

# **ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼ ՍԱՐԱՆ**

## **ՍԱՐԳՍՅԱՆ ԼԵՎՈՆ ՍՈՒՐԵՆԻ**

**ԳԱԼ ԱԹԹՎԻ ՈՒ ԴԱԲԱՂԱԹԹՎԻ ՀԵՏ ՄԻՈԳԼ ՈՒԲԻՆԻ ԵՎ  
ՀԵՄՈԳԼ ՈՒԲԻՆԻ ՓՈԽԱԶԴԵՑՈՒ ԹՅՈՒՆՆԵՐԻ  
ՖԻԶԻԿԱՔԻՄԻԱԿԱՆ ԱՌԱՆՁՆԱՅ ԱՏԿՈՒ ԹՅՈՒՆՆԵՐԸ**

## **ԱՏԵՆԱԿՈՍՈՒ ԹՅՈՒՆ**

**02.00.04.-“Ֆիզիկական քիմիա” մասնագիտու լ թյ ամբ  
քիմիական գիտու լ թյ ու ն ն երի թե կ ն ա ծ ու ի  
գիտական ա ս տի ճ ան ի հ այ ց մ ան**

**Գիտական ղեկավար՝  
Քիմիական գիտու լ թյ ու ն ն երի դոկտոր,  
պրոֆ., Կ. Ռ. Գրիգորյ ան**

**ԵՐԵՎԱՆ-2016**

**ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒ ԹՅՈՒՆ**

**ՆԵՐԱՃՈՒ ԹՅՈՒՆ**.....  
... 3

**ԳԼՈՒԽ1. ԳՐԱԿԱՆ ԱԿՆԱՐԿ**

1.1. Սափ տակուցներ: Կառուցվածքը, դասակարգումը և  
ֆունկցիաները .....8

1.2. Տրանսպորտային սափ տակուցներ: Կառուցվածքը, տեսակները և  
փոխազդեցությունները.....  
.....13

1.3. Պոլիֆենոլներ: Կառուցվածքը և  
հատկությունները.....19

1.4. Սափ տակուց-լիգանդ փոխազդեցությունների  
ուսումնասիրությունները.....  
..... 25

**ԳԼՈՒԽ2. ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ՄԱՍ**

2.1. Օգտագործված նյութերը.....  
39

2.2. Օգտագործված մեթոդները և փորձարարական  
տեխնիկան..... 41

**ԳԼՈՒԽ3. ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ՏԿՅԱԼՆԵՐԻ ՆԵՐԿԱՅԱՑՈՒՄ ԵՎ  
ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԻ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄ**

3.1. Յբ-ի և Սբ-ի կապումը ԴԹ-ի և ԳԹ-ի հետ  
..... 48

3.2. ԴԹ-ի կապման ազդեցությունը Յբ-ի կայունության  
վրա..... 81

3.3. Ամփոփում..... 86

**ԱՇԽԱՏԱՆՔԻ ՀԻՄՆԱԿԱՆ ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐ ԵՎ ԵԶՐԱԿԱՅԱՆԳՈՒՄՆԵՐ.....**  
88

**ԳՐԱԿԱՆՈՒ ԹՅՈՒՆ**.....  
89

## Ն Ե Ր Ա Ճ ՈՒ Թ Յ ՈՒ Ն

### ***Թեմայի արդիականությունը***

Ժամանակակից ֆիզիկական քիմիայի անփոխարինելի դերը կենսաբանական բարդ երևույթների ընթացքի և մեխանիզմի պարզաբանման գործընթացում պայմանավորված է մի կողմից տեսական դրույթների զարգացման, մյուս կողմից՝ տեխնիկական հնարավորությունների կատարելագործմամբ: Այս ամբողջը ներկայումս իր արտահայտումն է գտել կենսաբժշկության ոլորտում հետաքրքրություն ներկայացնող խնդիրներից մեկի՝ կենսամակրոմոլեկուլների, մասնավորապես սպիտակուցների փոխազդեցությունների, կայունության, կառուցվածքային փոփոխությունների ուսումնասիրության և այլ խնդիրների լուծման համար:

Բժշկության, ինչպես նաև թեթև արդյունաբերության տարբեր բնագավառներում՝ սննդի, խմիչքների, ըմպելիքների, կաշվի և մորթու արտադրության մեջ նախընտրում են օգտագործել բնական ծագում ունեցող նյութեր: Սրանց շարքին են դասվում նաև տանիները, որոնք պլիֆենոլային միացություններ են: Այս դասի նյութերը օժտված են կենսաբանական մեծ ակտիվությամբ և դաբաղող հատկությամբ: Բնության մեջ պլիֆենոլների հանդիպում են տարբեր բույսերի (թեյ, լոբի, սուրճ), մրգերի (խաղող, ձմերուկ, կիտրոն, նուռ, ելակ, լոռամիրգ, կիվի) ու բանջարեղենի (պղպեղ, լոլիկ) տերևներում, պտուղներում, կորիզներում, արմատներում: Բնական ծագում ունեցող պլիֆենոլները հզոր հակաօքսիդանտներ են, որոնք պաշտպանում են բջիջները ազատ ռադիկալների բացասական ազդեցությունից, նպաստում դրանց նորմալ գործունեությանը, ինչպես նաև դանդաղեցնում օրգանիզմի ծերացման գործընթացը:

Տանիները օգտագործվում են նաև որպես հակաբակտերային, հակաբորբոքային միջոցներ, հակաթույն սնդիկի և կապարի

աղերով թունավորումների դեպքում, արյունահոսությամբ  
դադարեցման և այլ նպատակների համար: Տանիները նպաստում են  
լորձաթաղանթներում և մաշկի վերին շերտերում սպիտակուցային  
մոլեկուլների խտացմանը և ամրացմանը, որն այս հատվածներին  
դարձնում է պրակտիկորեն անթափանցելի և առավել կայուն  
արտաքին ազդեցությունների նկատմամբ:

Պոլիֆենոլների տեղափոխումը կենդանի օրգանիզմներում  
իրականանում է տարբեր մեխանիզմներով. պարզ դիֆուզիայի,  
օսմոսի, փոխադրող սպիտակուցների հետ կապման միջոցով:  
Փոխադրող սպիտակուցների դասին են պատկանում շիճուկային  
ալբումինները, հեմոգլոբինը (ՅԲ), միոգլոբինը (ՄԲ),  
հեմոցիանինը (ՅԳ) և այլն: Դրանք տարբեր կենդանի  
օրգանիզմներում ծրագրավորված իրականացնում են այս կամ այն  
դասի նյութերի տեղափոխումը դեպի թիրախային մոլեկուլներ:  
Օրինակ, ՅԲ-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: Այս առումով  
նման գործընթացների կարգավորումը հանդիսանում է արդիական  
խնդիր, որի պարզաբանման համար անհրաժեշտ է ուսումնասիրել  
սպիտակուցների տարբեր լիզանդների հետ միաժամանակյա  
փոխազդեցությունների թերմոդինամիկական և կինետիկական  
օրինաչափությունները, ինչպես նաև պարզել փոխազդեցության  
հետևանքով առաջացած կոմպլեքսների կայունությունը, սպիտա-  
կուցների կառուցվածքային դարձելի և ոչ դարձելի  
փոփոխությունները:

Կենսամակրոմոլեկուլ - լիզանդ փոխազդեցությունների  
ուսումնասիրությունների համար լայն կիրառություն են գտել  
ֆիզիկաքիմիական մեթոդները (մածուցկաչափություն,  
խտաչափություն, կալորիաչափություն), սպեկտրաչափական  
(ինֆրակարմիր, շրջանային դիֆրոմի, էլեկտրոնային կլանման  
և ֆլուորեսցենսային առաքման) և վերջին ժամանակներս արդեն

տեսական քվանտաքիմիական հաշվարկային մեթոդները, որոնք տալիս են բազմակողմանի և փոխադարձաբար լրացնող տեղեկություններ:

### ***Աշխատանքի նպատակը***

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

### **Դրված նպատակին հասնելու համար առաջադարձվել են հետևյալ խնդիրները.**

- որոշել ԳԹ-ի ջրային լուծույթների ֆիզիկաքիմիական առանձնահատկությունները;
- որոշել ԳԹ-ի հետ Մբ-ի և Յբ-ի կապման ֆիզիկաքիմիական և թերմոդինամիկական բնութագրերը;
- որոշել ԴԹ-ի հետ Մբ-ի և Յբ-ի կապման ֆիզիկաքիմիական և թերմոդինամիկական բնութագրերը;
- պարզել Յբ – ԴԹ, Մբ - ԴԹ կոմպլեքսների առաջացման մեխանիզմը (սպիտակուցի ֆլուորեսցենցիայի մարումը, բիմոլեկուլային բախման հաստատունը՝  $k_d$ ), և այդ կոմպլեքսների կառուցվածքային բնութագրերը (ռեզոնանսային էներգիայի անցման արդյունավետությունը՝  $E$ , Տյորստերյան հեռավորությունը՝  $R_0$ , սպիտակուցի և լիզանդի միջև հեռավորությունը՝  $r$ );
- ուսումնասիրել պոլիֆենոլների կապման ազդեցությունը սպիտակուցների ընդհանուր և հեմի կառուցվածքի վրա;
- ուսումնասիրել Յբ-ի ԴԹ-ի հետ առաջացրած կոմպլեքսների ջերմային կայունությունը  $30 - 70^{\circ}\text{C}$  ջերմաստիճանային տիրույթում:

### ***Գիտական նորույթը***

Այս աշխատանքի գիտական նորույթը կայանում է նրանում, որ առաջին անգամ ուսումնասիրվել է Յբ – ԴԹ, Մբ - ԴԹ, Յբ – ԳԹ, Մբ - ԳԹ

փոխազդեցությունների առանձնահատկությունները, և առաջացած կոմպլեքսների կայունությունը ու ֆիզիկաքիմիական բնութագրերը էլեկտրոնային կլանման և ֆլուորեսցենսային սպեկտրաչափական մեթոդների օգնությամբ: Օգտագործելով խաչափության մեթոդը՝ պարզվել է սպիտակուլցի մակերևութին տեղակայված ամինոթթվաին մնացորդների տարածական դասավորվածության ազդեցությունը Յբ – ի ծավալային հատկությունների և ռեակցիոնունակության վրա: Ֆլուորեսցենսային սպեկտրաչափական մեթոդի և տեսական քվանտաքիմիական հաշվարկների (կապերի երկարությունների, վալենտային և երկնիստ անկյունների, ինչպես նաև փոխազդեցության և ընդհանուր էներգիայի) օգնությամբ դիտարկվել ԳԹ-ի մոնոմեր և դիմեր ձևերի առկայությունը լուծույթներում:

Իրականացվել է սպիտակուլցների բարձր ջերմաստիճանային և քիմիական բնափոխման ու սուլմնասիրություններ էլեկտրոնային կլանման և ֆլուորեսցենսային առաքման սպեկտրաչափական և շրջանային դիֆրոնիզմի եղանակներով: Առաջին անգամ տրվել է Յբ – ի ջերմային բնափոխման ֆլուորեսցենսային եռչափանի սպեկտրների քանակական վերլուծությունը:

***Կիրառական նշանակությունը***

Կատարված ուսումնասիրությունների արդյունքները կարող են օգտագործվել սպիտակուլց-լիգանդ փոխազդեցությունների ու սուլմնասիրության տեսական դրույթների և փորձնական բազայի զարգացման համար: Այդ արդյունքները կարելի է կիրառել թթվածնի կապման և տեղափոխման հնարավորության և արդյունավետության վրա չազդող պոլիֆենոլների հիմքի վրա հակաբակտերային, հակաբորբոքային և հակաօքսիդանտային հատկություններով օժտված դեղամիջոցների օգտագործման նոր սխեմաների մշակման համար:

***Արդյունքների փորձարկումը***

Ատենախոսությունն որոշ դրույթներ ներկայացված են հետևյալ գիտաժողովներում.

1. Frontiers In Chemistry (25 – 29 August, 2013, Yerevan),
2. 4-th International Conference of Young Scientists (18 - 22 August, 2014, Yerevan),
3. IV Международная конференция «Современные проблемы химической физики» (5 - 9 октября, 2015, Ереван).

### ***Հրատարակումները***

Ատենախոսությունն մեջ ներկայացված նյութերի հիման վրա հրատարակված են 8 տպագիր աշխատանք, այդ թվում 5 հոդված և 3 թեզիս:

### ***Ատենախոսությունն կառուցվածքը***

Ատենախոսությունը կազմված է ներածություն, գրականակնարկ, փորձարարական մաս, արդյունքներ և դրանց քննարկումներ, հիմնական արդյունքներ և եզրակացություններ բաժիններից: Ներառում է օգտագործված հապավումների ցանկը, ցիտված գրականության ցանկը՝ կազմված 127 անուն տպագիր հրատարակումներից: Ատենախոսությունը շարադրված է 101 էջերում, փորձարարական տվյալները ներկայացված են 23 նկարների և 19 աղյուսակների տեսքով:

# ԳԼՈՒԽ 1

## ԳՐԱԿԱՆ ԱԿՆԱՐԿ

### 1.1 ՍՊԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐ: ԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔԸ, ԴԱՍԱԿԱՐԳՈՒՄԸ ԵՎ ՖՈՒՆԿՑԻԱՆԵՐԸ

Կենդանի բջջի բաղադրության 10-20 % - ը կազմում են սպիտակուցները: Դրանք երկար և ճկուն պոլիպեպտիդային շղթաներից կազմված կենսապոլիմերներ են: Յուրաքանչյուր պոլիպեպտիդային շղթա բաղկացած է բազմաթիվ պեպտիդային շղթաներից, որոնց կառուցվածքային միավորները հանդիսանում են միմյանց հետ պեպտիդային կապերով կապված ամինոթթվային մնացորդները: Սպիտակուցների պոլիպեպտիդային շղթաները կազմված են հիմնականում բնական ծագման 20  $\alpha$ -ամինոթթուներից, որոնցում  $\alpha$ -ածխածնի ատոմին միացած է  $-NH_2$  ամինոխումբ և  $-COOH$  կարբոքսիլային խումբ: Պոլիպեպտիդային շղթաներում գտնվող ամինոթթուների քանակը, տեսակը և հաջորդականությունը պայմանավորում են տվյալ սպիտակուցի կառուցվածքը և ֆունկցիաները: Յուրաքանչյուր սպիտակուց ունի միայն իրեն բնորոշ կառուցվածք և դրանով պայմանավորված կարևոր հատկություններ [1, 2]:

Սպիտակուցի կառուցվածքային փոփոխությունները և ռեակցիոնակունքությունը կախված են մի շարք գործոններից, որոնցից են ջերմաստիճանը, միջավայրի pH – ը, լիգանդների առկայությունը, սպիտակուցի ֆունկցիոնալ խմբերի տարածական դասավորվածությունը և այլն:

Սպիտակուցները բնութագրվում են կառուցվածքային 4 մակարդակներով՝ առաջնային, երկրորդային, երրորդային և չորրորդային [3, 4]: Այս կառուցվածքները ներկայացված են նկ. 1-ում:

**Առաջնային կառուցվածքը**  $\alpha$ -ամինոթթվային մնացորդներով պայմանավորված պոլիպեպտիդային շղթայի կազմավորումն է: Պեպտիդային կապն առաջանում է երկու հարևան ամինոթթվային մնացորդների  $\alpha$ -ամինո և կարբոքսիլային խմբերի միջև (տես նկ. 1 ա):

