիմենտալ բազայի զարգացման համար: Այդ արդյունքները կարելի է կիրառել թթվածնի կապման և տեղափոխման հնարավորության և արդյունավետության վրա չազդող պոլիֆենոլների հիմքի վրա հակաբակտերիային, հակաբորբոքային և հակաօքսիդանտային հատկություններով օժտված դեղամիջոցների օգտագործման նոր սխեմաների մշակման համար:

**Արդյունքների փորձարկումը:** Ատենախոսության որոշ դրույթներ ներկայացված են հետևյալ գիտաժողովներում. Frontiers In Chemistry (25 – 29 August, 2013, Yerevan); 4-th International Conference of Young Scientists (18 - 22 August, 2014, Yerevan); IV Международная конференция «Современные проблемы химической физики» (5 - 9 октября, 2015, Ереван):

**Հրատարակված աշխատանքներ:** Ատենախոսության մեջ ներկայացված նյութերի հիման վրա հրատարակված են 8 տպագիր աշխատանք, այդ թվում 5 հոդված և 3 թեզիս:

**Ատենախոսության կառուցվածքը:** Ատենախոսությունը կազմված է ներածություն, գրական ակնարկ, փորձարարական մաս, արդյունքներ և դրանց քննարկումներ, հիմնական արդյունքներ, եզրահանգումներ և գրականության ցանկը բաժիններից, որը կազմված 127 անուն տպագիր հրատարակումներից:

Ատենախոսությունը շարադրված է 101 էջերում, փորձարարական տվյալները ներկայացված են 23 նկարների և 19 աղյուսակների տեսքով:

### **Աշխատանքի համառոտ պարունակությունը:**

**Ներածության մեջ** ներկայացված են աշխատանքի արդիականությունը, նպատակը, գիտական նորույթը և ստացված տվյալների կիրառական նշանակությունը:

**Առաջին գլխում** բերված են սպիտակուցների դասակարգման, կառուցվածքի և ֆունկցիաներին վերաբերող դրույթները և նկարագրված են պոլիֆենոլների կառուցվածքը, կենսաբանական ակտիվությունը: Նկարագրված են սպիտակուց – լիզանոլ կոմպլեքսագոյացման մեխանիզմները, ինչպես նաև սպիտակուցների բնափոխման երևույթի ուսումնասիրման մեթոդները:

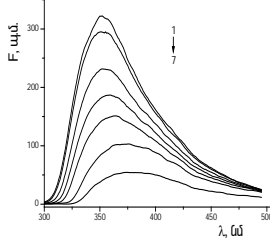
**Երկրորդ գլխում** նկարագրված են օգտագործված նյութերը և մեթոդները (էլեկտրոնային կլանման, ֆլուորեսցենտային առաքման և շրջանային դիֆրոիզմի սպեկտրաչափական մեթոդները (ՇԴ), խտաչափություն, տեսական քվանտաքիմիական հաշվարկներ) և փորձերի իրականացման գործընթացը:

**Երրորդ գլխում** ներկայացված են փորձնական և հաշվարկային տվյալներ, ինչպես նաև իրականացվել է ստացված տվյալների քննարկում: Աշխատանքի վերջում բերված են եզրահանգումները և օգտագործված գրականության ցանկը:

## **ԱՇԽԱՏԱՆՔԻ ՀԻՄՆԱԿԱՆ ԱՐԴՑՈՒՆՔՆԵՐԸ**

### **ԳԹ – ի ջրային լուծույթները ուսումնասիրությունը**

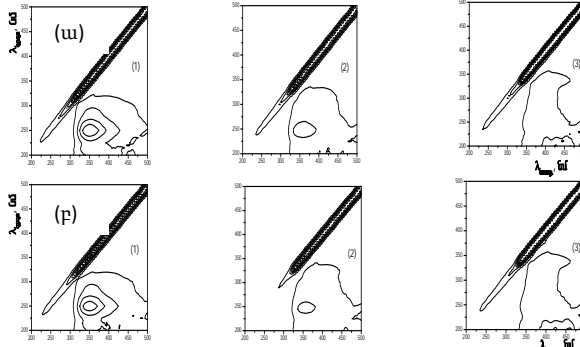
ԳԹ – ի ջրային լուծույթների ուսումնասիրությունները իրականացվել են ֆլուորեսցենտային սպեկտրաչափության (2D և 3D սպեկտրներ) մեթոդով: ԳԹ – ի ֆլուորեսցենտային սպեկտրները բերված են նկ. 1 – ում:



Նկ. 1 ԳԹ – ի ֆլուորեսցենտային սպեկտրներ; [ԳԹ]- 1–  $5.88 \cdot 10^{-4}$ ; 2–  $7.35 \cdot 10^{-4}$ ; 3 –  $1.47 \cdot 10^{-3}$ ; 4 –  $2.94 \cdot 10^{-3}$ ; 5 –  $5.88 \cdot 10^{-3}$ ; 6 –  $4.5 \cdot 10^{-2}$ ; 7 –  $5.88 \cdot 10^{-2}$  մոլ $_{լ}^{-1}$ , T = 306.15 Կ:

ԳԹ–ի կոնցենտրացիայի մեծացումը բերում է ֆլուորեսցենցիայի ինտենսիվության նվազմանը (264.6 – 31.8 պ. մ.) և առաքման շերտի շեղմանը դեպի երկար ալիքային մարզ (36 նմ): ԳԹ – ի ջրային լուծույթների սպեկտրալ բնութագրերի փոփոխությունները կարելի է բացատրել լուծույթում հոմո- (ԳԹ–ԳԹ ասոցիատներ) և հետերո- (ԳԹ–H<sub>2</sub>O) ասոցիատների առաջացմամբ: Ջերմաստիճանի բարձրացման հետ տեղի է ունենում ֆլուորեսցենցիայի ինտենսիվության աճ (264.6 – 322.1 պ.մ. ), իսկ մաքսիմումի տեղաշարժը դեպի

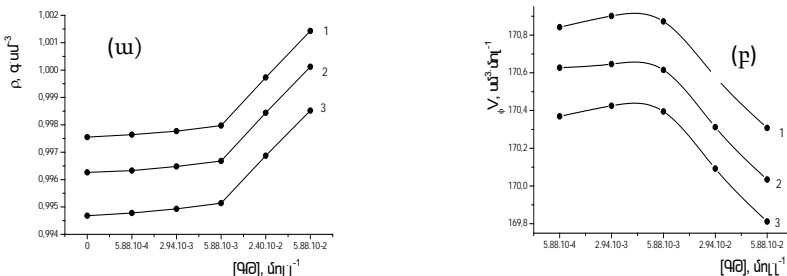
երկար ալիքային մարզ դառնում է ավելի թույլ արտահայտված (30 նմ): Ֆլուորեսցենտային առաքման բնութագրերի այսպիսի փոփոխությունները կարելի է բացատրել ԳԹ – ի հիդրատացված վիճակի փոփոխմամբ և լուծույթում առկա ասոցիատային կառուցվածքների թուլացմամբ: Նկ. 2-ում բերված են ԳԹ – ի ջրային լուծույթների 3D սպեկտրների պրոյեկցիաները 298.15 և 303.15Կ-ում:



Նկ. 2 ԳԹ – ի ջրային լուծույթների 3D սպեկտրների պրոյեկցիաները:  
 (ա)–T = 298.15Կ; (բ) – T = 303.15Կ; [ԳԹ] - 1 –  $5.88 \cdot 10^{-4}$ ; 2 –  $5.88 \cdot 10^{-3}$ ; 3 –  $5.88 \cdot 10^{-2}$  մոլ/լ<sup>-1</sup>:

Ինչպես տեսնում ենք նկարից, ԳԹ – ի 3D սպեկտրները բնութագրվում են մեկ պիկով ( $\lambda_{գր.}/\lambda_{տն.} = 250/353$  նմ.,  $F = 585.4$  պ. մ.), որն ենթարկվում է զգալի փոփոխությունների, ԳԹ – ի կոնցենտրացիայի մեծացման և ջերմաստիճանի բարձրացման դեպքում: ԳԹ – ի ջրային լուծույթների համար ներկայացված 3D սպեկտրներում դիտվում է նաև ռելեյան ցրում ( $\lambda_{գր.} / \lambda_{տն.} = 235/235$  նմ): Ռելեյան ցրման ինտենսիվությունը աճում է (35.7 – 42.4 պ. մ.) ԳԹ – ի կոնցենտրացիայի մեծացման և ջերմաստիճանի բարձրացման հետ: Սա ցույց է տալիս, որ տեղի են ունենում մրցակցող փոխազդեցություններ կախված ԳԹ-ի կոնցենտրացիայի և ջերմաստիճանի փոփոխություններից:

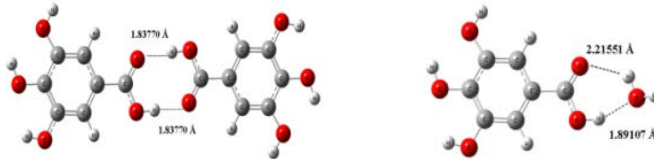
ԳԹ – ի լուծույթում ասոցիատային կառուցվածքների մասին տեղեկություն կարելի է ստանալ ուսումնասիրելով այդ լուծույթների ծավալային հասկությունները: Որոշված խտությունների (ρ) և թվացյալ պարզիալ մոլային ծավալների արժեքները ( $\phi V$ ), բերված են նկ. 3ա և 3բ- ում:



Նկ. 3 (ա) ρ – ի և (բ)  $\phi V$ -ի կախվածությունը ԳԹ – ի կոնցենտրացիայից;  
 T – (1) – 296.15; (2) – 301.15; 3 – 306.15Կ:

Ինչպես տեսնում ենք նկ. 3 – ից,  $\rho$  – ի և  $\phi V$  – ի արժեքները գործնականորեն չեն փոփոխվում փոքր կոնցենտրացիաների դեպքում, իսկ մեծ կոնցենտրացիաների դեպքում կտրուկ փոքրանում են: Ջերմաստիճանի բարձրացումը կորերի տեսքը էականորեն չի փոխում: Սա կարելի է բացատրել այն հանգամանքով, որ  $Q\theta$  – ի ասոցիացված ձևը հիդրատացվում է ավելի քիչ չափով ի համեմատ չասոցիացված ձևի: Ջերմաստիճանի բարձրացումը, իր հերթին, ավելի արտահայտված փոփոխություններ է առաջ բերում ասոցիացված ձևի հիդրատ թաղանթում, քան չասոցիացված ձևի:

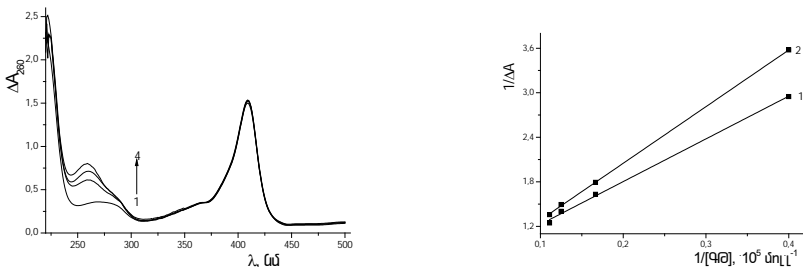
Տեսական քվանտաքիմիական հաշվարկների օգնությամբ հաշվարկվել են  $Q\theta$ – $Q\theta$  և  $Q\theta$ – $H_2O$  ասոցիատների երկրաչափությունը, կառուցվածքները, լիցքերը և ներմուլեկուլային փոխազդեցությունների էներգիաները և դիպոլ մոմենտը GAUSSIAN 03 ծրագրի օգնությամբ: Ջրի առկայության դեպքում ավելի կայուն է  $Q\theta$  –ի դիմերը, որի  $E_{\text{միջմ.}} = -12.9758$  կկալմոլ<sup>-1</sup>, քանի  $Q\theta$  –  $H_2O$  կոմպլեքսը, որի համար  $E_{\text{միջմ.}} = -8.1594$  կկալմոլ<sup>-1</sup> (տես նկ. 4):



Նկ. 4 (ա)  $Q\theta$  –  $Q\theta$  և (բ)  $Q\theta$  –  $H_2O$  ասոցիատների կառուցվածքները:

### **$Q\theta$ - Մբ փոխազդեցությունների ուսումնասիրությունը էլեկտրոնային կլանման սպեկտրաչափության մեթոդով**

Նկ. 5 – ում ներկայացված են Մբ- ի էլեկտրոնային կլանման սպեկտրները  $Q\theta$ -ի ներկայությամբ, որոնցից նախօրոք հանվել են  $Q\theta$ -ի համապատասխան կոնցենտրացիաների սպեկտրները:



Նկ. 5 Մբ – $Q\theta$  կոմպլեքսների կլանման սպեկտրները:  $[Մբ]$  –  $3.5 \cdot 10^{-5}$  մոլլ<sup>-1</sup>,  $[Q\theta]$  – 1 - 0; 2-  $2.5 \cdot 10^{-5}$ ; 3-  $6.0 \cdot 10^{-5}$ ; 4 –  $9.0 \cdot 10^{-5}$  մոլլ<sup>-1</sup>; T = 298.15Կ:

Նկ. 6  $1/\Delta A$ -ի կախվածությունը  $1/[Q\theta]$ : (1) T = 298.15Կ; (2) T = 308.15Կ:

Ելնելով սպեկտրների կլանումների փոփոխությունից, որոշվել է Մբ – ի ԳԹ – ի հետ կապման հաստատունը, օգտագործելով ստորև բերված հավասարումը.

$$\frac{1}{\Delta A} = \frac{1}{\Delta A_{\max}} + \frac{1}{K_B (\Delta A_{\max})} \cdot \frac{1}{[Q]} \quad (1),$$

որտեղ  $\Delta A = A - A_0$  և  $A_0$  –ն ու  $A$ –ն՝ Մբ – ի կլանումներն են 260 նմ ալիքի երկարության տակ ԳԹ–ի բացակայության և առկայության պայմաններում համապատասխանաբար (պ. մ.), [Q]–ն՝ ԳԹ –ի կոնցենտրացիան է (մոլ $^{-1}$ ),  $\Delta A_{\max}$ –ը՝ կլանման փոփոխությունն է կոմպլեքսի ամբողջական առաջացման ժամանակ: Ելնելով այս հավասարումից, կառուցել ենք  $1/\Delta A$ –ի  $1/\text{ԳԹ}$ –ի կոնցենտրացիայից կախվածությունը (տես. նկ. 6), որի թեքության անկյան տանգենտով որոշել ենք ԳԹ – Մբ կապման հաստատունների արժեքները (տես աղ. 1):

Մբ – ԳԹ կապման հաստատունների արժեքներից՝ 298.15 և 308.15Կ – ում հաշվել ենք կապման թերմոդինամիկական բնութագրերը ( $\Delta G$ ,  $\Delta S$ ,  $\Delta H$ ), օգտվելով հետևյալ հավասարումներից.

$$\ln \frac{k_2}{k_1} = \frac{\Delta H}{R} \left( \frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right) \quad (2),$$