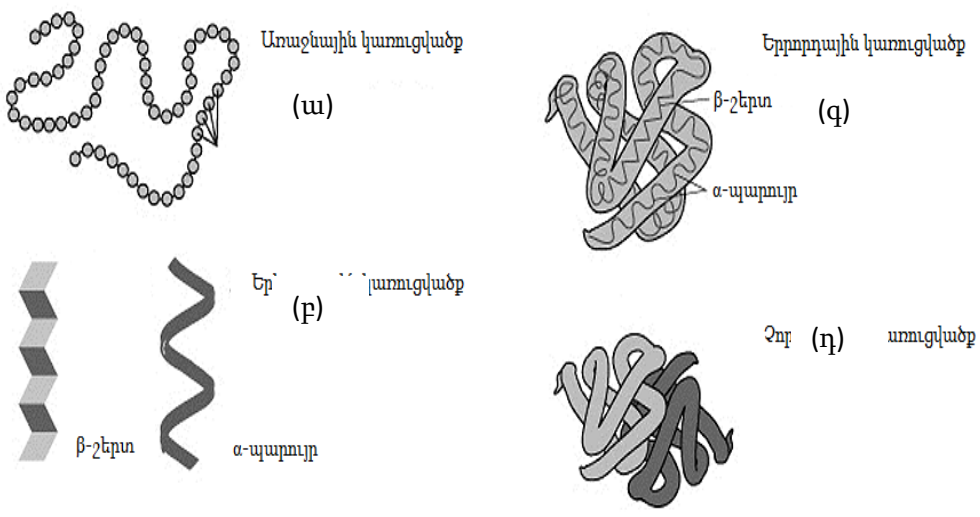


**Երկրորդային կառուցվածքը** (լիովին կամ մասնակիորեն պարունակում է կառուցվածք) առաջանում է պոլիպեպտիդային շղթայի մեկ ամինոթթվային մնացորդի NH խմբի ջրածնի և դրանից հետո գտնվող երրորդ ամինոթթվային մնացորդի C=O խմբի թթվածնի միջև ջրածնական կապերի առաջացման հետևանքով (տես նկ. 1բ): Այս կապերի մեծ քանակը ապահովում է սպիտակուլի բավականաչափ ամուր կառուցվածքը: Սպիտակուլների երկրորդային կառուցվածքի ամենատարածված տեսակներն են  $\alpha$ -պարուլյրը և  $\beta$ -շերտերը: Յնարավոր է ինչպես աջ, այնպես էլ ձախ  $\alpha$ -պարուլային կառուցվածքներ:  $\alpha$ -պարուլյրի քայլի երկարությունը կազմում է 5.44Å, տրամագիծը 10.5Å է և պարուլյրի յուրաքանչյուր քայլ համապատասխանում է 3.7 ամինոթթվային մնացորդի: Ներկայումս ցույց է տրվել, որ պոլիպեպտիդային շղթաներում ձախ  $\alpha$ -պարուլյրի կոնֆորմացիաներն ավելի քիչ կայուն են, քան աջ  $\alpha$ -պարուլյրի շղթաները:  $\beta$ -շերտային կառուցվածքը պայմանավորված է մեկ կամ մի քանի պոլիպեպտիդային շղթաների իրար գուգահեռ, կամ հակառակ ուղղված հատվածներից, որոնք կապված են միմյանց հետ ջրածնական կապերով: Սպիտակուլների մոտ  $\beta$  - շերտային կառուցվածքում ջրածնական կապերն ուղղված են ուղղահայաց պոլիպեպտիդային շղթաների առանցքներին, ի տարբերություն  $\alpha$ -պարուլյրի: Այստեղ, երկու հարևան պեպտիդային կապերի հարթություններն իրար նկատմամբ դասավորված են որոշակի անկյան տակ, որի հետևանքով համակարգը ձեռք է բերում շերտավոր կառուցվածք:

**Երրորդային կառուցվածքն** առաջանում է միևնույն պոլիպեպտիդային շղթայի ամինոթթվային մնացորդների ֆունկցիոնալ խմբերի միջև տարբեր բնույթի կովալենտային և ոչ կովալենտային փոխազդեցությունների հաշվին: Սպիտակուլների երրորդային կառուցվածքը տարածության մեջ եռչափ կառուցվածքի ձևավորումն է, որն առաջանում է դիսուլֆիդային կամրջակների (-S - S-) և իոնական փոխազդեցությունների արդյունքում (տես նկ.1գ):

**Չորրորդային կառուցվածքը** հետևանք է սպիտակուլների մոլեկուլներում տարբեր պոլիպեպտիդային շղթաների միմյանց

հետ փոխազդեցության: Յուրաքանչյուր առանձին պոլիպեպտիդային շղթան իրենից ներկայացնում է կենսաբանական ակտիվություն և չունեցող մոնոմեր, կամ ենթամիավոր: Սպիտակուլների կենսաբանական ակտիվությունը պայմանավորված է իր բաղադրության մեջ մտնող ենթամիավորների որոշակի տարածական դասավորվածությամբ: Չորրորդային կառուցվածքը կայունանում է ի հաշիվ ենթամիավորների միջև գործող ոչ կովալենտային փոխազդեցությունների: Չորրորդային կառուցվածքը հատուկ է միայն որոշ սպիտակուլներին, օրինակ հեմոգլոբինին, որի մոլեկուլը կազմված է 4 ենթամիավորներից, որոնցից յուրաքանչյուրն իրենից ներկայացնում է գլոբուլային սպիտակուլ (տես նկ.1 դ):



Նկ. 1

Սպիտակուլի կառուցվածքային 4 մակարդակներ՝ առաջնային, երկրորդային, երրորդային և չորրորդային:

Ըստ տարածական կառուցվածքի սպիտակուլները բաժանվում են 3 դասի՝

**Ֆիբրիլային սպիտակուլներ:** Ֆիբրիլային սպիտակուլները ունեն ձգված, թելանման կառուցվածք: Մեծամասնությամբ չորում անլուծելի են, ունեն բավականին մեծ մոլեկուլային զանգված և կարգավորված բարդ տարածական կառուցվածք, որը կայունացվում է տարբեր պոլիպեպտիդային շղթաների միջև գոյություն

ուևնեցող փոխազդեցությունների հաշվին: Հիմնականում հանդես են գալիս առաջնային և երկրորդային կառուցվածքներով: Որպես ֆիբրիլային սպիտակուլների օրինակ կարելի է նշել մաշկի, մազերի, եղունգների արտաքին շերտի բաղադրության մեջ մտնող կերատինը, կոլագենը, ֆիբրոինը և այլն, որոնք հիմնականում կատարում են պաշտպանողական և կառուցողական ֆունկցիաներ:

**Գլոբուլային սպիտակուլներ:** Այս խմբին պատկանող սպիտակուլներում արլիպեպոիդային շղթաները ունեն գլոբուլների նման խիտ ծրարված կառուցվածք: Ի տարբերություն ֆիբրիլային սպիտակուլների, գլոբուլային սպիտակուլների համար բացի առաջնային և երկրորդային կառուցվածքներից բնութագրական են նաև երրորդային և չորրորդային կառուցվածքները: Սպիտակուլների գլոբուլային կառուցվածքը կայունանում է հիդրոֆիլ – հիդրոֆոբ փոխազդեցություններով: Այս դասին պատկանող սպիտակուլներից կարելի է նշել ալբումինները, գլոբուլինները, ֆերմենտները, սպիտակուլային հորմոն ինսուլինը և այլն: Գլոբուլային սպիտակուլների հիմնական ֆունկցիաներից են տարբեր լիզանզների կապումը և տեղափոխումը (դեղանյութեր, թթվածին), կատարում են նաև կարգավորող և օժանդակող ֆունկցիաներ [5]:

**Խառը սպիտակուլներ:** Այս դասին պատկանող սպիտակուլները ունեն տարբեր կառուցվածքների համադրում. գլոբուլային գլխիկ և ֆիբրիլային պոչ կամ հակառակը: Օրինակ, միոզինը ունի ֆիբրիլային «պոչ» և գլոբուլային «գլխիկ» [6]:

Սպիտակուլները կենդանի օրգանիզմներում իրականացնում են տարբեր ֆունկցիաներ՝ կառուցողական, կարգավորող, պաշտպանիչ, ֆերմենտային կատալիզ, տրանսպորտային (էկզոգեն և էնդոգեն նյութերի տեղափոխում) և այլն:

### **Կառուցողական ֆունկցիաներ**

Կառուցողական ֆունկցիա իրականացնող սպիտակուլները մասնակցում են բջիջների գրեթե բոլոր օրգանոիդների առաջացմանը: Սրանցով է պայմանավորված ցիտոկմաֆի առաջացումը, որը բջիջներին և միջարք հյուսվածքների տալիս է ձև և կառուցվածք:

### **Կարգավորող ֆունկցիաներ**

Սա սպիտակուցների կողմից տեղեկատվության ընդունելու և փոխանցելու հատկությունն է, ինչով պայմանավորված է բջիջներում, կամ ամբողջ օրգանիզմում ընթացող պրոցեսների կարգավորումը: Այս ֆունկցիաները իրականացնող սպիտակուցների ազդեցությունը դարձելի է և որպես կանոն պահանջում է լիզանդի առկայություն:

### **Պաշտպանիչ ֆունկցիաներ**

Սպիտակուցների այս ֆունկցիաները մի քանի տեսակի են՝ քիմիական, իմունային և ակտիվ պաշտպանողական: Սպիտակուցների քիմիական պաշտպանական ֆունկցիաները պայմանավորված են տարբեր սպիտակուցների կողմից գանազան տոքսինների կապումով, որը բերում է վերջիններիս դետոքսիկացիային: Որպես պաշտպանողական ֆունկցիայով օժտված սպիտակուցներ կարելի է նշել լյարդում հանդիպող ֆերմենտները: Իմունային պաշտպանողական ֆունկցիաները ի հայտ են գալիս, երբ օրգանիզմում հայտնվում են տարբեր տեսակի հակամարմիններ (բակտերիաներ, հարուցիչներ, կենդանական և բուսական թույներ): Այս ժամանակ իմունային համակարգի կողմից սկսվում են արտադրվել հատուկ սպիտակուցներ - հակամարմիններ, որոնք կապում և չեզոքացնում են հարուցիչներին:

### **Ֆերմենտային կառավիզ**

Կենդանի օրգանիզմում ընթացող տարբեր տեսակի քիմիական ռեակցիաները կառավիզվում են սպիտակուցային մոլեկուլների (ֆերմենտների) կողմից: Յուրաքանչյուր ֆերմենտ կառավիզում է խիստ որոշակի կառուցվածքով մոլեկուլների (սուբստրատների) միջև փոխազդեցությունները: Օրինակ, ուրեազ ֆերմենտը կառավիզում է միայն միզանյութի հիդրոլիզը կամ ադենոզին եռֆոսֆորազ ֆերմենտը կառավիզում է միայն ադենոզին եռֆոսֆորական թթվի ճեղքումը:

### **Տրանսպորտային (փոխադրող) ֆունկցիաներ**

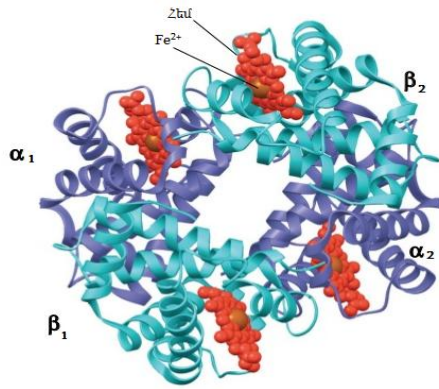
Կենդանի օրգանիզմներում սպիտակուցների տրանսպորտային ֆունկցիաները ամենակարևոր ֆունկցիաներից են, քանի որ պայմանավորում են տարբեր տեսակի մոլեկուլների կապումը և տեղափոխումը բջջի ներսում, բջջից բջջ, արյան մեջ, ինչպես

Նաև օրգանների հյուսվածքներով: Կենդանի օրգանիզմում տրանսպորտային սպիտակուցները ավելի հաճախ հանդիպում են արյան (Յբ, Մբ) և արյան պլազմայի (շիճուկային պլբումիններ) մեջ [7, 8]:

## 1.2 ՏՐԱՆՍՊՐՏԱՅԻՆ ՍՊԻՏԱԿՈՒ ՑՆԵՐ: ԿԱՌՈՒ ՑԿԱՃԲԸ, ՏԵՍԱԿՆԵՐԸ ԵՎ ՓՈԽԱԶԴԵՑՈՒ ԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Կենդանի օրգանիզմներում չափազանց մեծ է տրանսպորտային սպիտակուցների դերը՝ պայմանավորված տարբեր բնույթի միացությունների կապամբ և փոխադրմամբ դեպի հյուսվածքներ: Տրանսպորտային սպիտակուցները շատ հաճախ իրենց կառուցվածքով գլոբուլային են, որոնց բնութագրական են սպիտակուցների առաջնային, երկրորդային, երրորդային և չորրորդային կառուցվածքները: Սպիտակուցների այս դասին են պատկանում Յբ – ը, Մբ – ը, Յգ – ը, շիճուկային ալբումինները և այլն [9 - 11]: Օրգանիզմում գոյություն ունեցող տրանսպորտային սպիտակուցներից առավել հայտնի են շիճուկային ալբումինները, որոնք կատարում են տարբեր դեղամիջոցների կապումը և տեղափոխումը դեպի օրգանիզմի տարբեր հատվածներ, սակայն առանձնակի նշանակություն ունեն Յբ – ը և Մբ - ը: Այս սպիտակուցների ամենակարևոր ֆունկցիան մոլեկուլային թթվածնի կապումը, պահեստավորումը և տեղափոխումն է ամբողջ օրգանիզմով, ինչպես նաև ածխաթթու գազի դուրս բերումը:

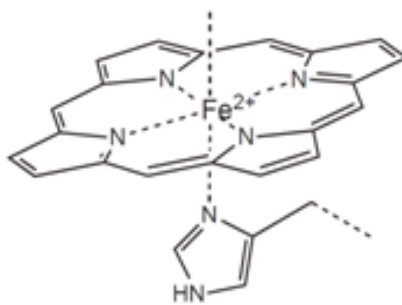
Մասնավորապես, կենդանի օրգանիզմում Յբ-ը կապում է թթվածինը և մատակարարում այն դեպի հյուսվածքներ, իսկ Մբ-ը պահեստավորում է թթվածինը մկաններում [12]: Յբ-ը երկաթ պարունակող բարդ սպիտակուց է, որը ողնաշարավորների մոտ պարունակվում է էրիթրոցիտներում, իսկ անողնաշարավորների մոտ՝ արյան ալազմայում: Յբ-ը չորրորդային կառուցվածքով բնութագրվող սպիտակուց է, որը պատկանում է քրոմոսպիտակուցների դասին. պարունակում է պիգմենտային պրոստետիկ խումբ՝ հեմ: Յբ-ի կառուցվածքը բերված է նկ. 2-ում, իսկ հեմի խմբի կառուցվածքը՝ նկ. – 3 ում: Պրոստետիկ խումբ հեմն իրենից ներկայացնում է պրոտոպորֆիրինի IX կոմպլեքս, որը պատկանում է պորֆիրինային մնացորդների  $Fe^{2+}$ -ի հետ միացությունների դասին [13,14]: Թթվածնի տրանսպորտի իրականացումը հեմոգլոբինով անմիջականորեն կապված է պրոստետիկ խմբի մեջ մտնող  $Fe^{2+}$ -ի հետ մոլեկուլային թթվածնի դարձել իորեն կապմամբ [15]:



Նկ. 2 Յբ - ի

$\alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2$  չորսը

արլի պեպտիդային շղթաները:



Նկ. 3 Յեմ խմբի

կառուցվածքը:

Յբ-ի մոլեկուլում  $Fe^{2+}$  - ը բնութագրվում է օկտաէդրիկ կոորդինացմամբ, այսինքն կապվում է 6 լիգանդների հետ, որոնցից 4-ը ներկայացված են միևնույն հարթության մեջ գտնվող պորֆիրինային օղակների ազոտի ատոմներով: Մյուս 2 կոորդինացիոն դիրքերը գտնվում են առանցքի վրա՝ պորֆիրինի հարթության ուղղահայաց, որոնցից մեկը զբաղված է 93-րդ դիրքում գտնվող հիստիդինային (Hys - 93) ամինոթթվային մնացորդի ազոտի ատոմով:

Յբ-ի մեկ մոլեկուլը կարող է դարձել իորեն կապել թթվածնի 4 մոլեկուլ: Թթվածնի կապումը հեմոգլոբինի հետտեղի է ունենում կոոպերատիվ թթվածնի մեկ մոլեկուլի կապումը հեշտացնում է ևս երեք թթվածնի մոլեկուլների կապումը [16]: Յբ-ը բավականին լավ կապում է նաև ածխածնի մոնօքսիդը՝ առաջացնելով կարբօքսիհեմոգլոբին: Յբ-ը բաղկացած է 4 կառուցվածքային միավորից, որոնք իրենցից ներկայացնում են արլի պեպտիդային շղթաներ  $\alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2$  (տես Նկ. 2): Յբ - ի մոլեկուլում 2 $\alpha$  - շղթաները

բաղկացած են 141, իսկ 2 $\beta$  շղթաները՝ 146 ամինոթթվային մնացորդներից [17]: Այս շղթաներում ամինոթթվային մնացորդների հաջորդականությունը տարբերվում է միմյանցից: Յբ – ի մոլեկուլում  $\alpha$ -, և  $\beta$ -շղթաները ունեն պարուրած կառուցվածք, որոնք կայունացած են նրանց միջև գործող հիդրոֆոբ փոխազդեցությունների շնորհիվ: Յբ-ի ամինոթթվային կազմը ներկայացված է աղյուսակ 1 – ում:

Աղյուսակ

1

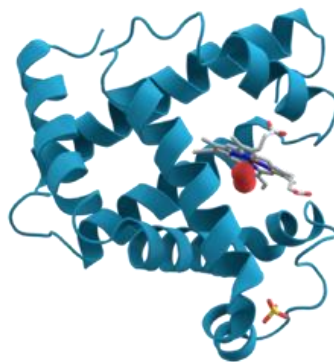
Յբ – ի ամինոթթվային կազմը:

Ամինոթթվային մնացորդ	$\alpha$ -Յբ	$\beta$ -Յբ	Ամինոթթվային մնացորդ	$\alpha$ -Յբ	$\beta$ -Յբ
Լիզին	11	11	Ալանին	21	15
Յիստին	10	9	Ի-Ցիստին	1	2
Արգինին	3	3	Վալին	13	18
Ասպարտատ	12	13	Սեթինին	2	1
Թրեոնին	9	7	Իզուլեյցին	0	0
Սերին	11	5	Լեյցին	18	18
Գլուտամին	5	11	Թիրոզին	3	3
Պրոլին	7	7	Ֆենիլալանին	7	8
Գլիցին	7	13	Տրիպտոֆան	1	2
Ընդհանուր				141	146

Յբ – ը պարունակում է վեց տրիպտոֆանային (Trp), երեսուն ֆենիլալանինային (Phe) և տասներկու թիրոզինային (Tyr) ամինոթթվային մնացորդ: Յբ – ի մոլեկուլում առկա վեց Trp – ային



մնացորդներից մեկական մնացորդ գտնվում է  $\alpha$  – շղթաներից յուրաքանչյուրի վրա և երկուական մնացորդ՝  $\beta$  – շղթաներից յուրաքանչյուրի վրա [18]: Արյան մեջ հանդիպող գլոբուլային սպիտակուցներից  $\beta$ -ին կառուցվածքով բավական նման սպիտակուց է Մբ-ը, որն ի տարբերություն  $\beta$  – ի, պարունակում է միայն մեկ պրոլին պեպտիդային շղթա և մեկ պրոստետիկ հեմ խումբ [19]: Կենդանի օրգանիզմներում, Մբ – ը հիմնականում հանդիպում է սրտամկանում և կմախքային մկաններում: Այն իրականացնում է մկաններում մոլեկուլային թթվածնի պահեստավորումը և այն հասցնում բջիջների օքսիդացնող համակարգին [20]: Մբ-ը  $8 \alpha$  – շղթաներից բաղկացած սպիտակուց է, որը պարունակում է 153 ամինոթթվային մնացորդ: Այս սպիտակուցի մոլեկուլը ունի սֆերիկ կառուցվածք, որի չափսերն են  $4.5 \times 3.5 \times 2.5$  նմ: Համաձայն ռենտգենակառուցվածքային հետազոտության տվյալների, Մբ – ի պրոլին պեպտիդային շղթայի մոտավորապես 85%-ը ունի  $\alpha$ -պարուրած և կառուցվածք [21,22]: Մբ – ը պարունակում է երկու Trp – ային մնացորդ: Դրանցից առաջինը տեղակայված է պրոլին պեպտիդային շղթայի 7 – ռդ դիրքում՝ Trp – 7, որն ուղղված է դեպի ջուրը (հիդրոֆիլ է), իսկ մյուսը 14 – ռդ դիրքում է՝ Trp – 14, որն ուղղված է դեպի սպիտակուցի հիդրոֆոբ մասը: Մբ – ի կառուցվածքը ներկայացված է նկ. – 4 ում:



Նկ. 4 Մբ - ի  $8\alpha$  - շղթաներից բաղկացած տարածական կառուցվածքը:

$\beta$ բ - ը և Մբ -ը նման են իրար ոչ միայն առաջնային կառուցվածքով (ամինոթթվային մնացորդների հաջորդականությամբ), այլ նաև երկրորդային կառուցվածքով: Երկու սպիտակուցներն էլ հիմնականում բաղկացած են  $\alpha$  –

պարույրներից, որոնք զուգորդվում են միմյանց հետ նմանատիպ ձևով [18, 22]: Յբ - ը և Մբ -ը կենդանի օրգանիզմներում ոչ միայն կապում և տեղափոխում են թթվածին ու ածխաթթու գազ, այլ նաև փոխազդում են այլ միացությունների հետ [23-30]:

Մասնավորապես, հայտնի է, որ Յբ - ը դարձել ի որոն կապում և տեղափոխում է իսատինների շարքին պատկանող որոշ միացություններ՝ 1-մեթիլ իսատին և 1-ֆենիլ իսատին: Իսատինները հանդիսանում են ինդոլի ածանցյալները, որոնք կենսաբանական բարձր ակտիվություն ունենցող միացություններ են:

Տևոր եսցենտային սպեկտրաչափության եղանակով կատարված չափումները ցույց են տվել, որ 1-ֆենիլ - և 1-մեթիլ - իսատինները փոխազդում են Յբ-ի հետ առաջացնելով կոմպլեքսներ: Հայտնի է, որ Լիգանդի հետ փոխազդեցության հետևանքով, Յբ-ի մոտտեղի ունենում T (ձգված) վիճակից անցում R (ավելի թուլացած) վիճակի: Շրջանային դիֆրոհմի սպեկտրաչափության եղանակով ցույց է տրվել, որ 1-մեթիլ իսատինի և 1-ֆենիլ իսատինի կապման դեպքում տեղի է ունենում Յբ-ի երրորդային կառուցվածքի փոփոխություն: Բացի այդ 1-ֆենիլ իսատինի կապումը կայունացնում է Յբ-ի R վիճակը և նպաստում է թթվածնի կապմանը, այն դեպքում, երբ 1-մեթիլ իսատինի կապումը որևէ ազդեցություն չունի Յբ-թթվածին փոխազդեցությունների վրա [31]:

Բացի իսատիններից, Յբ-ը կապում է նաև ֆենոլային խմբեր պարունակող կուրկումինը և ռեզվերատրոլը, տերաբենոիդների շարքին պատկանող դիհիդրոմիրիցետինը, սապրինների դասի ներկայացուցիչ գլիցիրիդինը և կենսաբանորեն ակտիվ այլ միացություններ [32-35]: Սրանք կապվելով Յբ-ի հետ, պատճառ են դառնում Յբ-ի երկրորդային կառուցվածքում փոփոխությունների, որոնք նպաստում են Յբ-ի մոլեկուլում α-պարույրների քանակի աննշան փոքրացմանը: Այս ամենի հետ մեկտեղ, ի տարբերություն կուրկումինի, գլիցիրիդինի և ռեզվերատրոլի, դիհիդրոմիրեցետինը առավելապես նպաստում է Յբ-ի կառուցվածքի կայունացմանը: Կուրկումին – Յբ

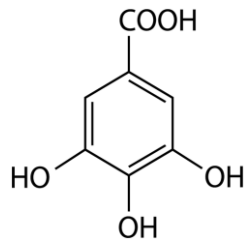
փոխազդեցություններ համար ֆլուորեսցենտային 3D սպեկտրները ցույց են տվել, որ Յբ-կուրկումին կապան կենտրոնները գտնվում են Յբ-ի Trp-ային և Tyr-ային մնացորդների շրջակայքում, որի պատճառով էլ տեղի է ունենում Յբ-ի ֆլուորեսցենցիայի մարում: Այսինքն, կուրկումինի կապումը Յբ-ի հետ նույնպես չի ազդում Յբ - թթվածին փոխազդեցությունների վրա: Նմանատիպ երևույթ դիտվում է նաև դիհիդրոմիրեցիտինի համար. վերջինս աննշան փոփոխություններ է առաջացնում հեմ խմբի մոտակայքում՝ չփոխազդելով նրա հետ: Ռեզվերատրոլը և գլիցիրիկինը ևս չեն ազդում Յբ-ի կողմից թթվածնի կապան վրա: Յբ-ի և վերը թվարկած միացությունների միջև փոխազդեցությունների ուսումնասիրությունը կապված է նրանց կենսաբանական բարձր ակտիվության հետ: Յայտնի է, որ դրանք ունեն հակաօքսիդանտային, հակասնկային, հակաբակտերային հատկություններ, որոնց շնորհիվ վերջիններս մեծ հետաքրքրություն են ներկայացնում տարբեր տեսակի հիվանդությունների դեմ դեղանյութերի արտադրության մեջ: Նմանատիպ հակտություններով են օժտված նաև պոլիֆենոլային միացությունները [36 - 38]:

### 1.3 ՊՈԼԻՖԵՆՈԼՆԵՐ: ԿԱՌՈՒ ՑՎԱՃՔԸ ԵՎ ՀԱՏԿՈՒ ԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

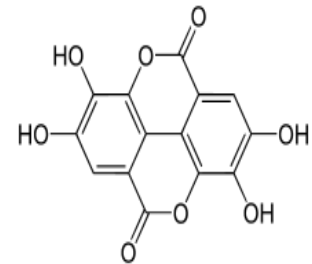
Պոլիֆենոլները բնության մեջ հանդիպող, ինչպես նաև արհեստական ճանապարհով սինթեզվող միացություններ են, որոնք պարունակում են մեծ թվով –OH խմբեր (ԴԹ, ԳԹ, ԷԼ ազաթթու, քերցետին, իզոֆլավոն, տրանս - ռեզվերատրոլ և այլն) [39, 40]: Բնական ծագում ունեցող պոլիֆենոլների ամենահայտնի և ամենակարևոր դասերից են տանինները, որոնք պարունակվում են տարբեր բույսերի (թեյ, սուրճ, կաղնի) և մրգերի (խաղող, նուռ, ելակ, ազնվամորի) կորիզների մեջ: Տանինները ամորֆ, յուրահատուկ թույլ հոտով, բաց դեղնավուն գունավորում ունեցող փոշիներ են, լուծվում են ջրում, էթանոլում և գլիցերինում: Հիմնականում ստանում են ակացիայի արմատներից, եղևնուց, խաղողի կորիզներից՝ ջրային էքստրակտի ձևով [41]: Հայտնի է, որ տանինները փոխազդում են ալկալիների, ժելատինի, թեթև մետաղների, երկաթի, աղերի, ուժեղ օքսիդիչ ազեոնների և ցինկի սուլֆատի հետ՝ առաջացնելով ջրալուծ կոմպլեքսներ:

Տարբերում են հիդրոլիզվող և չհիդրոլիզվող տանիններ [42]: Հիդրոլիզվող տանինների դասին պատկանող որոշ միացությունների կառուցվածքային բանաձևերը տրված են նկ. 5 - ում: Հիդրոլիզվող տանինները գալաթթվի բարդ եթերներն են, կամ վերջինիս անալոգ միացությունները՝ բազմատոմ սպիրտների հետ, օրինակ՝ գլյուկոզի հետ: Այդ իսկ պատճառով ԷԼ հիդրոլիզվող տանինները շատ հաճախ կոչվում են նաև գալոտանիններ: Հիդրոլիզվող տանինների ամենապարզ օրինակը ԳԹ-ն (3,4,5 – տրիհիդրօքսիբենզոյական թթու) է, որը պարունակվում է դաբաղող նյութերի մեջ [43]: Հիդրոլիզվող տանինների դասին պատկանող միացություններից կարելի է առանձնացնել նաև ԴԹ – ն [44]: Այն բարդ եթեր է, որը բաղկացած է մեկ մոլեկուլ գլյուկոզից և տասը մոլեկուլ ԳԹ-ից (տես նկ. 5.): ԴԹ – ն, ինչպես և բազմաթիվ պոլիֆենոլներ, բավականին լայն տարածում ունեն բուսական աշխարհում: ԴԹ-ն տանինների հետ խառնուրդի տեսքով ստացվում է խաղողի կորիզներից ջրային էքստրակտի ձևով [45]: ԴԹ-ն հայտնի է իր կենսաբանական մեծ

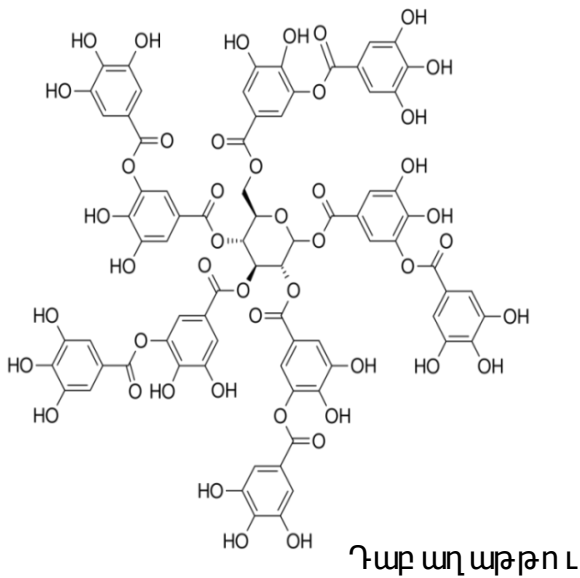
ակտիվ ու թյամբ, մասնավորապես ուժեղ հակաօքսիդանտային, հակաբակտերային հատկություններով: Դժ-ի այս հատկությունները պայմանավորված են մեծ թվով հիդրօքսիլ խմբերի առկայությամբ [39]:



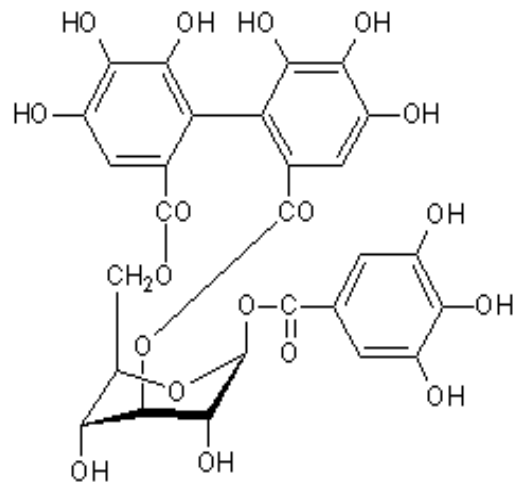
Գալ աթթու



Էլ ագաթթու



Եպիգալաթթու

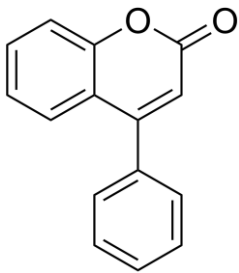


Կորիլագին

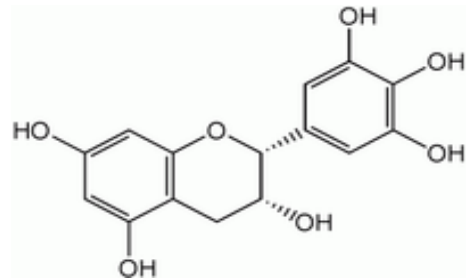
Նկ. 5. Հիդրոլիզվող որոշ տանինների կառուցվածքային բանաձևերը:

Չհիդրոլիզվող տանինները իրենցից ներկայացնում են \$Ֆլավոնոիդների ածանցյալներ, որոնք պարունակում են թթվածնի հետերոատոմ: Այս դասին պատկանող միացություններից մի քանիսի կառուցվածքային բանաձևերը տրված են նկ. 6-ում: \$Ֆլավոնոիդները բնական, լիպոֆիլ, ինչպես նաև հիդրոֆիլ \$ֆենոլային միացություններ են [46, 47]: Բազմաթիվ \$Ֆլավոնոիդներ հանդիսանում են պիգմենտներ, որոնք բուսական

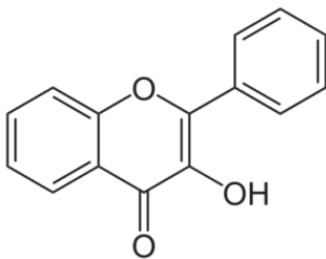
հյուսվածքներին տալիս են բազմերանգ գույներ (դեղին, նարնջագույն և կարմիր): Սրանք հանդիսանում են հումք կոնդենսացված տանիներին ստացման համար: Այս միացությունները մեծ կիրառություն են գտել նաև բժշկության մեջ, որպես սննդային հակաօքսիդանտներ: Ֆլավոնոիդները ևս օժտված են կենսաբանական բարձր ակտիվությամբ [48, 49]:



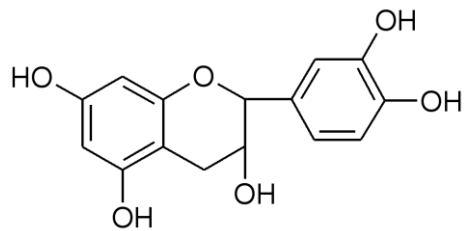
Ֆլավոն



Կառտեխին



Ֆլավոնոլ



Գալոկառտեխին

Նկ. 6. Չհիդրոլիզվող տանիներին որոշ ներկայացուցիչների կառուցվածքային բանաձևերը:

Տանիներին դաբաղող հատկությունները պայմանավորված են կենսաապրիմերների հետ ամուր կապեր առաջացնելու ունակությամբ [50]:

Պոլիֆենոլները պաշտպանում են բույսերը, ծառերը տարբեր տեսակի մանրէներից, որի պատճառը, հավանաբար, նաև մանրէների համար տանիներին ոչ դուրեկան համն է: Հիմնվելով պոլիֆենոլների կենսաբանական բարձր ակտիվության վրա, ժամանակակից կենսաբժշկական քիմիայում մեծ ուշադրություն է դարձվում նաև մարդու օրգանիզմի վրա դրանց ազդեցության ուսումնասիրությանը [51-52]: Այս պարագայում առաջնահերթ է

ուսումնասիրել պոլիֆենոլների հնարավոր տեղափոխումը մարդու օրգանիզմով, որն իրականացվում է տրանսպորտային սպիտակուցների միջոցով: Պոլիֆենոլները ունեն մեծ ռեակցիոնունակություն և կարող են կապեր առաջացնել սպիտակուցների ամինոթթվային մնացորդների և -SH խմբերի հետ: Բացի այդ, ֆենոլային խումբը հանդիսանում է ջրածնի ատոմի դոնոր, որը սպիտակուցի կարբօքսիլային խմբերի հետ կարող է առաջացնել ամուր ջրածնական կապեր: Որպեսզի պոլիֆենոլները ունենան մեծ խնամակցություն սպիտակուցների նկատմամբ, դրանք պետք է կարողանան ներթափանցել սպիտակուցի մոլեկուլի ներֆիբրիլային մասով և կապվել պեպտիդային շղթայի հետ [53-55]: Պոլիֆենոլների կապումը սպիտակուցների հետ կարող է հանգեցնել վերջիններիս ֆիզիկաքիմիական հատկությունների այնպիսի փոփոխությունների, ինչպիսիք են լուծելիությունը, նատիվ կառուցվածքը, ջերմային կայունությունը, ռեակցիոնունակությունը և այլն [56]: Սպիտակուցի և պոլիֆենոլի միջև կոմպլեքսի առաջացումը կախված է ջերմաստիճանից, միջավայրի թթվայնությունից, լիզանդի կոնցենտրացիայից, սպիտակուցի և պոլիֆենոլի մոլեկուլների կառուցվածքից ու չափսերից, կողմնակի նյութերի առկայությունից և այլն [57]:

Պոլիֆենոլ – սպիտակուց դարձելի կապման ժամանակ առաջացող կոմպլեքսները կայունանում են հիմնականում ոչ կովալենտային՝ հիդրոֆոբ և վան դեր վալսյան փոխազդեցությունների, ջրածնական կապերի հաշվին, իսկ ոչ դարձելի կապման դեպքում սպիտակուցի և պոլիֆենոլի մոլեկուլների միջև տեղի է ունենում կովալենտային կապի առաջացում: Հայտնի է, որ սպիտակուց-պոլիֆենոլ կոմպլեքսը կայունանում է հիմնականում ի հաշիվ հիդրոֆոբ փոխազդեցությունների և ջրածնական կապերի [58, 59]: Օրինակ, ԳԹ – ի և լիզոցիմ սպիտակուցի միջև տեղի ունեցող փոխազդեցության հետևանքով առաջացող կոմպլեքսը կայունանում է ի հաշիվ ջրածնական կապերի և վան դեր վալսյան փոխազդեցությունների, իսկ ԳԹ-ի և մարդու շիճուկային պրոմիլինի (ՄՇԱ) միջև առաջացող կոմպլեքսը՝ ի հաշիվ հիդրոֆոբ փոխազդեցությունների [60]: Այս երևույթի պատճառայն է, որ ԳԹ-ի

համար ՄՇԱ-ի գլոբուլի հասանելի մակերևույթի հիդրոֆոբությունը ավելի մեծ է, քան լիզոցիմի [61]: Ուսումնասիրված է նաև ԴԹ-ի և որոշ պոլիֆենոլների փոխազդեցությունները ցուլի շիճուկային ալբումինի (ՏՇԱ) ու ՄՇԱ-ի հետ: Ցույց է տրվել, որ ի համեմատորոշ միացությունների, ԴԹ-ն ելնելով իր տարածական կառուցվածքից մարում է այս սպիտակուցների ֆլուորեսցենցիան բավական ինտենսիվ և մարման հաստատունները ընդունում են ավելի մեծ արժեքներ [62]: ՏՇԱ-ն փոխազդում է նաև ռեզվերատրոլի հետ, ընդ որում ռեզվերատրոլը ՏՇԱ-ի հետկարող է կապվել երկու տարբեր ձևերով, որոնցից մեկն ունի բարձր խնամակցություն, իսկ մյուսը ավելի ցածր: Ասվածը բացատրվում է նրանով, որ ՏՇԱ-ն պարունակում է երկու Trp-ային մնացորդ, որոնք կախված պայմաններից տարբեր չափով են հասանելի լիզանդի մոլեկուլին: Ցույց է տրվել, որ ռեզվերատրոլի կապումը ՏՇԱ-ի հետ առաջ է բերում նաև աննշան կառուցվածքային փոփոխություններ [63]:

Հայտնի է, որ պոլիֆենոլների որոշ ներկայացուցիչներ (ԳԹ-ն, կատեխոլը, գալոլը և այլն) հանդիսանում են մետաղների հետ ուժեղ խելատագոյացուցիչներ: Մետաղի իոնների հետ (օրինակ՝  $Fe^{2+}$  կամ  $Fe^{3+}$ ) փոխազդելու համար, պոլիֆենոլները պետք է լինեն դեպրոտոնացված վիճակում: Ցույց է տրվել, որ պոլիֆենոլների դեպրոտոնացումը կախված է այդ միացության դիսոցման հաստատունից ( $pK_a$ ) և միջավայրի pH-ից: Մասնավորապես, երբ միջավայրի pH-ը փոքր 7.2-ից, որը համապատասխանում է ֆիզիոլոգիական պայմաններին, և  $pK_a$ -ը տատանվում է 7-9-ի սահմաններում, պոլիֆենոլները հեշտությամբ դեպրոտոնացվում են և կապվում երկաթի հետ՝ առաջացնելով ամուր կոմպլեքսներ [64, 65]: Դեպրոտոնացված պոլիֆենոլային լիզանդները և մետաղի իոնների հետ կապման ժամանակ առաջացող կոմպլեքսները ունենում են բավականին մեծ կապման հաստատուն  $L$  յուրաքանչյուրի առկայությամբ, որոնք պարունակում են  $Fe^{3+}$  իոններ: Օրինակ, կատեխոլի և գալոլի դեպրոտոնացված ձևերը՝ կատեխոլատ և գալատ խմբերը  $Fe^{3+}$ -ի հետ առաջացնում են ամուր կոմպլեքսներ, որտեղ երեք կատեխոլատ (կամ գալատ) խմբերը



կապում են մեկ  $Fe^{3+}$ -ը խելատային կապով [66, 67]:  $Fe^{2+}$ -ը, ի տարբերություն  $Fe^{3+}$ -ի, ամուր կապեր չի առաջացնում պոլիֆենոլային լիգանդի թթվածնի ատոմների հետ, որի հետևանքով պոլիֆենոլ -  $Fe^{2+}$  առաջացող կոմպլեքսների կայունություն հաստատունների արժեքները ավելի փոքր է: Այս երևույթը կարող է բացատրվել նրանով, որ պոլիֆենոլ -  $Fe^{2+}$  կոմպլեքսների առաջացումը նախընտրվում է կատարել թթվածնազուրկ պայմաններում`  $Fe^{2+}$  -ի օքսիդացումը մինչև  $Fe^{3+}$  կանխելու համար, որի դեպքում առաջացող կոմպլեքսը բավականին անկայուն է:

Թթվածնի առկայության պայմաններում, կատեխոլի և գալոլի կոմպլեքսները  $Fe^{2+}$  -ի հետ օքսիդանում են մինչև  $Fe^{3+}$ -ի կոմպլեքսներ: Ընդ որում, գալատ կոմպլեքսի դեպքում  $Fe^{2+}$  -ի օքսիդացումը տեղի է ունենում ավելի արագ, քան կատեխոլատ կոմպլեքսի համար [68]: Ավելի ցածր pH-ի ( $pH < 7$ ) պայմաններում, գալոլ կամ կատեխոլատ լիգանդների կապումը  $Fe^{3+}$ -ի հետ կարող է բերել վերջինիս վերականգնմանը մինչև  $Fe^{2+}$  [69]:

## 1.4 ՄՊԻՏԱԿՈՒՑ – ԼԻԳԱՆԴ ՓՈԽԱԶԴԵՑՈՒ ԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՈՒ ՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒ ԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

### 1.4.1 ՏՆՈՒ ՈՐԵՍՅԵՆՏԱՅԻՆ ՄՊԵԿՏՐԱԶԱՓԱԿԱՆ ՄԵԹՈԴԻ ԿԻՐԱՌՈՒՄԸ ՄՊԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐԻ ԵՎ ՏԱՐԲԵՐ ԼԻԳԱՆԴՆԵՐԻ ՄԻՋԵՎ ՓՈԽԱԶԴԵՑՈՒ ԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՈՒ ՍՈՒՄՆԱՍԻՐՄԱՆ ՀԱՄԱՐ

Սպիտակուց – Լիգանդ փոխազդեցությունների ուսումնասիրությունների համար մեծ կիրառություն ունեն սպեկտրաչափական մեթոդները [70-73]: Տնկորեսցենտային առաքման, Էլեկտրոնային կլանման և շրջանային դիֆրոիզմի սպեկտրաչափական մեթոդները թույլ են տալիս որոշել սպիտակուցի - Լիգանդ փոխազդեցությունների թերմոդինամիկական և կինետիկական բնութագրերը, առաջացած կոմպլեքսների օպտիկական, կառուցվածքային առանձնահատկությունները, ինչպես նաև պարզել Լիգանդի ազդեցությունը սպիտակուցի կառուցվածքի վրան այլև:

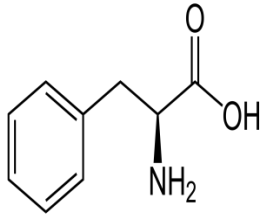
Տնկորեսցենցիայի երևույթը \$ճոտլյումինեսցենցիայի տարատեսակներից է: Տնկլյումինեսցենցիան նյութի լուսարձակումն է, երբ մոլեկուլը Էլեկտրոնային գրգռված վիճակից անցնում է հիմնական վիճակին: Տնկորեսցենցիայի երևույթը դիտվում է այն դեպքում, երբ նյութի գրգռված վիճակից հիմնական վիճակին անցնելիս մոլեկուլի սպինի (մոլեկուլի սպինի) փոփոխություն տեղի չի ունենում, իսկ այն երևույթը որի դեպքում տեղի է ունենում սպինի փոփոխություն, կոչվում է \$ոս\$որեսցենցիա:

Կենսապոլիմերներից ոչ բոլորն են օժտված սեփական \$Տնկորեսցենցիայի հատկությամբ, քանի որ մոլեկուլի \$Տնկորեսցենցիան պայմանավորված է հատուկ \$Տնկորո\$որ խմբերի առկայությամբ, հակառակ դեպքում օգտագործվում են արտաքին \$Տնկորո\$որներ (կամ այլ կերպ ասած նշանակիրներ), որոնցով նշանադրվում են չ\$Տնկորեսցենցող մոլեկուլները [74]:

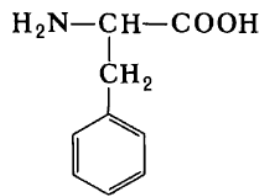
Որպես սեփական \$Տնկորեսցենցիա ունեցող կենսամոլեկուլներ կարելի է նշել սպիտակուցները:

Սափտակուցների մոլեկուլներում առկա Phe-ային, Trp-ային և Tyr-ային ամինոթթային մնացորդները պայմանավորում են սափտակուցների սեփական ֆլուորեսցենցիան (տես նկ. 7.) [75]:

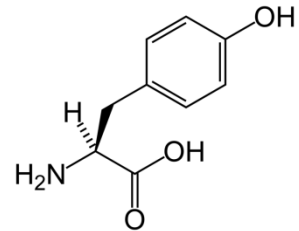
(ա)



(բ)



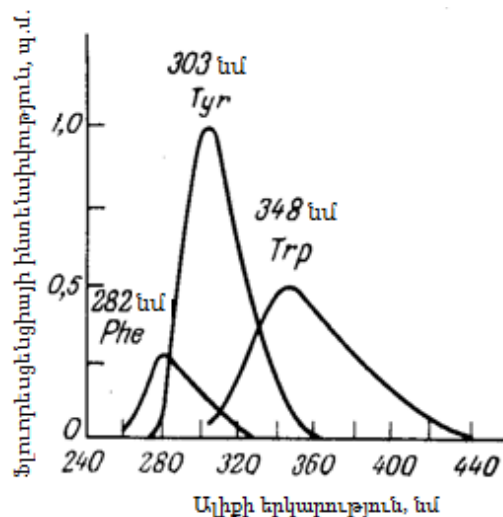
(գ)



Նկ. 7 Երեք ֆլուորեսցենցող ամինոթթուների կառուցվածքները:

(ա) - Trp, (բ) - Tyr և (գ) - Phe:

Չնայած այս երեք արոմատիկ ամինոթթվային մնացորդների առկայությանը, սափտակուցների ֆլուորեսցենցիան հիմնականում պայմանավորված է Trp – ային մնացորդներով [76]:  $\lambda = 280$  նմ և ավելի ալիքի երկար ալիքով գրգռման դեպքում սափտակուցների ֆլուորեսցենցիան դիտվում է 300 - 350 նմ տիրույթում: Նկ. 8-ում բերված է սափտակուցների արոմատիկ ամինոթթուների ֆլուորեսցենցիային առաքման սպեկտրները:



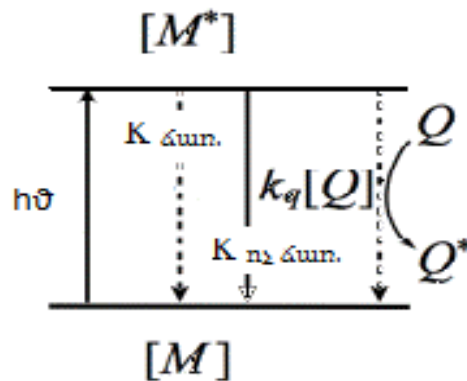
Նկ. 8 Սափտակուցների արոմատիկ ամինոթթուների ֆլուորեսցենցիային առաքման սպեկտրները:

Հիմնականում Trp – ային մնացորդներով ի հայտ եկող առաքումը պայմանավորված է մի շարք գործոններով: Առաջինը՝ Phe-ի քվանտային ելքը ( $\phi$ ) չափազանց փոքր է՝ մոտ 0.03, և այդ իսկ պատճառով վերջինիս  $\Phi$  նուորեսցեսցիան սպիտակուցների մոլեկուլում շատ հազվադեպ է դիտվում: Tyr-ի և Trp-ի առաքումը դիտվում են 303 և 348 նմ երկարության տակ, որոնց առաքումները շատ մոտ են, իսկ  $\phi$  - ի արժեքները գրեթե չեն տարբերվում՝ 0.14 և 0.13: Բացի այդ, դիտվում է ռեզոնանսային էներգիայի անցում Phe-ային մնացորդներից դեպի Tyr-ային մնացորդներին, ապա՝ Trp-ային մնացորդներին: Պարզվել է, որ շատ դեպքերում բացակայում է նաև Tyr-ային մնացորդների  $\Phi$  նուորեսցեսցիան: Սա բացատրվում է նրանով, որ տեղի է ունենում ռեզոնանսային էներգիայի անցում Tyr-ային մնացորդներից Trp-ային մնացորդներին: Մյուս կողմից, Tyr-ի  $\Phi$  նուորեսցեսցիան կարող է մարվել վերջինիս մոտ գտնվող կարբոքսիլ և չլիցքավորված ամինոխմբերով: Արդյունքում, սպիտակուցների  $\Phi$  նուորեսցեսցիան հիմնականում պայմանավորված է Trp - ային մնացորդներով, ավելի ճիշտ կլինի ասել Trp - ի ինդոլային օղակով, որի կլանումը ի հայտ է գալիս  $\lambda = 280$  նմ ալիքի երկարության տակ, իսկ առաքումը՝  $\lambda = 340$  նմ:  $\lambda = 295$  նմ գրգռման դեպքում չի գրգռվում ոչ միայն Phe-ը, այլ նաև Tyr-ը: Արդյունքում դիտվում է միայն Trp-ային մնացորդների առաքումը: Անհրաժեշտ է նշել, որ Trp – ի առաքումը, ավելի ճիշտ ինդոլային օղակի առաքումը, բավականին զգայուն է միջավայրի բևեռայնության նկատմամբ: Միայն Trp-ային մնացորդների առաքման ուսումնասիրությունը օգտագործում են տեղի ունեցող կոնֆորմացիոն փոփոխությունները գնահատելու համար, հատկապես այն սպիտակուցների համար, որոնք պարունակում են 1 Trp – ային մնացորդ [76]:

Լիզանդների հետ կապման հետևանքով կարող է տեղի ունենալ ինչպես սպիտակուցների  $\Phi$  նուորեսցեսցիանային ազդանշանի ինտենսիվության փոքրացում ( $\Phi$  նուորեսցեսցիայի մարում), այնպես էլ տեղաշարժ դեպի կարճ, կամ երկար ալիքային մարգ:  $\Phi$  նուորեսցեսցիայի մարումը հանդիսանում է կարևոր երևույթ սպիտակուց – լիզանդ փոխազդեցությունների ուսումնասիրման

համար: Ֆլուորեսցենցիայի մարման վրակարող են ազդել մի շարք գործոններ, որոնցից կարելի է նշել էներգիայի ոչ ճառագայթային անցումը, միջավայրի pH – ը, ջերմաստիճանը և այլն [74]:

Չայտնի են ֆլուորեսցենցիայի մարման երկու հիմնական մեխանիզմներ՝ դինամիկ և ստատիկ, հնարավոր է նաև խառը մարում: Ֆլուորեսցենցիայի դինամիկ մարման ժամանակ տեղի է ունենում գրգռված վիճակում գտնվող մարիչի դիֆուզիա դեպի ֆլուորոֆոր: Մարիչի հետ հպման արդյունքում ֆլուորոֆորը առանց ֆոտոն առաքելու վերադառնում է հիմնական վիճակ: Ֆլուորեսցենցիայի դինամիկ մարումը տեղի է ունենում առանց որևէ ֆոտոքիմիական ռեակցիայի (տես նկ. 9):



Նկ. 9 Ֆլուորեսցենցիայի դինամիկ մարման ժամանակ էներգետիկ մակարդակների միջև անցումները:

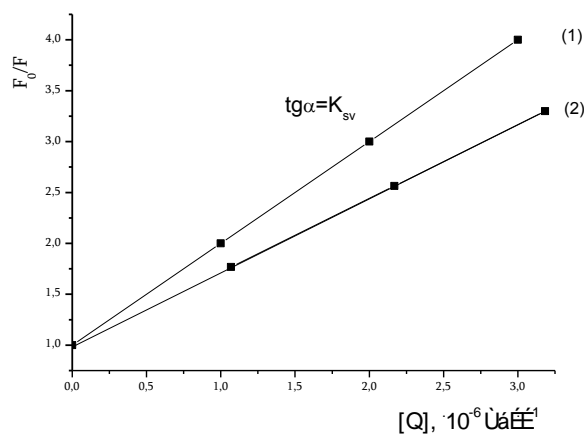
Ֆլուորեսցենցիայի դինամիկ մարումը նկարագրվում է Շտեռնի – Ֆոլմերի հավասարումով.

$$\frac{F_0}{F} = 1 + k_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{sv} [Q] \quad (1),$$

որտեղ  $F_0$ -ն ֆլուորեսցենցիայի ինտենսիվությունն է մարիչի բացակայության պայմաններում (ս.մ.),  $F$ -ը՝ ֆլուորեսցենցիայի ինտենսիվությունը մարիչի ներկայությամբ (ս.մ.),  $k_q$  – ն՝ բիմոլեկուլային բախման հաստատունը (լ.մոլ<sup>-1</sup>.վրկ<sup>-1</sup>),  $\tau$ -ն՝ ֆլուորոֆորի կյանքի տևողությունը (վրկ.),  $Q$ -ն՝ մարիչի

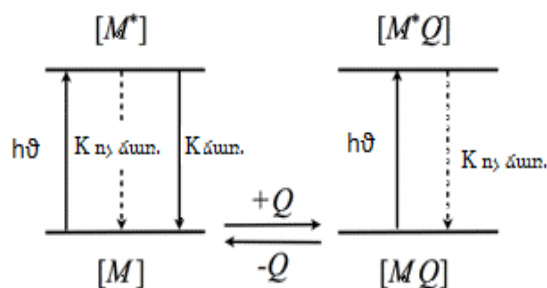
կոնցենտրացիան ( $\text{մոլ} \cdot \text{լ}^{-1}$ ),  $K_{SV}$  – ն՝ Շտեռնի – Ֆոլմերի հաստատունը ( $\text{լ} \cdot \text{մոլ}^{-1}$ ): Ինչպես տեսնում ենք հավասարումից, Շտեռնի – Ֆոլմերի կախվածությունը՝  $F_0/F = f([Q])$ , ուղղագծային է, որի թեքության անկյան տանգենսը հավասար է  $K_{SV}$ -ի (տես նկ.10):

Կախվածության ուղղագծային տեսքը ցույց է տալիս լուծույթում միատեսակ ֆլուորոֆորների առկայությունը, որոնք լուծիչի մոլեկուլների համար հավասարաչափ հասանելի են: Այն դեպքում, երբ առկա են երկու տիպի ֆլուորոֆորներ, որոնցից մեկը հասանելի է լուծիչին, դիտվում է գծային կախվածությունից շեղում դեպի  $[Q]$ -ի առանցքը:



Նկ.10 Շտեռնի – Ֆոլմերի կախվածությունը,  
 1. միատեսակ ֆլուորոֆորների համար, 2. երկու տիպի ֆլուորոֆորների համար:

Ստատիկ մարման դեպքում ֆլուորոֆորի և մարիչի միջև առաջանում է կոմպլեքս, որը չի ֆլուորեսցենցում: Այս կոմպլեքսների առաջացման սխեման բերված է նկ. 11-ում:



Նկ.11 Ֆլուորեսցենցիայի ստատիկ մարման ժամանակ էներգետիկ մակարդակների միջև անցումները:

Ֆլուորոֆորի ընհանուր կոնցենտրացիան արտահայտվում է հետևյալ հավասարումով՝

$$F_0 = [F] + [F - Q] \quad (2),$$

Տեղադրելով (1) հավասարման մեջ կստանանք.

$$K_s = \frac{[F_0] - [F]}{[F][Q]} = \frac{[F_0]}{[F][Q]} - \frac{1}{[Q]} \quad (3),$$

Կատարելով վերջնական ձևափոխում, կունենանք.

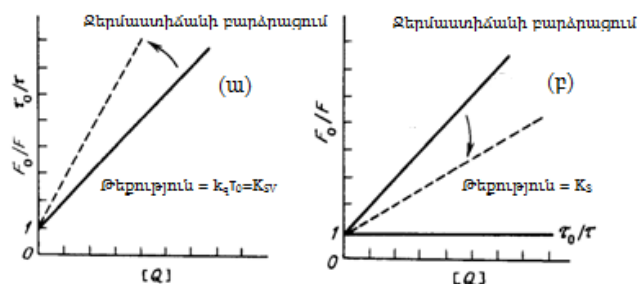
$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{sv}[Q] \quad (4),$$

Ֆլուորեսցենցիայի ստատիկ մարումը բնութագրվում է կոմպլեքսացոյացման հաստատունով, որը ստացվում է (5) հավասարումով.

$$K_s = \frac{[F - Q]}{[F][Q]} \quad (5),$$

որտեղ՝  $K_s$  – ը ստատիկ մարման (կոմպլեքսացոյացման) հաստատունն է ( $L^{-1}mol^{-1}$ ),  $[F]$  – ը՝ չկապված Ֆլուորոֆորի կոնցենտրացիան ( $mol \cdot L^{-1}$ ),  $[F-Q]$  – ն՝ կոմպլեքսի կոնցենտրացիան ( $mol \cdot L^{-1}$ ),  $[Q]$  – ն՝ մարիչի կոնցենտրացիան ( $mol \cdot L^{-1}$ ):

Մարման մեխանիզմերը միմյանցից հնարավոր է տարբերակել՝ ելնելով Շտեռնի-Ֆոլմերի կախվածության ջերմաստիճանի և միջավայրի մածուցիկության փոփոխություններից [74]: Շտեռնի - Ֆոլմերի կախվածության ջերմաստիճանի բարձրացումից կրած փոփոխությունը բերված է նկ.12 - ում:



Նկ. 12 \$L\$ ու որոշ ցենցիայի դինամիկ (ա) և ստատիկ (բ) մարու մների համեմատությամբ ունը կախված ջերմաստիճանի փոփոխությունից:

Նկ. 12 - ից տեսնում ենք, որ \$L\$ ու որոշ ցենցիայի և դինամիկ, և ստատիկ մարու մների համար շտեռնի – Ֆոլմերի կախվածությունը ունի գծային տեսք: Ինչպես արդեն նշվել է, դինամիկ մարման ժամանակ տեղի է ունենում գրգռված վիճակում գտնվող մարիչի դիֆուզիա դեպի \$L\$ ու որոշ: Յետևաբար, ջերմաստիճանի բարձրացումը կբերի \$k\_q\$-ի, հետևաբար \$K\_{sv}\$ –ի, մեծացմանը, քանի որ ջերմաստիճանի բարձրացման հետ մեծանում է նաև դիֆուզիան: Ստատիկ մարման դեպքում տեղի է ունենում հակառակ երևույթը՝ ջերմաստիճանի բարձրացմանը զուգընթաց \$K\_{sv}\$ – ն փոքրանում է, որի պատճառը կոմպլեքսի կայունության նվազում է:

Յայտնի է, որ ստատիկ մարման դեպքում \$L\$ ու որոշների որոշ մասի մոտ \$L\$ ու որոշ ցենցիան չի դիտում կոմպլեքսի մեջ կապված լինելու պատճառով: Այդ իսկ պատճառով դիտվում է միայն չկապված \$L\$ ու որոշների \$L\$ ու որոշ ցենցիան: Այն \$L\$ ու որոշները, որը կապված չէ կոմպլեքսի մեջ, գրգռված չէ և դրա կյանքի տևողությունը \$t\_0\$ է: Այսպիսով, ստացվում է, որ ստատիկ մարման դեպքում \$t\_0/\tau = 1\$, իսկ դինամիկ մարման դեպքում՝ \$t\_0/\tau = F\_0/F\$:

\$L\$ ու որոշ ցենցիայի խառը մարման ժամանակ, շտեռնի – Ֆոլմերի ուղղագծային կախվածությանը թեքվում է դեպի \$F\_0/F\$ առանցքը: \$F\_0/F\$-ն իրենից ներկայացնում է չկոմպլեքսագոյացված և դիֆուզիոն բախման արդյունքում չմարված \$L\$ ու որոշների մասնաբաժինը:

$F_0/F = 1 + K_{sv}[Q]$  հավասարման մեջ կատարելով որոշակի ձևափոխություններ, կստանանք հավասարում, որն ըստ \$[Q]\$ – ի երկրորդ կարգի է.

$$\frac{F}{F_0} = (1 + K_D[Q])(1 + K_S[Q]) \quad (6),$$

Ելնելով մարման ժամանակների փոփոխություններից, կարելի է որոշել դինամիկ մարման մասնաբաժինը.



$$\frac{\tau_0}{\tau} = 1 + K_D[Q] \quad (7),$$

Եթե դա հնարավոր չէ, ապա  $K_D$  և  $K_S$  կարելի է որոշել ըստ (8) հավասարման՝

$$\frac{F}{F_0} = 1 + (K_D + K_S)[Q] + K_D K_S [Q]^2 \quad (8),$$

$$\frac{F}{F_0} = 1 + K_{app}[Q] \quad (9),$$

որտեղ՝

$$K_{app} = \left( \frac{F}{F_0} - 1 \right) \frac{1}{[Q]} = (K_D + K_S) + K_D K_S [Q] \quad (10),$$

Այս հավասարումից որոշում ենք  $K_D$  - ն և  $K_S$  - ը:

Սպիտակուց - լիգանդ փոխազդեցությունների հետևանքով առաջացող կոմպլեքսի կայունությունը մեկնաբանելու համար կարևոր է որոշել կապման ֆիզիկաքիմիական բնութագրերը (կապման հաստոնը՝  $K_b$ -ն, կապման կենտրոնների թիվը՝  $n$ -ը (Յիլլի գործակիցը) և թերմոդինամիկական պարամետրերը՝  $\Delta H$ -ը,  $\Delta S$ -ը և  $\Delta G$ -ն:

Ստատիկ մարման դեպքում  $K_b$ -ն և  $n$  - ը որոշում են՝ ելնելով ֆլուորեսցենցիայի ինտենսիվության հարաբերական անկման և մարիչի կոնցենտրացիայի միջև կախվածության ստորև բերված հավասարումից.

$$\lg\left(\frac{F_0 - F}{F}\right) = \lg K_b + n \lg[Q] \quad (11),$$

որտեղ  $K_b$  - ն կապման հաստատունն է ( $L^{-1}$  մոլ<sup>-1</sup>),  $n$ -ը՝ կապման կենտրոնների թիվը:  $K_b$ -ի համար ստացված արժեքները տեղեկություն են տալիս առաջացող կոմպլեքսի կայունության մասին: Օպտիմալ են համարվում  $K_b$ -ի այն արժեքները, որոնք ընկած են  $10^4 - 10^6 L^{-1}$  միջակայքում [77]: Այս դեպքերում առաջացող կոմպլեքսները ունենում են միջին կայունություն, որը հանդիսանում է բավարար գործոն տրանսպորտային սպիտակուցի

համար  $\Delta H$  և  $\Delta S$  կապելու և փոխադրելու համար, իսկ  $n - \Delta H$  արժեքները սովորաբար օգտագործվում են փոխադրեցության մեխանիզմի որոշման համար [78]: Եթե  $n \leq 1$ , ապա կապումը ոչ կոոպերատիվ է և կապման կենտրոնները նույնական են, իսկ եթե  $n > 1$ , ապա կապումը կրում է կոոպերատիվ բնույթ և կապման կենտրոնները կարող են լինել և ոչ նույնական:

Սպիտակուց – լիգանդ կոմպլեքսների կայունությունը բնութագրվում է նաև թերմոդինամիկական պարամետրերով  $\Delta H$  (կՋ·մոլ<sup>-1</sup>),  $\Delta S$  (Ջ·մոլ<sup>-1</sup>·Կ<sup>-1</sup>) և  $\Delta G$  (կՋ·մոլ<sup>-1</sup>): Այս պարամետրերի հիման վրա հնարավոր է որոշել կոմպլեքսի առաջացումը և կայունությունը պայմանավորող փոխադրեցությունների բնույթը [79]:

Նշված թերմոդինամիկական պարամետրերը որոշվում են՝ օգտագործելով Վանտ-Հոֆի հավասարումը՝

$$\ln K_b = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R} \quad (12),$$

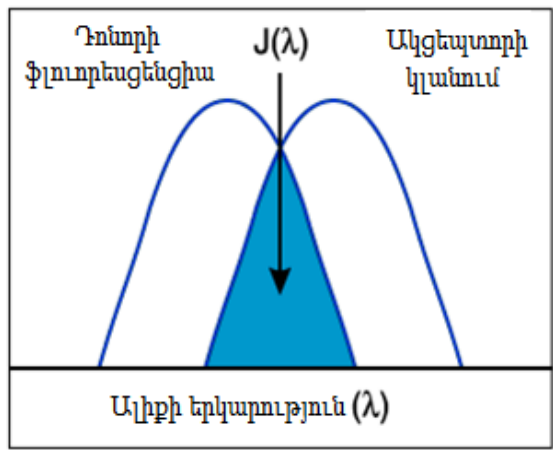
Գիբսի էներգիայի փոփոխությունը կարելի է որոշել հետևյալ հավասարման համաձայն.

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (13),$$

Սպիտակուցի և լիգանդի միջև տեղի ունեցող փոխադրեցության հետևանքով առաջացած կոմպլեքսները կարող են կայունանալ տարբեր բնույթի փոխադրեցությունների միջոցով, որոնցից են հիդրոֆոբ, էլեկտրոստատիկ և վան դեր վալսյան փոխադրեցությունները, ջրածնական կապերը և այլն [80, 81]: Ելնելով (12) հավասարումով հաշվարկված  $\Delta H$ -ի և  $\Delta S$ -ի արժեքներից, կարելի է պարզել լիգանդ – սպիտակուց փոխադրեցությունների բնույթը: Հայտնի է, որ եթե  $\Delta H > 0$  և  $\Delta S > 0$ , ապա համակարգում առկա են հիդրոֆոբ փոխադրեցություններ, եթե  $\Delta H < 0$  և  $\Delta S < 0$ ՝ ջրածնական կապեր և վան դեր վալսյան փոխադրեցություններ, իսկ եթե  $\Delta H < 0$  և  $\Delta S > 0$ ՝ էլեկտրոստատիկ փոխադրեցություններ [82]:

Սպիտակուց – լիգանդ փոխադրեցության նկարագրությունը կապված է նաև դոնոր (D) – ակցեպտոր (A) հեռավորության հետ, ինչի որոշումը հիմնված է ֆլուորեսցենսային ռեզոնանսային

Էներգիայի ոչ ճառագայթային անցման քանակական գնահատման վրա [83]: Ֆլուորեսցենտային առաքման սպեկտրը պայմանավորված է Էներգիայի ճառագայթային անցումով, սակայն հնարավոր է նաև կլանված Էներգիայի ոչ ճառագայթային անցում այլ մոլեկուլի, կամ մոլեկուլի այլ մասի: Այս երևույթը կոչվում է ֆլուորեսցենտային ռեզոնանսային Էներգիայի անցում (ՖՌԷԱ): ՖՌԷԱ – ը տեղի է ունենում գրգռված վիճակում գտնվող D-ի և հիմնական վիճակում գտնվող A-ի միջև: Դոնորի մոլեկուլները Էներգիան առաքում են ավելի երկար ալիքի տակ, որի ֆլուորեսցենտային սպեկտրը վերադրվում է ակցեպտորի հիմնական վիճակի կլանման սպեկտրի հետ (տես նկ.13.):



Նկ.13 D-ի մոլեկուլի ֆլուորեսցենտային սպեկտրի և A-ի մոլեկուլի կլանման սպեկտրի վերադրումը:

Ռեզոնանսային Էներգիայի անցման արդյունավետությունը կապված է սպեկտրների վերադրման մակերեսից. որքան մեծ է մակերեսը, այնքան ռեզոնանսային Էներգիայի անցումը ավելի արդյունավետ է:

Կոմպլեքսագոյացման ժամանակ ՖՌԷԱ-ի ամենատարածված կիրառությունները D - A հեռավորության որոշումն է: Սպիտակուցների ֆլուորեսցենցիայի ուսումնասիրման ժամանակ որպես դոնոր ընդունվում է Trp – ային մնացորդը [84]: Եթե D ու A միակն են և եթե դրանց միջև եղած հեռավորությունը չի փոխվում ֆլուորոֆորի գրգռված վիճակի կյանքի տևողության ընթացքում,

ապա  $D - A$  միջև հեռավորությունը կարելի է որոշել՝ ելնելով \$ՌԷԱ արդյունավետությունից:

\$ՌԷԱ տեսության հիմնական բնութագրերն են \$յոստերյան շառավիղը՝  $R_0$ , էներգիայի անցման արագությունը՝  $k_T(r)$ , վերածածկման ինտեգրալը՝  $J$  և էներգիայի անցման արդյունավետությունը՝  $E$ :  $R_0$  –ն իրենից ներկայացնում է այն հեռավորությունը, որի դեպքում ռեզոնանսային էներգիայի անցումը իրականանում է 50% - ով: Այն հիմնականում կազմում է 20 – 60 Å:

$D - A$  համար  $k_T(r)$ -ը որոշվում է՝ օգտվելով հետևյալ հավասարումից.

$$k_T(r) = \frac{1}{\tau_D} \left( \frac{R_0}{r} \right) \quad (14),$$

որտեղ  $\tau_D$ -ն դոնորի մարման ժամանակամիջոցն է ակցեպտորի բացակայության պայմաններում (վրկ),  $R_0$  - ն՝ \$յոստերյան շառավիղը (սմ),  $r$ -ը՝  $D - A$  հեռավորությունը (սմ):

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

$$k_T(r) = \frac{Q_D \kappa^2}{\tau_D r^6} \left( \frac{9000(\ln 10)}{128\pi^5 N n^4} \right) J(\lambda) \quad (15),$$

որտեղ  $Q_D$ -ն  $D$  – ի քվանտային ելքն է,  $n$  - ը լուծիչի բեկման ցուցիչը,  $N$  - ը Ավոգադրոյի թիվը ( $6.02 \cdot 10^{23}$  մոլ<sup>-1</sup>),  $\kappa^2$ -ն  $D$  - ի և  $A$  – ի դիպոլ մոմենտների փոխարձակ դասավորվածությունը բնութագրող գործոնը, որը կախված  $D - A$  հեռավորությունից և կարող է ընդունել 0 – ից մինչև 4 արժեքները (կենսամոլեկուլների համար սովորաբար օգտագործվում է  $\kappa^2 = 2/3$  արժեքը) [85]:  $J$  - ն  $D -$  ի առաքման և  $A -$  ի կլանման սպեկտրների վերածածկման ինտեգրալն է:  $J$  - ն արտահայտվում է հետևյալ հավասարումով.

$$J(\lambda) = \int_0^{\infty} F_d(\lambda) \varepsilon_A \lambda^4 d\lambda = \frac{\int_0^{\infty} F_d(\lambda) \varepsilon_A \lambda^4 d\lambda}{\int_0^{\infty} F_d(\lambda) d\lambda} \quad (16),$$

որտեղ  $F_d(\lambda)$  -ն D-ի ֆլուորեսցենցիայի նորմավորված ինտենսիվությունն է (պ.մ.),  $\varepsilon_A$  - ն A-ի էքստինկցիայի գործակիցը (Մ.սմ<sup>-1</sup>):

ՖՌԷԱ տեսության մյուս կարևոր բնութագիրը D – A ռեզոնանսային էներգիայի անցման արդյունավետությունն է՝ E-ն, որն իրենից ներկայացնում է D-ի կողմից առաքված և A-ին փոխանցված ֆոտոնների մասնաբաժինը:

E – նորոշվում է ըստ հետևյալ հավասարման՝

$$E = \frac{k_T(r)}{\tau_D^{-1} + k_T(r)} \quad (17),$$

Այս հավասարումը իրենից ներկայացնում է A – ի ներկայությամբ էներգիայի անցման արագության հարաբերությունը D – ի մարման ողջ արագությանը:

Չափի առնելով (14) հավասարումը, կստանանք.

$$E = \frac{R_0^6}{R_0^6 + r^6} \quad (18),$$

Այս հավասարումից երևում է, որ ռեզոնանսային էներգիայի անցումը կախված է D – A հեռավորորությունից: E – ն կարելի է որոշել A – ի ֆլուորեսցենցիայի ինտենսիվությունների հարաբերությունից A-ի բացակայության և ներկայության պայմաններում՝ օգտագործելով հետևյալ հավասարումը.

$$E = 1 - \frac{F_{DA}}{F_D} \quad (19),$$

D – A հեռավորությունը հաշվելու համար առաջնահերթ է որոշել  $R_0$  –ն և n-ը: Ջրային միջավայրի դեպքում n-ի արժեքը հավասար է 1.336 [86, 87]:

**1.4.2. ՍՊԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐԻ ԿԱՅՈՒՆՈՒԹՅՈՒՆԸ ԵՎ**

**ԲՆԱՓՈԽՈՒՄԸ: ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՄԱՆ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ**

Տարբեր տեսակի գործոններ (լիզանդի կապում, ջերմաստիճանի և միջավայրի pH-ի, մածուցիկության փոփոխություն, ճառագայթման ազդեցություն) այս կամ այն չափով կարող են ազդել սպիտակուցների կառուցվածքի վրա, փոխել դրանց ռեակցիոնունակությունը և ազդել ֆունկցիոնալ ակտիվության վրա: Սպիտակուցի կամ կոմպլեքսագոյացված սպիտակուցի կայունությունը և այն պահպանող ուժերը գնահատելու համար ուսումնասիրվում է դրանց ջերմային և քիմիական բնափոխումը: Բնափոխումը սպիտակուցային մոլեկուլի չորրորդային, երրորդային և երկրորդային կառուցվածքի ցանկացած փոփոխությունն է, որի դեպքում կովալենտային կապերի խզում տեղի չի ունենում: Բնափոխումը կարող է իրականանալ մեկ փուլով, կամ մի քանի՝ հարաբերական կայուն ինտերմեդիանտների առաջացմամբ [88]: Սպիտակուցների բնափոխումը լինում է դարձելի և ոչ դարձելի: Դարձելի բնափոխման ժամանակ հնարավոր է լինում սպիտակուցը վերադարձնել իր նախկին կառուցվածքին, այն դեպքում, երբ ոչ դարձելի բնափոխման ժամանակ սպիտակուցի նախկին կառուցվածքի վերականգնումը անհնար է: Սպիտակուցների բնափոխման դարձելի, կամ ոչ դարձելի լինելը կարելի է որոշել՝ օգտագործելով կալորիաչափական, սպեկտրաչափական մեթոդները կրկնակի տաքացման – սառեցման պայմաններում:

Սպիտակուցների բնափոխման պատճառ կարող է լինել տարբեր տեսակի քիմիական նյութերի՝ բնափոխիչների առկայությունը: Որպես քիմիական բնափոխիչների օրինակ կարելի է նշել կարբամիդը, գուանիդիումի քլորիդը, էթանոլը, մեթանոլը, ԴՄՍՕ-ը և այլն [89-91]: Կան բնափոխիչներ, որոնք երկակի ազդեցություն ունեն սպիտակուցի կայունության վրա: Դրանցից է ԴՄՍՕ-ն, որը կախված կոնցենտրացիայից կարող է կայունացնել կամ ապակայունացնել սպիտակուցի կառուցվածքը: Ինչպես ցույց է տրվել [92]-ում, ԴՄՍՕ-ի փոքր կոնցենտրացիաների դեպքում կայունանում է ՄՇԱ-ի և ՑՇԱ-ի կառուցվածքը ի հաշիվ միջավայրի

կառուցվածքի կայունացման, իսկ բարձր կոնցենտրացիանրի դեպքում այս սպիտակուցները ենթարկվում են բնափոխման սպիտակուց - ԴՄՍՕ անմիջական փոխազդեցությունների հետևանքով:

Բացի բնափոխիչների առկայությունից սպիտակուցների կայունություն վրա, ինչպես արդեն նշեցինք, ազդում է ջերմաստիճանի փոփոխությունը, ինչպես բարձրացումը, այնպես էլ նվազումը: Բարձր ջերմաստիճանային և ցածր ջերմաստիճանային բնափոխման ուսումնասիրությունների ակնհայտացնելու համար լայն կիրառություն են գտել սպեկտրաչափական մեթոդները (էլեկտրոնային կլանման, շրջանային դիֆրոմի (ՇԴ), Ֆլուորեսցենտային առաքման և այլն) [93-95]:

Էլեկտրոնային կլանման սպեկտրաչափության մեթոդը հնարավորություն է տալիս պատկերացում կազմել սպիտակուցում տեղի ունեցող կառուցվածքային փոփոխությունների մասին, ելնելով սպիտակուցի բաղադրության մեջ մտնող արոմատիկ ամինոթթվական մնացորդների (Trp, Phe և Tyr) և պրոստետիկ խմբերի կողմից լույսի կլանմամբ [96]:

ՇԴ-ի սպեկտրաչափության մեթոդը հնարավորություն է տալիս ուսումնասիրել սպիտակուցներում տեղի ունեցող կառուցվածքային փոփոխությունները հեռու և մոտիկ ուլտրամանուշակագույն (ՈՒՄ) մարզերում: Մասնավորապես, 100 – 200 նմ տիրույթում ի հայտ եկող ՇԴ սպեկտրները մանրամասն տեղեկություն են տալիս սպիտակուցների երկրորդային կառուցվածքի մասին ( $\alpha$ -պարույր,  $\beta$ -շերտեր), իսկ մոտիկ ՈՒՄ մարզում (200 – 400 նմ տիրույթ) ստացվող ՇԴ սպեկտրները՝ սպիտակուցների երրորդային կառուցվածքի մասին: Ցույց է տրվել, որ 250 – 300 նմ տիրույթում ի հայտ եկող ՇԴ ազդանշանները պայմանավորված են Trp, Tyr, Phe և ցիստեին ամինոթթուների կլանմամբ, որոնք շատ զգայուն են վերջիններիս շրջապատող միջավայրի նկատմամբ:

Ինչպես տեսանք, էլեկտրոնային կլանման սպեկտրաչափության մեթոդը և ՇԴ սպեկտրաչափության մեթոդները

տեղեկատու են ՈՒՄ մարզում: Այս երկու մեթոդների հիմնական տարբերությունը կայանում է նրանում, որ էլեկտրոնային կլանման սպեկտրաչափության մեթոդում կիրառվող լուսային ճառագայթը հարթ մոնոքրոմատիկ է, իսկ ՇԴ սպեկտրաչափության մեթոդում լուսային ճառագայթը աջակողմյան և ձախակողմյան բևեռացված է [97]:

Ֆլուորեսցենտային առաքման սպեկտրաչափության տարբեր մեթոդների օգտագործմամբ կարելի է կարծիք կազմել սպիտակուցի կառուցվաքի ընդհանուր և մասնակի փոփոխությունների վերաբերյալ: Երկչափ՝ 2D, սպեկտրներից ելնելով կարելի է կառուցել հալման կորերը և որոշել ամբողջ սպիտակուցի հալման ջերմաստիճանը՝  $T_m$ -ը: Հատկանշական է ֆլուորեսցենցիայի գրգռման/առաքման մատրիցի մեթոդի (եռչափ-3D սպեկտրներ) օգտագործումը, որը թույլ է տալիս առավել խոր ուսումնասիրել տարբեր գործոնների ազդեցության հետևանքով սպիտակուցների ինչպես ամինոթթվական մնացորդների (Trp, Phe և Tyr), այնպես էլ պոլիպեպտիդային շղթաների կրած փոփոխությունները:

Սպեկտրաչափական այս մեթոդների և դասական ֆիզիկաքիմիական մեթոդների համադրությամբ կարելի է ամբողջական կարծիք կազմել սպիտակուցների և տարբեր լիգանդների հետառաջացող կոմպլեքսների վերաբերյալ:

## ԳԼՈՒԽ2

### ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ՄԱՍ

#### 2.1. ՕԳՏԱԳՈՐԾՎԱԾ ԼՅՈՒԹԵՐԸ

**Սարդուլ հեմոգլոբին (Հբ)** – մուգ կարմիր գույնի փոշենման նյութ է, որի մոլեկուլային զանգվածը 65 կԴա է: Լուծվում է ջրում (20 մգ Հբ 1 մլ ջրում), ավելի վատ՝ գլիցերինում: Հբ - ը բաղկացած է չորս պոլիպեպտիդային շղթաներից  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ , որոնցից 2 $\alpha$ -շղթաները բաղկացած են 141, իսկ 2 $\beta$ -շղթաները՝ 146 ամինոթթվային մնացորդներից (տես նկ. 2) [98]: Որպես լուծիչ օգտագործվել է 0.2 Մ ֆոսֆատային բուֆերը, որի pH = 7.2:



Օգտագործվել է “Sigma” (Գերմանիա) ընկերության 99.5% մաքրության Յբ:

**Միոզլոբին (Մբ)** – մուգ կարմրա-նարնջագույն փոշենման նյութ է: Մոլեկուլային զանգվածը 17.4 կԴա է: Լուծվում է ջրում (20 մգ Մբ 1 մլ ջրում): Բաղկացած է մեկ պոլիպեպտիդային շղթայից, որը պարունակում է 153 ամինոթթվական մնացորդ (տես նկ. 3) [99]: Օգտագործվել է “Sigma” (Գերմանիա) ընկերության 99.5% մաքրության Մբ:

**Գալաթոն (ԳԹ)** - 3,4,5-տրիհիդրօքսիբենզոյական թթու – սպիտակ բյուրեղական նյութ է, որի մոլեկուլային զանգվածը  $170 \text{ գ.մոլ}^{-1}$  է: Քիմիական բանաձևն է  $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ : Ունի թույլ արտահայտված թթվային հատկություններ: Լավ լուծվում է եռացող ջրում, էթիլ սպիրտում, վատ լուծելիություն ունի դիէթիլ եթերում և ջրում ( $1.1 \text{ գ } 100 \text{ մլ ջրում}$  293.15Կ ջերմաստիճանում): Պարունակվում է տարբեր բույսերում (թեյ, կաղնու արմատներ, ելակ, ազնվամորի, ադամաթուզ), դաբաղող թուրմերում, ունի ուժեղ հակաօքսիդանտային, հակաբակտերիային հատկություններ [100, 101]: ԳԹ – ի կառուցվածքային բանաձևը ներկայացված է նկ. 5 - ում: Օգտագործվել է “Sigma” (Գերմանիա) ընկերության 99.5% մաքրության ԳԹ:

**Դաբաղաթոն (ԴԹ, տանին)** – դեղին գույնի փոշենման նյութ է: Լավ լուծվում է ջրում (285 գ 100 մլ ջրում), վատ լուծելիություն ունի գլիցերինում և էթիլ սպիրտում: Քիմիական բանաձևն է  $\text{C}_{76}\text{H}_{52}\text{O}_{46}$ : Մոլեկուլային զանգվածն է՝  $1701 \text{ գ.մոլ}^{-1}$ : Մոլեկուլում առկա բազմաթիվ ֆենոլային խմբերի հաշվին, ունի թույլ արտահայտված թթվային հատկություններ ( $\text{pK} = 10$ ): Ջրում  $60^\circ\text{C}$  ջերմաստիճանում ենթարկվում է հիդրոլիզի՝ առաջացնելով գալաթոն և գլյուկոզ: Հանդիպում է տարբեր բույսերում և մրգերում (սուրճ, թեյ, նուռ, խաղողի կորիզներ): Հայտնի է իր կենսաբանական բարձր ակտիվությամբ [102, 103]: ԴԹ – ի կառուցվածքային բանաձևը ներկայացված է նկ. 5 – ում: Օգտագործվել է “Sigma” (Գերմանիա) ընկերության 99.5% մաքրության ԴԹ:

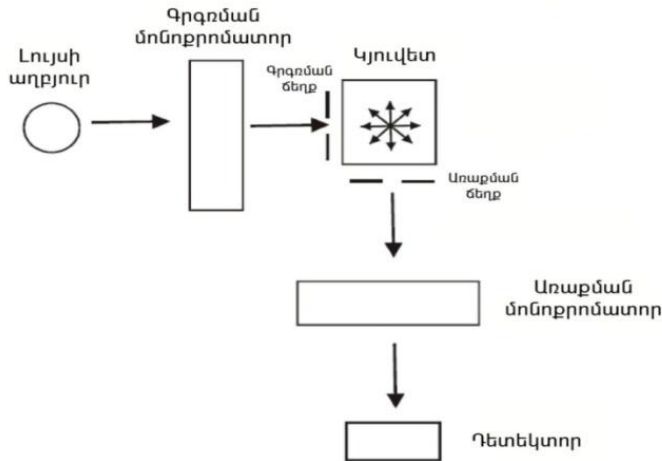
**Ֆոսֆատային բուժեր** - իրենից ներկայացնում է  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  և  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  -ի  $0.2 \text{ մոլ լ}^{-1}$  կոնցենտրացիաներով լուծույթների խառնուրդ: Օգտագործվել են «Մեդիսար» ընկերության (Յայաստան) «մ.ա.հ.» մակնիշի 99.8% մաքրության աղեր, որոնք լուծվել են կրկնակի թորած ջրում: Բուժերի  $\text{pH} = 7.2$  (համապատասխան ֆիզիոլոգիական միջավայրին):

## **2. 2. ՕԳՏԱԳՈՐԾՎԱԾ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ ԵՎ ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ՏԵԽՆԻԿԱՆ**

### **2.2.1 ՖԼՈՒՈՐԵՍԵՆՏԱՅ ԻՆ առաքման սպեկտրաչափում**

Ֆլուորեսցենտային առաքման սպեկտրաչափում եղանակով ուսումնասիրվել են սպիտակուցի (Յ և Մ) և ԴԹ - ի միջև փոխազդեցությունները: Չափումները կատարվել են Varian Cary Eclipse (Ավստրալիա) ֆլուորեսցենտային սպեկտրոֆոտոմետրի օգնությամբ, որի սխեմատիկ պատկերը տրված է նկ.15 - ում:

Չափումները կատարվել են 296.15 – 309.754 ջերմաստիճանային տիրույթում, 1սմ օպտիկական ճանապարհ ունեցող ( $l = 1$  սմ) քվարցե կյուվետների օգտագործմամբ: Կյուվետի խցիկում ջերմաստիճանը հաստատուն է պահվել սպեկտրոֆոտոմետրին համակցված LAUDA A100 ջրային թերմոստատի միջոցով:



Նկ.14 Ֆլուորեսցենտային սպեկտրոֆոտոչափի սխեման:

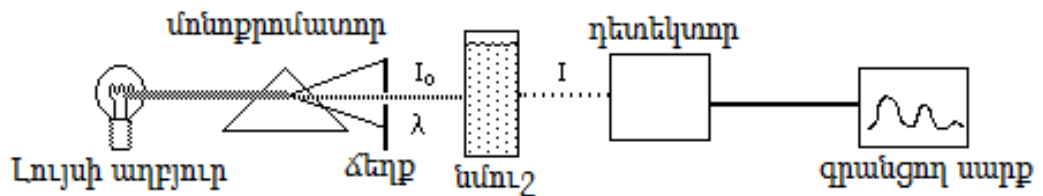
Յբ – ԴԹԻ և Մբ – ԴԹ փոխազդեցությունները ուսումնասիրելու համար օգտագործվել են Ֆլուորեսցենտային սպեկտրաչափության հետևյալ մեթոդները.

- սպիտակուցի սեփական ֆլուորեսցենցիայի մարում (2 D սպեկտրներ),
- բարձր ջերմաստիճանային ֆլուորեսցենցիա,
- գրգռման/առաքման եռչափմատրիցի մեթոդ (3 D սպեկտրներ),
- ֆլուորեսցենտային ռեզոնանսային էներգիայի անցում (\$ՌԷԱ),

ԳԹ – ի ջրային լուծույթների կառուցվածքային առանձնահատկությունների ուսումնասիրությունները և սիրականացվել են ֆլուորեսցենտային սպեկտրաչափության օգտագործմամբ:

## 2.2.2 Էլեկտրոնային կլանման սպեկտրաչափություն

Էլեկտրոնային կլանման սպեկտրաչափության մեթոդով ուսումնասիրությունները կատարվել են SPECORD 50PC (Գերմանիա) մեկճառագայթային սպեկտրոֆոտոմետրի օգնությամբ, որի սխեման բերված է նկ. 16 - ում : Օգտագործվել են 1սմ օպտիկական ճանապարհ ունեցող քվարցե կյուվետներ: Ջերմաստիճանը կարգավորվել է սպեկտրոֆոտոմետրին համակցված LAUDA A100 (Գերմանիա) թերմոստատի օգնությամբ: Լուծույթի ջերմաստիճանը որոշվել է կյուվետային բաժանմունքում տեղադրված կոնտակտային թվային ջերմաչափի միջոցով:



Նկ. 15 SPECORD 50 սպեկտրոֆոտոմետրի աշխատանքի սխեման:

### 2.2.2.1 Յբ -ի և Մբ -ի ԳԹ-ի կապման հաստատունի որոշումը

ԳԹ - ի հետ Յբ - ի և Մբ - ի փոխազդեցությունների ուսումնասիրման համար հետևել ենք  $\lambda=280$  նմ ալիքի երկարության տակ սպիտակուցի կլանման, որը համապատասխանում է սպիտակուցի մոլեկուլներում առկա արոմատիկ ամինոթթուներին և լիզանդի (ԳԹ)  $\lambda=260$  նմ ալիքի երկարության տակ կլանման սպեկտրային բնութագրերի (կլանման ինտենսիվություն, շեղում) փոփոխությանը:

Սպիտակուց - լիզանդի կապման հաստատունի որոշման համար օգտագործել ենք հետևյալ հավասարումը.

$$\frac{1}{\Delta A} = \frac{1}{\Delta A_{\max}} + \frac{1}{K_B (\Delta A_{\max})} \cdot \frac{1}{[Q]} \quad (20),$$

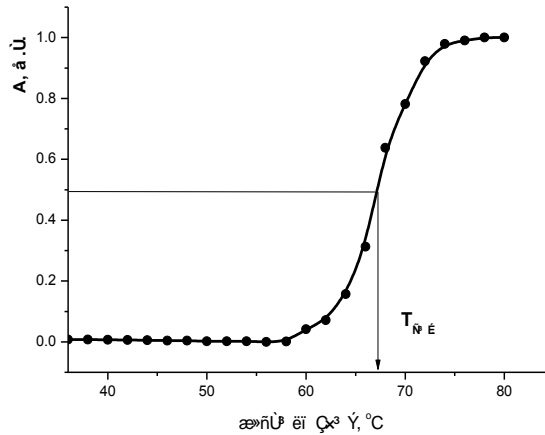
որտեղ  $\Delta A = A - A_0$ ,  $A_0$  և  $A'$  Մբ - ի կլանումներն են  $260$  նմ ալիքի երկարության տակ լիզանդի բացակայության և առկայության

պայմաններում համապատասխանաբար, [Q] և իզանդի կոնցենտրացիան է (մոլ·լ<sup>-1</sup>),  $\Delta A_{max}$ ՝ կլանման փոփոխությունն է կոմպլեքսի ամբողջական առաջացման համար:

ԳԹ – ի հետ փոխազդեցությունների ուսումնասիրման ժամանակ հետևել ենք նաև Յբ – ի և Մբ – ի կլանումներին  $\lambda=405$  նմ ալիքի երկարության տակ, որը համապատասխանում է պրոստետիկ հեմ խմբին:

### **2.2.2.2 Յբ – ի բնափոխման ուսումնասիրությունը ԴԹ – ի ներկայությամբ**

Յբ – ի բնափոխման ուսումնասիրությունը ԴԹ – ի ներկայությամբ իրականացվել է 36.6 – 64.0°C ջերմաստիճանային տիրույթում, երբ ջերմաստիճանի փոփոխման արագությունը կազմել է 1°C·րոպե<sup>-1</sup>: Ջերմաստիճանի բարձրացման հետզուգընթաց տեղի է ունենում սպիտակուցի կլանման ինտենսիվության աճ: Այս երևույթի պատճառը սպիտակուցի նատիվ կառուցվածքի քանդումն է, որի հետևանքով օպտիկապես ակտիվ ավելի շատ խմբեր են հասանելի դառնում և ուսային ճառագայթի համար: Կառուցել ենք Յբ – ի ջերմային բնափոխման ՈԲՄ պրոֆիլը (հալման կորը) ԴԹ – ի ներկայությամբ, կառուցելով  $\lambda=280$  նմ ալիքի երկարությանը համապատասխան կլանման ինտենսիվության կախվածությունը ջերմաստիճանից: Տարբեր պայմաններում գրանցված ՈԲՄ պրոֆիլները համեմատելու համար դրանք նորմավորել ենք 0 - 1 միջակայքում: Սպիտակուցի ջերմային բնափոխման համար ստացվող հալման կորերը բնութագրվում են մեկթռիչքային սիգմոիդալ տեսքով (տես նկ. 16), որոնցից ըստ կլանման ինտենսիվության թռիչքի միջնակետի որոշվել է սպիտակուցի բնափոխման ջերմաստիճանը ( $T_{p_{50}}$ , °C):