որտեղ  $k_1$ –ը և  $k_2$ –ը կապման հաստատուններն են 298.15 և 308.15Կ ջերմաստիճաններում (լմոլ $^{-1}$ ),  $\Delta H$ –ը՝ էնթալպիայի փոփոխությունն է (կՋմոլ $^{-1}$ ),  $R$ –ը՝ ունիվերսալ գազային հաստատունը (Ջմոլ $^{-1}$ Կ $^{-1}$ ),  $T_1$  և  $T_2$ ՝ ջերմաստիճանները (Կ), և

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (3),$$

որտեղ  $\Delta G$ –ն Գիբսի էներգիայի (կՋմոլ $^{-1}$ ),  $\Delta H$ –ը՝ էնթալպիայի (կՋմոլ $^{-1}$ ) և  $\Delta S$ –ը էնտրոպիայի փոփոխություններն են (Ջմոլ $^{-1}$ Կ $^{-1}$ ) (տես աղ. 1):

Աղյուսակ 1

Մբ – ԳԹ կապման հաստատունի և կապման թերմոդինամիկական բնութագրերը:

T, Կ	$K_b, 10^4$ , լմոլ $^{-1}$	$\Delta H$ , կՋմոլ $^{-1}$	$\Delta S$ , Ջմոլ $^{-1}$ Կ $^{-1}$	$\Delta G$ , կՋմոլ $^{-1}$
298.15	1.11	-36.24	-44.19	-23.06
308.15	0.68			-22.62

Ստացված արդյունքները ցույց են տալիս, որ կոմպլեքսի առաջացումը ինքնաբերաբար ընթացող պրոցես է և այն կայունանում է ի հաշիվ ջրածնական կապերի: ԳԹ – ի Մբ – ի հետ կապման կենտրոնների թիվը որոշել ենք, օգտագործելով հետևյալ հավասարումը.

$$\log[\Delta A / (\Delta A_{\infty} - \Delta A)] = n \log [Q] + \log K_D \quad (4),$$

որտեղ  $K_D$ –ն դիսոցիան հաստատունն է (լմոլ $^{-1}$ ), իսկ  $n$ –ը՝ Հիլի գործակիցն է: Մբ –

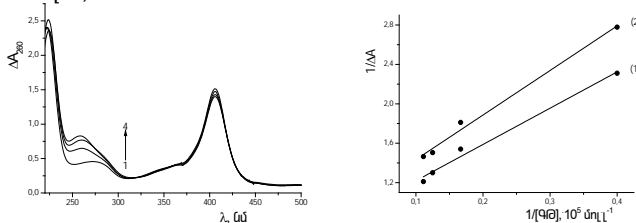


ԳԹ փոխազդեցությունների համար 298.15 և 308.15Կ ջերմաստիճաններում Հիլի գործակցի արժեքները կազմել են 1.01 և 0.99 համապատասխանաբար, որոնք ցույց են տալիս, որ ԳԹ -ի կապումը Մբ – ի հետ կրում է ոչ կոոպերատիվ բնույթ:

Այսպիսով, կարող ենք ասել, որ ԳԹ - Մբ փոխազդեցությունների արդյունքում առաջանում է միջին կայունության կոմպլեքս, որի կայունությունը հիմնականում պայմանավորված է ջրածնական կապերով: ԳԹ-ի կապումը Մբ-ի հետ կրում է ոչ կոոպերատիվ բնույթ:

**ԳԹ–Ջբ փոխազդեցությունների ուսումնասիրությունը էլեկտրոնային կլանման սպեկտրաչափության մեթոդով**

ԳԹ – Ջբ փոխազդեցությունները ուսումնասիրել ենք էլեկտրոնային կլանման սպեկտրաչափության մեթոդով: Նկ. 7–ում բերված են Ջբ – ԳԹ համակարգի էլեկտրոնային կլանման սպեկտրները, որոնցից նախօրոք հանվել են ԳԹ-ի համապատասխան կոնցենտրացիաների սպեկտրները: Օգտագործելով (1) հավասարումը և կառուցելով  $1/\Delta A$ -ի  $1/[ԳԹ]$ -ի կոնցենտրացիայից կախվածությունը (տես նկ. 8), որոշել ենք ԳԹ – Ջբ – ի հետ կապման հաստատունը 298.15 և 308.15Կ ջերմաստիճաններում: Ջբ – ԳԹ կապման հաստատունների արժեքներից հաշվել ենք կապման թերմոդինամիկական բնութագրերը՝  $\Delta G$ -ն,  $\Delta S$ -ը, և  $\Delta H$  (տես աղ. 2):



Նկ. 7 Ջբ –ի էլեկտրոնային կլանման սպեկտրները ԳԹ-ի ներկայությամբ:

[Ջբ] -  $3.956 \cdot 10^{-6}$  մոլ $l^{-1}$ , [ԳԹ]-1- 0; 2-  $2.5 \cdot 10^{-5}$ ; 3-  $6.0 \cdot 10^{-5}$ ; 4 –  $9.0 \cdot 10^{-5}$  մոլ $l^{-1}$ : T = 298.15Կ:

Նկ. 8  $1/\Delta A$ -ի կախվածությունը ԳԹ-ի կոնցենտրացիայից: T=(1)-298.15Կ; (2)-308.15:

Աղյուսակ 2

Ջբ – ԳԹ կապման հաստատունի և թերմոդինամիկական բնութագրերը:

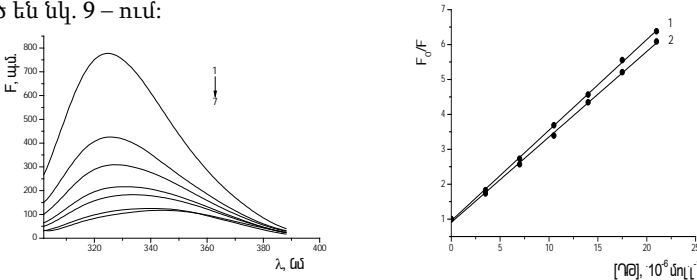
T, Կ	$K_b$ , $10^4 l \cdot mol^{-1}$	$\Delta H$ , $կՋ \cdot mol^{-1}$	$\Delta S$ , $Ջ \cdot mol^{-1} \cdot Կ^{-1}$	$\Delta G$ , $կՋ \cdot mol^{-1}$	n
298.15	2.31	-33.95	-73.66	-12.00	1.11
308.15	1.52			-11.25	1.09

$\Delta G$ -ի բացասական արժեքը ցույց է տալիս, որ կոմպլեքսի առաջացումը ինքնաբերաբար ընթացող պրոցես է, իսկ  $\Delta H$  և  $\Delta S$  թերմոդինամիկական պարամետրերի բացասական արժեքները ցուցանիչ են այն բանի, որ Ջբ – ԳԹ կոմպլեքսը առավելապես կայունանում է ի հաշիվ ջրածնական կապերի: ԳԹ-ի

Հբ-ի հետ կապման կենտրոնների թիվը ջերմաստիճանը բարձրացնելիս չի փոխվում:

**ԴԹ – Մբ փոխազդեցությունների ուսումնասիրությունը**

Մբ-ի ֆլուորեսցենտային առաքման սպեկտրները ԴԹ-ի ներկայությամբ բերված են նկ. 9 – ում:



Նկ. 9 Մբ – ի ֆլուորեսցենցիայի սպեկտրները ԴԹ –ի ներկայությամբ:  
 [Մբ]- 3.5·10<sup>-5</sup>մոլ լ<sup>-1</sup>; [ԴԹ]-1 – 0; 2 – 3.5·10<sup>-6</sup>; 3 – 7·10<sup>-6</sup>; 4 – 10.5·10<sup>-6</sup>; 5 – 14·10<sup>-6</sup>,  
 6 – 17.5·10<sup>-6</sup>; 7 – 21·10<sup>-6</sup>մոլ լ<sup>-1</sup>; T = 298.15Կ:

Նկ. 10 Շտեռնի – Ֆոլմերի կախվածությունը Մբ-ԴԹ փոխազդեցությունների համար: T = (1) – 298.15Կ; (2) – 303.15Կ:

Նկ. 9 - ից երևում է, որ ԴԹ – ի ներկայությամբ տեղի է ունենում Մբ – ի ֆլուորեսցենցիայի մարում և առաքման տեղաշարժ դեպի երկար ալիքային մարզ: Ելնելով նկ. 9 – ում բերված առաքման սպեկտրների մաքսիմումի արժեքներից, ԴԹ – Մբ փոխազդեցությունների համար կառուցել ենք Շտեռնի – Ֆոլմերի կախվածությունները 298.15 և 303.15Կ ջերմաստիճաններում (տես նկ. 10):

ԴԹ-ով Մբ-ի ֆլուորեսցենցիայի մարումը բնութագրվում Շտեռնի – Ֆոլմերի ուղղագծային կախվածությամբ, որը ջերմաստիճանը բարձրացնելիս շեղվում է դեպի ԴԹ - ի կոնցենտրացիայի առանցքը: ԴԹ – Մբ կապման համար Շտեռնի – Ֆոլմերի հաստատունի արժեքները որոշվել են ըստ (5) հավասարման.

$$F_0 / F = 1 + k_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{sv} [Q] \tag{5}$$

որտեղ F<sub>0</sub>-ն ֆլուորեսցենցիայի ինտենսիվությունն է մարիչի բացակայության պայմաններում (պ.մ.), F-ը՝ ֆլուորեսցենցիայի ինտենսիվությունը մարիչի ներկայությամբ (պ.մ.), k<sub>q</sub> –ն՝ բիմոլեկուլային բախման հաստատունը (լ·մոլ<sup>-1</sup>·վրկ<sup>-1</sup>), τ-ն՝ ֆլուորոֆորի կյանքի տևողությունը (վրկ), Q-ն՝ մարիչի կոնցենտրացիան (մոլ լ<sup>-1</sup>), K<sub>sv</sub> – ն՝ Շտեռնի – Ֆոլմերի հաստատունը (լ·մոլ<sup>-1</sup>):

K<sub>b</sub>-ի և n – ի արժեքները որոշվել են համաձայն հետևյալ հավասարման՝

$$\lg \left( \frac{F_0 - F}{F} \right) = \lg K_b + n \lg [Q] \tag{6}$$

որտեղ K<sub>b</sub>-ն կապման հաստատունն է (լ·մոլ<sup>-1</sup>), n-ը՝ կապման կենտրոնների թիվը: ԴԹ – Մբ կապման ֆիզիկաքիմիական բնութագրերը ներկայացված են աղ. 3 – ում:

ԴԹ – Մբ կապման ֆիզիկաքիմիական բնութագրերը 298.15 և 303.15Կ-ում:

T, Կ	$K_{sv},$ $10^5 \text{ ւմոլ}^{-1}$	$k_q,$ $10^{13} \text{ ւմոլ}^{-1}\cdot\text{վ}^{-1}$	R
298.15	2.59	2.59	0.99919
303.15	2.44	2.44	0.99871

R-ը՝ կորեկիացիայի գործակից

Հիմնվելով նկ. 10 - ի և աղ. 3 - ում ներկայացված տվյալների ( $K_{sv}$ ,  $k_q$ ) վրա, կարող ենք ասել, որ Մբ – ի ֆլուորեսցենցիայի մարումը ԴԹ – ով ընթանում է ստատիկ մեխանիզմով:  $K_b$  – ի համար ստացված արժեքները ցույց են տալիս, որ Մբ – ԴԹ փոխազդեցության հետևանքով առաջացող կոմպլեքսը ունի միջին կայունություն, որը ջերմաստիճանի բարձրացման հետ փոքրանում է (տես աղ. 4): Հիլի գործակցի մեկ արժեքը, որը ջերմաստիճանի բարձրացման հետ գործնականորեն չի փոխվում, ցույց է տալիս, որ կապումը ընթանում է ոչ կոոպերատիվ մեխանիզմով:

Որոշվել են նաև Մբ – ԴԹ փոխազդեցության թերմոդինամիկական բնույթագրերը: Մբ – ԴԹ փոխազդեցության համար  $\Delta H$  և  $\Delta S$  – ի արժեքները որոշվել են ըստ հետևյալ հավասարման՝

$$\ln K_b = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R} \quad (7),$$

իսկ  $\Delta G$  – ի արժեքները՝ ըստ (3) հավասարման, որոնք բերված են աղ. 4 – ում:

Մբ – ԴԹ Կապման թերմոդինամիկական բնութագրերը 298.15 և 303.15Կ – ում:

T, Կ	$K_b, 10^5$ $\text{ւմոլ}^{-1}$	$\Delta H,$ $\text{կՋմոլ}^{-1}$	$\Delta S,$ $\text{Ջմոլ}^{-1}\cdot\text{Կ}^{-1}$	$\Delta G,$ $\text{կՋմոլ}^{-1}$	n, Հիլի գործ.
298.15	8.31	-51.98	-61.03	-33.78	1.08
303.15	5.88			-33.47	1.05

Թերմոդինամիկական բնութագրերի արժեքներից երևում է, որ ԴԹ – Մբ կապումն ինքնաբերաբար ընթացող պրոցես է ( $\Delta G < 0$ ), իսկ  $\Delta H$ -ի և  $\Delta S$ -ի արժեքներից հետևում է, որ առաջացող կոմպլեքսը կայունանում է ի հաշիվ Վան դեր Վալսյան փոխազդեցությունների և ջրածնական կապերի:

ԴԹ – Մբ փոխազդեցությունների հետևանքով առաջացող կոմպլեքսների կառուցվածքային բնութագրերը որոշվել են, օգտագործելով ՖՌԷՍ-ի տեսությունը: Կիրառելով հետևյալ հավասարումները, հաշվարկել ենք Մբ – ԴԹ կոմպլեքսի համար E-ի, J-ի, R<sub>0</sub>- ի և r-ի արժեքները, որոնք ներկայացված են աղ. 5 – ում:

$$J(\lambda) = \frac{\int_0^{\infty} F_d(\lambda) \varepsilon_A \lambda^4 d\lambda}{\int_0^{\infty} F_d(\lambda) d\lambda} \quad (8),$$

որտեղ  $F_d(\lambda)$  -ն D-ի ֆլուորեսցենցիայի նորմավորված ինտենսիվությունն է (պ.մ.),  $\varepsilon_A$  - ն A -ի կլանման մոլային գործակիցը (լմոլ<sup>-1</sup>սմ<sup>-1</sup>):  
E - ի արժեքը որոշվում է համաձայն հետևյալ հավասարման՝

$$E = \frac{k_T(r)}{\tau_D^{-1} + k_T(r)} \quad (9),$$

որտեղ E - ն՝ էներգիայի անցման արդյունավետությունը,  $\tau_D$  - ն դոնորի մարման ժամանակամիջոցն է ակցետտորի բացակայության պայմաններում (վրկ),  $k_T(r)$  - ր՝ էներգիայի անցման արագությունը:

D - A զույգի համար, որոնք միմյանցից գտնվում են r հեռավորության վրա,  $k_T(r)$ -ը որոշվում է հետևյալ հավասարմամբ.

$$k_T(r) = \frac{Q_D \kappa^2}{\tau_D r^6} \left( \frac{9000(\ln 10)}{128\pi^3 N n^4} \right) J(\lambda) \quad (10),$$

որտեղ  $Q_D$  - ն D - ի քվանտային էլքն է, n - ր լուծիչի բեկման ցուցիչը, N - ր Ավոգադրոյի թիվը (6.02·10<sup>23</sup> մոլ<sup>-1</sup>),  $\kappa^2$  - ն D - ի և A - ի դիպոլ մոմենտների փոխադարձ դասավորվածությունը բնութագրող գործոնը:

E - ի արժեքը որոշում ենք հետևյալ հավասարմամբ՝

$$E = \frac{R_0^6}{R_0^6 + r^6} \quad (11),$$

որտեղ  $R_0$ -ն իրենից ներկայացնում է այն հեռավորությունը, որի դեպքում ռեզոնանսային էներգիայի անցումը իրականանում է 50% - ով (նմ), r - ր՝ D - A հեռավորությունը (նմ): Բացի դրանից, E - ի արժեքը կարող ենք որոշել նաև ըստ հետևյալ հավասարման.

$$E = 1 - \frac{F_{DA}}{F_D} \quad (12),$$

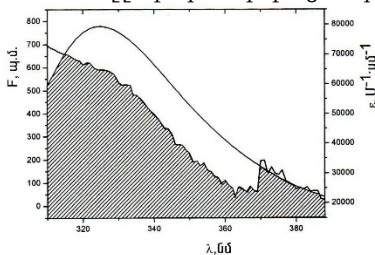
որտեղ  $F_{DA}$  - ն ֆլուորեսցենցիայի ինտենսիվությունն է A-ի ներկայությամբ, իսկ  $F_D$  - ն A - ի բացակայության պայմաններում (պ.մ.):

Աղյուսակ 5

Մթ - ԴԹ կոմպլեքսի համար E-ի, J-ի, r-ի և  $R_0$ -ի արժեքները 298.15 և 303.15Կ-ում:

T, Կ	E	J, 10 <sup>-14</sup> սմ <sup>3</sup> ·մոլ <sup>-1</sup>	r, նմ	$R_0$ , նմ
298.15	0.453	6.518	2.13	2.06
303.15	0.422	6.649	2.18	2.07

Նկ. 11-ում ներկայացված է Մբ-ի ֆլուորեսցենտային առաքման և ԴԹ-ի էլեկտրոնային կլանման սպեկտրերի վերադրումը 298.15Կ-ում, երբ Մբ-ի կոնցենտրացիան եղել է  $3.5 \cdot 10^{-5}$  մոլ/լ<sup>-1</sup>, իսկ ԴԹ-ի կոնցենտրացիան՝  $3.5 \cdot 10^{-6}$  մոլ/լ<sup>-1</sup>:

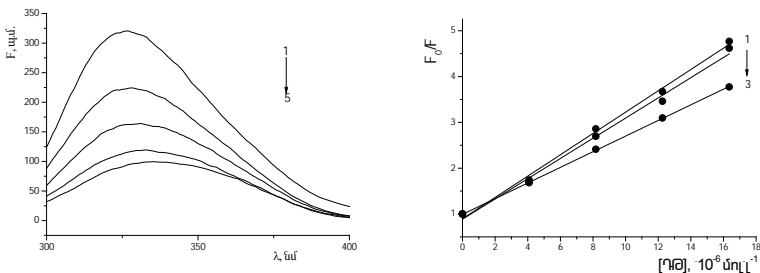


Նկ. 11 Մբ – ի առաքման և ԴԹ – ի կլանման սպեկտրների վերադրումը:  
 [Մբ] -  $3.5 \cdot 10^{-5}$  մոլ/լ<sup>-1</sup>; [ԴԹ] -  $3.5 \cdot 10^{-6}$  մոլ/լ<sup>-1</sup>; T = 298.15Կ:

ԴԹ – Մբ փոխազդեցությունների համար այս հաշվարկները իրականացնելիս օգտագործվել է  $\Phi = 0.065$ ,  $\kappa^2 = 2/3$  և  $n = 1.336$  արժեքները: r-ի արժեքը, որ 2-8 նմ-ի սահմաններում է, հիմնավորում է այն փաստը, որ առաջացած կոմպլեքսի կայունությունը փոքրանում է ջերմաստիճանի բարձրացման հետ:

**ԴԹ – Հբ փոխազդեցությունների ուսումնասիրությունը**

Հբ-ի ֆլուորեսցենտային առաքման սպեկտրները ԴԹ-ի ներկայությամբ բերված են նկ. 12 – ում:



Նկ. 12 Հբ-ի ֆլուորեսցենցիայի մարման սպեկտրները ԴԹ-ով; [Հբ]- $3.956 \cdot 10^{-6}$  մոլ/լ<sup>-1</sup>; [ԴԹ]-1 – 0; 2 –  $4.088 \cdot 10^{-6}$ ; 3 –  $8.176 \cdot 10^{-6}$ ; 4 –  $12.264 \cdot 10^{-6}$ ; 5 –  $16.352 \cdot 10^{-6}$  մոլ/լ<sup>-1</sup>,  
 T = 298.15Կ:

Նկ. 13 Շտեռնի - Ֆոլմերի կախվածությունը Հբ – ԴԹ փոխազդեցությունների համար: [Հբ] -  $3.956 \cdot 10^{-6}$  մոլ/լ<sup>-1</sup>; [ԴԹ]-  $4.088 \cdot 10^{-6}$  –  $16.352 \cdot 10^{-6}$  մոլ/լ<sup>-1</sup>;  
 T = 1 – 298.15; 2 – 303.15; 3 – 309.75Կ:

Հբ – ԴԹ փոխազդեցությունների համար Շտեռնի-Ֆոլմերի կախվածությունը բերված է նկ. 13 - ում: Այս կախվածություններից որոշվել է Շտեռնի - Ֆոլմերի հաստատունի արժեքները տարբեր ջերմաստիճաններում, դրանց հիման վրա՝ բիմոլեկուլային բախման հաստատունները օգտագործելով (5) հավասարումը: Ստացված արդյունքները ամփոփված են աղ. 6 – ում:

Շտեռնի – Ֆոլմերի և բիմոլեկուլային բախման հաստատունների արժեքները  
 ԴԹ – Հբ փոխազդեցությունների համար 298.15; 303.15 և 309.75Կ:

T, Կ	$K_{sv}, 10^5 \text{ Լ/մոլ}^{-1}$	$k_q, 10^{13} \text{ Լ/մոլ}^{-1}\cdot\text{վ}^{-1}$	R
298.15	2.34	2.34	0.97733
303.15	2.28	2.28	0.97984
309.75	1.70	1.70	0.99957

R – ը կորելիացիայի գործակիցն է

$K_{sv}$  –ի համար բերված արժեքներից երևում է, որ Հբ – ի ֆլուորեսցենցիայի մարումը ԴԹ – ով նույնպես ընթանում է ստատիկ մեխանիզմով: Հբ – ԴԹ կապման ֆիզիկաքիմիական և թերմոդինամիկական պարամետրերը բերված են աղ. 7 - ում:

ԴԹ – Հբ կապման ֆիզիկաքիմիական և թերմոդինամիկական բնութագրերը:

T, Կ	$K_b, 10^6 \text{ Լ/մոլ}^{-1}$	$\Delta H, \text{ կՋ/մոլ}^{-1}$	$\Delta S, \text{ Ջ/մոլ}^{-1}\cdot\text{Կ}^{-1}$	$\Delta G, \text{ կՋ/մոլ}^{-1}$	n, Հիլի գործ.
298.15	4.57	-197.33	-532.20	-38.66	1.30
303.15	1.76			-36.00	1.20
309.75	0.21			-32.48	1.03

Ելնելով աղ. 7 – ում ներկայացված տվյալներից, կարող ենք ասել, որ ԴԹ – Հբ կապումը տեղի է ունենում ինքնաբերաբար, իսկ կապման հետևանքով առաջացող կոմպլեքսը կայունանում է Վան դեր Վալյան փոխազդեցությունների և ջրածնական կապերի հաշվին: n – ի ընդունած արժեքները ցույց են տալիս, որ ԴԹ – Հբ փոխազդեցությունները կրում են ոչ կոոպերատիվ բնույթ:

Հբ – ԴԹ փոխազդեցությունների համար որոշել ենք նաև J – ի,  $R_0$ -ի, E-ի և r –ի արժեքները 298.15Կ, որոնց արժեքները կազմել են  $J=3.627 \cdot 10^{-14}\text{սմ}^3\cdot\text{լ/մոլ}^{-1}$ , իսկ  $R_0= 2.69\text{նմ}$ ,  $E=0.456$  և  $r=2.76\text{նմ}$ :

### Հբ – ի ծավալային հասկությունների ուսումնասիրությունը

Սպիտակուցի ռեակցիոնունակության վրա կարող է ազդեցություն ունենալ մակերևութին խմբերի տարածական դասավորվածությունը: Օգտագործելով (13) հավասարումը, Հբ-ի համար որոշել ենք թվացյալ պարզիալ սպեցիֆիկ ծավալը՝  $\phi$  (տես աղ. 8):

$$\phi = \frac{1}{\rho_0} \left( 1 - \frac{\rho - \rho_0}{c} \right) \quad (13),$$

որտեղ  $\rho_0$ -ն և  $\rho$ - ն՝ լուծիչի և լուծույթի խտություններն են համապատասխանաբար ( $q\text{սմ}^{-3}$ ),  $c$  – ն՝ Հբ - ի կոնցենտրացիան է ( $q\text{մլ}^{-1}$ ):

Խմբային տարանջատված և չտարանջատված Հբ-ի  $\phi$ -ի արժեքները:

$\phi$ , սմ <sup>3</sup> գ <sup>-1</sup>				
T, Կ	309.75	313.15	309.75	313.15
[Հբ], 10 <sup>-6</sup> մոլլ <sup>-1</sup>	Տարանջատված Հբ		Չտարանջատված Հբ	
0.989	0.8404	-11.7271	-	0.5610
1.978	0.8403	-5.8330	1.1787	-0.1776
3.956	0.7629	-2.5730	1.5316	-0.4114
7.912	0.8201	-0.8266	1.4450	-1.0131

Ինչպես տեսնում ենք աղ. 8 – ում ներկայացված տվյալներից, Հբ-ի տարանջատված և չտարանջատված ձևերի համար կոնցենտրացիայի մեծացումը չի բերում  $\phi$ -ի արժեքների էական փոփոխությունների 309.75Կ–ում, իսկ 313.15Կ – ում  $\phi$ -ի արժեքների փոփոխությունները կախված Հբ – ի կոնցենտրացիայից անկանոն են, որը կարելի է բացատրել Հբ – ի մոլեկուլում ջերմաստիճանի ազդեցությամբ ի հայտ եկող կառուցվածքային փոփոխություններով: Հբ – ի ռեակցիոնունակության վրա խմբերի տարանջատումը պարզելու համար, ուսումնասիրել ենք նաև չտարանջատված Հբ – ի կապումը ԴԹ – ի հետ ֆլուորեսցենտային սպեկտրաչափության մեթոդով, որի համար տվյալները ներկայացված են աղ. 9 և 10 – ում:

Շտեռնի – Ֆոլմերի և  $k_q$  արժեքները Հբ (չտարանջատված) – ԴԹ կապման համար:

T, Կ	$K_{sv}$ , 10 <sup>5</sup> լմոլ <sup>-1</sup>	$k_q$ , 10 <sup>13</sup> լմոլ <sup>-1</sup> վ <sup>-1</sup>
298.15	1.906	1.906
303.15	2.015	2.015
308.15	2.414	2.414

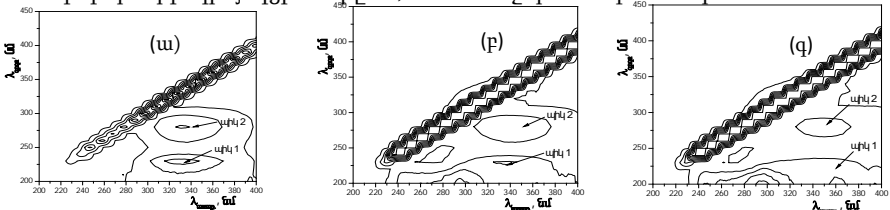
Չտարանջատված Հբ - ԴԹ կապման ֆիզիկաքիմիական և թերմոդինամիկական բնութագրերի արժեքները տարբեր ջերմաստիճաններում:

T, Կ	$K_a$ , 10 <sup>4</sup> , լմոլ <sup>-1</sup>	$\Delta H$ , կՋմոլ <sup>-1</sup>	$\Delta S$ , Զմոլ <sup>-1</sup> Կ <sup>-1</sup>	$\Delta G$ , կՋմոլ <sup>-1</sup>	n, Հիլի գործ.
298.15	1.62	121.81	489.528	-24.144	1.32
303.15	6.02			-26.592	1.21
308.15	9.27			-29.529	1.22

ԴԹ–ով Հբ-ի ֆլուորեսցենցիայի մարումը ընթանում է դինամիկ մեխանիզմով, ջերմաստիճանի բարձրացման հետ կոմպլեքսի կայունությունը մեծանում է, իսկ առաջացող կոմպլեքսը կայունանում է ի հաշիվ հիդրոֆոր փոխազդեցությունների:

**ՂԹ – Ի ԿԱՊՄԱՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀԲ – Ի ԶԵՐՄԱՅԻՆ  
ԿԱՅՈՒՆՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ**

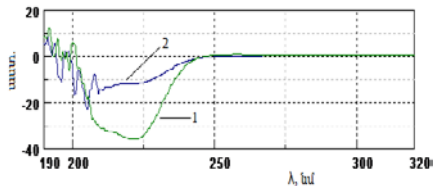
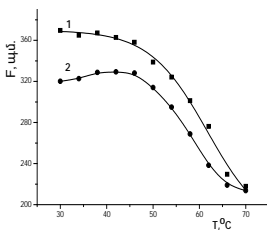
Ուսումնասիրել ենք մաքուր Հբ – ի բնափոխումը ֆլուորեսցենտային եռչափ գրգռման/առաքման մատրիցի (3D սպեկտրներ) մեթոդով 30 – 70°C ջերմաստիճանային տիրույթում: Նկ. 14 –ում բերված են Հբ-ի ֆլուորեսցենտային 3D սպեկտրների պրոյեկցիաները 30, 50 և 66°C ջերմաստիճաններում:



Նկ. 14 Հբ-ի ֆլուորեսցենտային 3D սպեկտրների պրոյեկցիաները:  
ա - 30; բ - 50; գ - 66°C ջերմաստիճաններում, [Հբ] -  $3.956 \cdot 10^{-6}$  մոլլ<sup>-1</sup>:

Հբ-ի 3D ֆլուորեսցենտային սպեկտրները ևս բնութագրվում են 2 պիկով, որոնցից առաջինը (Պիկ 1)՝  $\lambda_{գր.}/\lambda_{սն.} = 230/335$  նմ համապատասխանում է Հբ-ի պոլիպեպտիդային շղթաների ֆլուորեսցենտային բնութագրերին և երկրորդը (Պիկ 2)՝  $\lambda_{գր.}/\lambda_{սն.} = 280/339$  նմ՝ Trp, Phe և Tyr – ային ամինոթթվային մնացորդներին:

Հիմնվելով ֆլուորեսցենտային 3D սպեկտրներից Պիկ 1 և Պիկ 2-ի համար ստացված տվյալների վրա, կառուցել ենք Հբ-ի ջերմային բնափոխման ֆլուորեսցենտային պրոֆիլները, որոնք ներկայացված են նկ. 15 – ում:



Նկ. 15 Հբ – ի բնափոխման ֆլուորեսցենտային պրոֆիլները:

[Հբ] -  $3.956 \cdot 10^{-6}$  մոլլ<sup>-1</sup>; 1 –  $\lambda_{գր.}/\lambda_{սն.} = 230/335$  նմ; 2 –  $\lambda_{գր.}/\lambda_{սն.} = 280/338$  նմ:

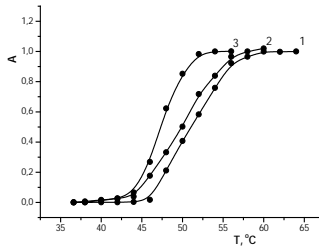
Նկ. 16 Մաքուր Հբ – ի ՇԴ սպեկտրը: [Հբ] -  $3.956 \cdot 10^{-6}$  մոլլ<sup>-1</sup>; T = (1) – 36.6°C; (2) – 64°C:

Բերված կորերից (1) –ը համապատասխանում է Պիկ 1-ի ինտենսիվությունների արժեքներին, իսկ (2) կորը Պիկ 2-ի ինտենսիվությունների արժեքներին: Ինչպես տեսնում ենք, (1) կորը շեղված է դեպի ավելի բարձր ջերմաստիճանային մարզը, քան (2)-ը: Հբ – ի ջերմային կայունությունն ուսումնասիրել ենք նաև ՇԴ սպեկտրաչափության մեթոդով: Մաքուր Հբ-ի ՇԴ սպեկտրը բնութագրվում է կլանումով 200-230 նմ մարզում, որը տեղեկություն է



տալիս սպիտակուցի երկրորդային կառուցվածքի վերաբերյալ (տես նկ. 16): Ջերմաստիճանի բարձրացումը բերում է Հբ –ի ՇԴ սպեկտրում փոփոխության, որը ցույց է տալիս, որ Հբ-ի մոլեկուլում տեղի է ունենում երկրորդային կառուցվածքի քանդում, որը պահպանվում է 32% - ով:

Այնուհետև, ուսումնասիրել ենք Հբ – ԴԹ կոմպլեքսների ջերմային կայունությունը էլեկտրոնային կլանման սպեկտրաչափության մեթոդով 36.6 – 66°C ջերմաստիճանային տիրույթում (տես. նկ. 17):



Նկ. 17 Հբ – ի և Հբ – ԴԹ կոմպլեքսների ՈՒՄ բնափոխման կորերը:  
 [Հբ] -  $3.956 \cdot 10^{-6}$  մոլ/լ<sup>-1</sup>, [ԴԹ] - 1 - 0; 2 -  $4.088 \cdot 10^{-6}$ ; 3 -  $8.17 \cdot 10^{-6}$  մոլ/լ<sup>-1</sup>:

Բերված ՈՒՄ բնափոխման կորերը բնութագրվում են սիգմոիդալ տեսքով, ըստ որոնց թռիչքի միջնակետի, որոշել ենք բնափոխման ջերմաստիճանները՝  $T_{բն.}$ , որոնք կազմել են՝ (1) – 51.10°C; (2) – 50.02°C; (3) – 47.40°C: Այսպիսով պարզեցինք, որ ջերմաստիճանի բարձրացումը ավելի արտահայտված կառուցվածքային փոփոխությունների պատճառ է դառնում Հբ – ի արմատիկ ամինթթվային մնացորդներ առանձին հատվածներում, քան պոլիպեպտիդային շղթաներում: ՇԴ սպեկտրաչափության մեթոդով ուսումնասիրելիս, երբ տեսանք, որ Հբ – ի ջերմային բնափոխումը ուղեկցվում է 68%  $\alpha$ -պարույրների քանդմամբ: Հբ – ԴԹ կոմպլեքսների ջերմային կայունությունը նվազում է ԴԹ – ի կոնցենտրացիան մեծացնելիս:

### Եզրահանգումներ

1. ԳԹ – ի ջրային լուծույթներում առկա ԳԹ-ի մոնոմերային մոլեկուլների, հոմո- և հետերոասոցիատների և դրանց հիդրատացված ձևերի միջև մրցակցող փոխազդեցությունների վրա էական ազդեցություն ունեն ԳԹ-ի կոնցենտրացիայի և ջերմաստիճանի փոփոխությունները: Նշված ձևերից ամենակայունը ԳԹ-ի դիմերներն են:

2. ԳԹ – Մբ, ԳԹ – Հբ և ԴԹ – Մբ, ԴԹ – Հբ փոխազդեցությունների արդյունքում առաջանում են կոմպլեքսներ, որոնք կայունանում են ջրածնական կապերով և Վան դեր Վալսյան փոխազդեցություններով: Ջերմաստիճանի բարձրացման հետ առաջացած կոմպլեքսների կայունությունը փոքրանում է: ԳԹ-ի կապումը սպիտակուցների հետ կրում է ոչ կոոպերատիվ բնույթ:

3. Պարզված է Հբ – ԴԹ, Մբ – ԴԹ կոմպլեքսների առաջացման մեխանիզմը (սպիտակուցի ֆլուորեսցենցիայի մարումը, բիմոլեկուլային բախման

հաստատունը՝  $kq$ ), և այդ կոմպլեքսների կառուցվածքային բնութագրերը (ռեզոնանսային էներգիայի անցման արդյունավետությունը  $E$ , Ֆյուստերյան հեռավորությունը՝  $R_0$ , սպիտակուցի և լիզանդի միջև հեռավորությունը՝  $r$ );

4. ԳԹ-ի և ԴԹ - ի կապումը ՄԲ-ի և ՀԲ-ի հետ ազդում է սպիտակուցի ընդհանուր կառուցվածքի վրա, սակայն հեմ խմբի կառուցվածքի հետ էական փոփոխություններ տեղի չեն ունենում:

5. ՀԲ – ԴԹ կոմպլեքսների ջերմային կայունությունը ավելի փոքր է, քան մաքուր ՀԲ – Ը: Ջերմաստիճանի բարձրացումը ավելի մեծ չափով ազդում է ՀԲ - ի արոմատիկ մնացորդներ պարունակվող առանձին հատվածների կառուցվածքի, քան պոլիպեպտիդային շղթաների իրար նկատմամբ ունեցած դասավորվածության վրա:

### Ատենախոսության հիմնական արդյունքները հրատարակված են հետևյալ աշխատանքներում՝

1. **L.S. Sargsyan**, K.R. Grigoryan, The Study of Hemoglobin – Tannic Acid Interactions by Fluorescence Spectroscopy Method, *Frontiers In Chemistry*, Yerevan 2013, August 25 – 29, p. 178.
2. K.R. Grigoryan, **L.S. Sargsyan**, Denaturation of Hemoglobin in the presence of Tannic Acid, *Proceedings of the YSU*, 2014, N 1, p. 23 – 27.
3. **L.S. Sargsyan**, K.R. Grigoryan, S.A. Markarian, T. Burkholz, C. Jacob, Fluorescence Characterization of Human Hemoglobin Binding with Tannic Acid, *Chemical Journal of Armenia*, 2014, N 2 – 3, V. 67, p. 181 – 187.
4. **L.S. Sargsyan**, K.R. Grigoryan, Thermal stability of human hemoglobin in the presence of tannic acid, 4<sup>th</sup> International Conference of Young Scientists “Chemistry Today”, Yerevan 2014, August 18 – 22, p. 109 – 111.
5. **L.S. Sargsyan**, Impact of Different Factors on Volume Properties of Human Hemoglobin, *Proceedings of the YSU*, 2015, N 1, p. 9 – 12.
6. К.Р. Григорян, **Л.С. Саргсян**, А.Л. Затибян, Experimental and Theoretical Studies on Competitive Interactions in Gallic Acid – Water Systems, IV Международная конференция <<Современные проблемы химической физики>>, Ереван 2015, 5 – 9 октября, с. 204 – 205.
7. К.Р. Григорян, **Л.С. Саргсян**, Межмолекулярные взаимодействия в водных растворах галловой кислоты при 296 – 306 К по данным спектрофлуорометрии и денситометрии, *Журн. физ. химии*, 2015, N 12, т. 89, с. 1889 – 1892.
8. К.Р. Григорян, **Л.С. Саргсян**, Спектральные исследования миоглобина с танином, *Журн. прик. Спектрос.*, 2016, N 3, т. 83, с. 493 – 497.

## ЛЕВОН СУРЕНОВИЧ САРГСЯН

Физикохимические особенности взаимодействий галловой и дубильной кислот с миоглобином и гемоглобином

### АННОТАЦИЯ

В настоящее время в области биомедицинской физической химии определенный интерес представляют изучения взаимодействий транспортных белков с разными биоактивными лигандами. К таким лигандам относятся природные вещества - полифенолы, у которых наблюдаются антиоксидантные, антибактериальные, антимикробные и прочие свойства.

В данной диссертации представлены результаты исследований взаимодействий между транспортными белками гемоглобин (Гб) и миоглобин (Мб) с полифенолами галловая кислота (ГК) и дубильная кислота (ДК). Целью диссертационной работы является определение физикохимических особенностей связывания ГК и ДК с Мб и Гб, которые дадут возможность оценить влияние ГК и ДК на общие функции и стабильность белков.

Исходя из намеченной цели, в диссертационной работе поставлены следующие задачи:

- исследование структурных особенностей водных растворов ГК в зависимости от изменения концентрации и температуры;
- изучение физикохимических и термодинамических параметров связывания ГК и ДК с Мб и Гб;
- изучение влияния связывания ГК и ДК на общую структуру белка и на структуру протетической гем группы;
- определение термической стабильности образовавшихся комплексов ДК - Гб.

Для исследования структурных особенностей водных растворов ГК использовали методы флуоресцентной спектроскопии (2D и 3D спектры - метод матрицы возбуждения\эмиссии) и денситометрии. Проведены также квантохимические расчеты при помощи программы GAUSSIAN 03. Связывание полифенолов с Мб и Гб исследовали методами электронной (в УФ области) и флуоресцентной спектроскопии. Определены термодинамические ( $K_b$ ,  $\Delta G$ ,  $\Delta H$  и  $\Delta S$ ) и структурные характеристики ( $J$ ,  $E$ ,  $r$  и  $R_0$ ) этих комплексов. Термическая стабильность и структурные изменения образовавшихся комплексов изучены в температурном интервале 36 – 70°C при помощи методов флуоресцентной спектроскопии, УФ спектроскопии и кругового дихроизма.

Исходя из результатов проведенных исследований были сделаны следующие заключения:

1. В водных растворах ГК присутствуют мономерные молекулы ГК, гомо-, гетероассоциаты и их гидрированные формы, между которыми существуют

конкурирующие взаимодействия, на которых существенные воздействия имеют изменение температуры и концентрации ГК. Самыми стабильными являются димеры ГК.

2. В результате взаимодействий ГК – Мб, ГК – Гб, ДК – Мб и ДК – Гб образуются комплексы, которые стабилизируются при помощи межмолекулярных водородных связей и ван дер Вальсовых взаимодействий. При повышении температуры стабильность образовавшихся комплексов снижается. Связывание ГК и ДК с Мб и Гб происходит по некооперативному механизму.

3. Определен механизм образования комплексов Гб – ДК и Мб – ДК (тушение флуоресценции белков) и их структурные параметры ( $J$ ,  $E$ ,  $r$  и  $R_0$ ).

4. Связывание ГК и ДК с Мб и Гб влияет на общую структуру белка, но вблизи протетической гем группы значительные структурные изменения не наблюдаются.

5. Термическая стабильность комплексов ДК – Гб более низкая по сравнению с Гб. Повышение температуры приводит к более выраженным структурным изменениям в гибких частях белка, которые содержат ароматические аминокислотные остатки, чем в более жестких  $\alpha$ ,  $\beta$  полипептидных цепях.

The physicochemical characteristics of gallic acid and tannic acid interactions with myoglobin and hemoglobin

RESUME

At the present in the field of biomedical physical chemistry great interest are representing the studies of interactions between transport proteins with various biologically active ligands such as polyphenols, which have antioxidant, antimicrobial, antibacterial and other properties. In this thesis the results of the studies of interactions between transport proteins hemoglobin (Hb) and myoglobin (Mb) with polyphenolic compounds gallic acid (GA) and tannic acid (TA) are presented. The aim of this thesis is the definition of binding physicochemical purposes of GA and TA with Mb and Hb, which will give an opportunity to estimate the influence of GA and TA on the general functions and stability of proteins.

To achieve the aim, the following problems were raised to be solved:

- investigation of structural characteristics of GA water solutions depending on concentration and temperature changes;
- study of physicochemical and thermodynamical parameters of GA – Mb, GA – Hb, TA – Mb and TA – Hb binding;
- study the influence of GA and TA binding on general structure of protein and on the structure of heme group;
- definition of thermal stability of formed TA – Hb complexes.

To investigate the structural characteristics of GA water solutions the fluorescence spectroscopy (2D and excitation/emission matrix method - 3D spectrum) and densitometry methods have been used. With the use of GAUSSIAN 03 program quantumchemical calculations have been made. The binding of polyphenols with Mb and Hb is studied using UVvis and fluorescence spectroscopy methods. Thermodynamic ( $K_b$ ,  $\Delta G$ ,  $\Delta H$  и  $\Delta S$ ) and structural parameters ( $J$ ,  $E$ ,  $r$  и  $R_0$ ) for these complexes are investigated. The thermal stability and structural changes of formed complexes have been studied in temperature range of 36 – 70°C using fluorescence spectroscopy, UVvis spectroscopy and circular dichroism (CD) spectroscopy methods.

From the results of this studies the following conclusions are made;

1. In water solutions of GA the monomeric molecules of GA, homo – and heteroassociates and their hydrated forms are presented. There are competing interactions between associates, on which significant influence have the change of temperature and concentration GA. Theoretical quantum chemical calculations using GAUSSIAN 03 program are identified, that GA – GA associates are most stable from above mentioned.

2. In result of GA – Mb, GA – Hb, TA – Mb and TA – Hb interactions the complexes are formed, which are stabilized with intermolecular hydrogen bonds and

van der Waals forces. With increasing of temperature the stability of complexes decreases. The binding of GA and TA with Mb and Hb are non-cooperative.

3. The mechanism of TA – Mb and TA – Hb complexes formation (fluorescence quenching of proteins with TA) and their structural parameters ( $J$ ,  $E$ ,  $r$  and  $R_0$ ) have been investigated.

4. The binding of GA and TA with Mb and Hb influences on general structure on protein, but near the structure of heme group there are no significant changes observed.

5. The TA – Hb complexes are less thermal stable than Hb. The increase of temperature are cause more pronounced structural changes in the flexible areas of protein containing aromatic amino acids than in the rigid  $\alpha$ ,  $\beta$  polypeptide chains.