Նկ.16 Սպիտակ ու ցի ՈԻՄ բնափոխման կորից սպիտակ ու ցի բնափոխման ջերմաստիճանի որոշումը:

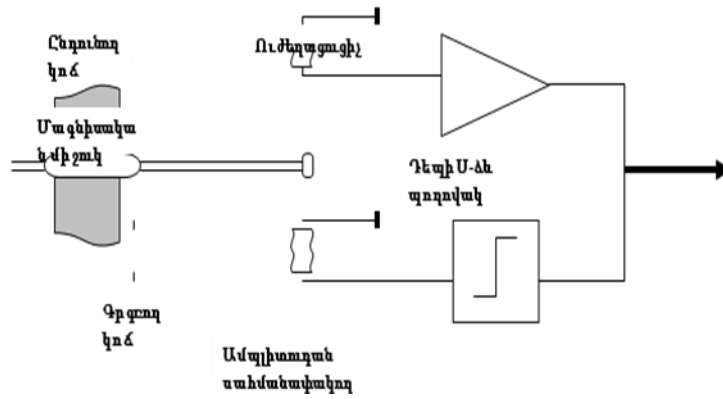
### 2.2.3 Շրջանային դիքրոիզմի սպեկտրաչափություն

Շրջանային դիքրոիզմի (ՇԴ) սպեկտրաչափության մեթոդով չափումները կատարվել են JASCO J-715 (ԱՄՆ) սպեկտրաչափի օգնությամբ, որին համակցված է ներքին թերմոստատ ( $\Delta T = \pm 0.13^\circ\text{C}$ ): Որպես իներտ միջավայր օգտագործվել է գազային ազոտը ( $\text{N}_2$ ), որի հոսքը կազմել է  $5.6 \text{ րոպե}^{-1}$ : Չափումները իրականացվել են  $l=1$ սմ օպտիկական ճանապարհ ունեցող ստանդարտ քվարցե կյուվետներով  $190\text{-}320$ նմ ալիքի երկարության տիրույթում  $36.6\text{-}64.0^\circ\text{C}$  ջերմաստիճանային տիրույթում: ՇԴ սպեկտրաչափության եղանակով ուսումնասիրվել է մաքուր ՅԲ-ի շերմային կայունությունը:

### 2.2.4 Խտաչափություն

Խտաչափության մեթոդով չափումները կատարվել են Anton Parr DMA 4500 (Ավստրիա) տատանողա – ռեզոնանսային խտաչափի օգնությամբ ( $\Delta\rho = \pm 5 \cdot 10^{-5} \text{ գ.սմ}^{-3}$ ), որի սխեման բերված է նկ. 17 – ում:

Ջերմաստիճանը հաստատուն պահվել է խտաչափին համակցված է ներքին թերմոստատի միջոցով ( $\Delta T = \pm 0.03^\circ\text{C}$ ): Չափումները կատարվել են  $296.15\text{-}313.15$  ջերմաստիճանային տիրույթում:



Նկ.17 Anton Parr DMA4500 խտնաչափի սխեման :

### 2.2.4.1 ԳԹ – ի թվացյալ պարօրհալ մոլայի ն ծավալի որոշումը

ԳԹ – ի թվացյալ պարօրհալ մոլայի ն ծավալ ները որոշվել են ըստ լուծույթների չափված խտությունների, օգտագործելով հետևյալ հավասարումը՝

$$\phi V = \frac{(\rho_0 - \rho)}{m\rho\rho_0} + \frac{M}{\rho} \quad (21),$$

որտեղ  $\phi V$ - ն ԳԹ – ի թվացյալ պարօրհալ մոլայի ն ծավալն է ( $\text{սմ}^3 \cdot \text{գ}^{-1}$ ),  $\rho_0$ - ն և  $\rho$ - ն՝ լուծիչի և լուծույթի խտություններն են համապատասխանաբար ( $\text{գ} \cdot \text{սմ}^{-3}$ ),  $m$  – ը՝ լուծույթի մոլայ կոնցենտրացիան է ( $\text{մոլ} \cdot \text{կգ}^{-1}$ ),  $M$  – ը՝ ԳԹ – ի մոլայի ն զանգվածն է ( $\text{գ} \cdot \text{մոլ}^{-1}$ ):

### 2.2.4.2 Սպիտակուցի ծավալայի ն բնութագրերի որոշումը

Սպիտակուցի ծավալայի ն հատկությունները բնութագրող ֆիզիկաքիմիական բնութագրերն են թվացյալ պարօրհալ սպեցիֆիկ ծավալը և պարօրհալ սպեցիֆիկ ծավալը:

Յբ – ի թվացյալ պարօրհալ սպեցիֆիկ ծավալները որոշվել են՝ ելնելով հետևյալ հավասարումից [104]՝

$$\phi = \frac{1}{\rho_0} \left( 1 - \frac{\rho - \rho_0}{c} \right) \quad (22),$$

որտեղ  $\phi$  – ն` սպիտակուլցի թվացյալ պարցիալ սպեցիֆիկ ծավալն է ( $\text{սմ}^3 \cdot \text{գ}^{-1}$ ),  $\rho_0$ -ն և  $\rho$ – ն` լուծիչի և լուծույթի խտություններն են համապատասխանաբար ( $\text{գ} \cdot \text{սմ}^{-3}$ ),  $c$  – ն` սպիտակուլցի կոնցենտրացիան է ( $\text{գ} \cdot \text{սմ}^{-1}$ ):

Սպիտակուլցի պարցիալ սպեցիֆիկ ծավալը  $\phi$ -ն, ( $\text{սմ}^3 \cdot \text{գ}^{-1}$ ) կարելի է որոշել  $\phi$ –ի սպիտակուլցի կոնցենտրացիայից ունեցած գծային կախվածության էքստրապոլումով մինչև սպիտակուլցի զրոյական կոնցենտրացիա [105]:

### 2.2.5. Տեսական քվանտաբիմիական հաշվարկ

Տեսական քվանտաբիմիական հաշվարկները կատարվել են GAUSSIAN 03 ծրագրի կիրառությամբ: Այս հաշվարկերի օգնությամբ որոշվել է ԳԹ – ԳԹ և ԳԹ –  $\text{H}_2\text{O}$  փոխազդեցությունների հետևանքով առաջացող կոմպլեքսների կառուցվածքը, լիցքերը և կայունությունը ջրային միջավայրում ու գազ ֆազում: ԳԹ – ԳԹ և ԳԹ –  $\text{H}_2\text{O}$  փոխազդեցությունների համար տեսական քվանտաբիմիական հաշվարկները իրականացվել են սահմանափակ Յարտրի-Ֆոկի եղանակով` օգտագործելով 6-31+G\*\* բազիսը (RHF/6-31+G\*\*): Օգտագործված բազիսում 6-31+G\*\* բազիսը ցույց է տալիս, որ ներքին թաղանթի օրբիտալների նկարագրման համար 6 գաուսյան ֆունկցիաներ (GTO) են գումարված, իսկ արտաքին թաղանթի նկարագրման համար վալենտային օրբիտալները բաժանված են 2 մասի` կոմպակտ և դիֆուզ: Կոմպակտ (նշանակվում է "\*" նշանով) վալենտային օրբիտալներին գումարվում են 3 գաուսյան ֆունկցիաներ, իսկ դիֆուզ (նշանակվում է "+" նշանով) վալենտային օրբիտալների նկարագրման համար 1 գաուսյան ֆունկցիա է գումարվում:

Օգտագործելով Օնսագերի մեթոդը հաշվարկները իրականացվել են նաև ջրային միջավայրում, SCRF=Dipole առանցքային օգտագործմամբ: Օնզագերի մեթոդով հեղուկ ֆազում կատարվող հաշվարկների համար անհրաժեշտ պարամետրերն են



լուծված գնդաձևի նյութի շառավիղը՝  $\alpha_0$  և լուծիչի դիելեկտրիկ հաստատունը՝  $\epsilon$ : Հաշվարկի արդյունքում ստացվող վերջնական ֆայլում տրվում են արդեն օպտիմիզացված կառուցվածքային բնութագրերը, որոնցից են ատոմների վրա լիցքերը, կապերի երկարությունները, վալենտային և երկնիստ անկյունները, կոմպլեքսի դիպոլ մոմենտը և լրիվ էներգիան, ինչի միջոցով հաշվարկվում է փոխազդեցության էներգիան ըստ հետևյալ հավասարման.

$$\Delta E = E_A + E_B - E_{AB} \quad (23),$$

որտեղ  $E_A$ -ն՝ A բաղադրիչի լրիվ էներգիան է,  $E_B$ -ն՝ B բաղադրիչի լրիվ էներգիան, իսկ  $E_{AB}$ -ն՝ AB կոմպլեքսի լրիվ էներգիան [106]:

Մեր կողմից կատարված հաշվարկների համար, երբ ուսումնասիրում ենք  $q\theta$  - ջուր ասոցիատը  $E_A$  - ն համապատասխանում է  $q\theta$  - ի լրիվ էներգիային,  $E_B$  - ն՝ ջրի լրիվ էներգիային, իսկ  $E_{AB}$  - ն՝  $q\theta$  - ջուր ասոցիատի լրիվ էներգիան է:  $q\theta$  -  $q\theta$  ասոցիատների ուսումնասիրման ժամանակ  $E_{AB}$  - ն՝  $q\theta$  -  $q\theta$  ասոցիատի լրիվ էներգիան է, իսկ  $E_A$  - ն և  $E_B$  - ն՝  $q\theta$  - ի լրիվ էներգիան են:

### ԳԼ ՈՒ ԽՅ

## ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ՏՎՅԱԼ ՆԵՐԻ ՆԵՐԿԱՅԱՑՈՒ ՄԵՎ ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԻ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄ

### 3.1 ՅԲ-Ի ԵՎ ՄԲ-Ի ԿԱՊՈՒՄԸ ԴԹ-Ի ԵՎ ԳԹ-Ի ՀԵՏ:

Կենդանի օրգանիզմի վրա որևէ նյութի ազդեցության վերլուծությունը սկսելուց առաջ անհրաժեշտ է ուսումնասիրել տվյալ նյութի հնարավոր տեղափոխումը օրգանիզմով: Սովորաբար դա իրականացվում է տարբեր մեխանիզմներով՝ դիֆուզիա, հեշտացված դիֆուզիա, տրանսպորտային սպիտակուցների հետ կապում և այլն: Տրանսպորտային սպիտակուցների և տարբեր նյութերի (լիզանդներ) միջև փոխազդեցությունների ուսումնասիրությունները, առաջացող կոմպլեքսների ֆիզիկաքիմիական բնութագրերը որոշելը հանդիսանում են կարևոր խնդիրներ տվյալ միացության տեղափոխման մեխանիզմի, այդ ֆունկցիայի իրականացման հարցերի պարզամասն համար: Նյութի տրանսպորտը կապված է մի շարք գործոնների հետ, որոնցից կարելի է նշել սպիտակուցի և լիզանդի կառուցվածքը, դրանց կոնցենտրացիաները, միջավայրի pH – ը, ջերմաստիճանը և այլն [107, 108]:

Մարդու օրգանիզմում տրանսպորտային սպիտակուցները հիմնականում հանդիպում են արյան և արյան պլազմայի մեջ: Արյան պլազմայի մեջ ամենամեծ քանակությամբ տարածված սպիտակուցը շիճուկային պրոբին է (55%), որը սինթեզվում է լյարդում: Մարդու շիճուկային պրոբինը պատասխանատու է տարբեր տեսակի դեղանյութերի, էնդոգեն և էկզոգեն միացությունների կապման ու տեղափոխման համար: Արյան մեջ ամենամեծ քանակությամբ տրանսպորտային սպիտակուցներից է ՅԲ – ը, որի հիմնական ֆունկցիան մոլեկուլային թթվածնի կապումն է և տեղափոխումը դեպի հյուսվածքներ ու CO<sub>2</sub>–ի դուրս բերումը: Ներկայիս կենսաբժշկական քիմիայում մեծ հետաքրքրություն են ներկայացնում ՅԲ – ի և ՄԲ – ի տարբեր լիզանդների հետ

միաժամանակյակ ապման և առաջացող կոմպլեքսների ուսումնասիրությունները, ինչպես նաև այն հարցի պարզաբանումը արդյո՞ք խանգարում է երկրորդ լիգանդի կապումը այս սպիտակուլների հիմնական ֆունկցիային: Որպես երկրորդ լիգանդ հետաքրքրություն են ներկայացնում բնական ծագում ունեցող ֆլավոնները, ֆլավոնոիդները, պրլիֆենոլները և այլն: Այս դասերին պատկանող միացությունների լայն կիրառությունը պայմանավորված է վերջիններիս կենսաբանական բարձր ակտիվությամբ [109, 110]:

Մեր կողմից ուսումնասիրվել է ՅԲ-ի և ՄԲ - ի հետ պրլիֆենոլային միացություններ ԴԹ-ի և ԳԹ-ի փոխազդեցությունները, ինչպես նաև ԴԹ - ՅԲ կոմպլեքսների ջերմային կայունությունը: Ուսումնասիրությունները իրականացվել են ֆլուորեսցենսային առաքման սպեկտրաչափության մեթոդներով: Մինչ այս ուսումնասիրությունները կատարելը անհրաժեշտ էր իմանալ ԳԹ-ի վարքը ջրային լուծույթներում և այս լուծույթների կառուցվածքային առանձնահատկությունները: Սպիտակուլ - լիգանդ փոխազդեցությունները ֆլուորեսցենսային սպեկտրաչափության մեթոդով ուսումնասիրելիս, առաջնաերթ պետք է ուշադրություն դարձնել ներքին ֆիլտրի էֆեկտին, որի պատճառը կարող է լինել ինչպես ուսումնասիրվող համակարգը, այնպես էլ սպեկտրների գրանցման տեխնիկան [76]: Եթե սպիտակուլը և լիգանդը պարունակեն միևնույն տեսակի, կամ իրար մոտ մարգերում առաքում ունեցող ֆլուորոֆորներ, տեղի կունենա առաքման սպեկտրների վերադրում, կամ մի մոլեկուլի կողմից առաքված էներգիան կարող է կլանվել մյուս մոլեկուլի կողմից, ինչը կհանգեցնի ստացվող տվյալների սխալի: Այսպիսի դեպքում անհրաժեշտություն է առաջանում կատարել ֆլուորեսցենցիայի արժեքների ուղղումներ՝ օգտագործելով համապատասխան հավասարումներ:

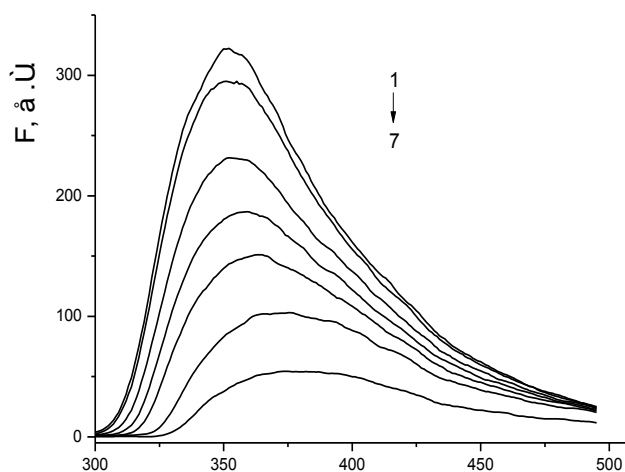
Մեր կողմից պարզվել է, որ օգտագործված սպիտակուլների և պրլիֆենոլների լուծույթներում ներքին ֆիլտրի էֆեկտը շատ

թույլ է արտահատված, որը չի բերում տվյալների շեղման, կամ իսպառ բացակայում է:

### 3.1.1 ԳԹ-ի ջրային լուծույթների ոլսումնասիրությունը

ԳԹ-ի ջրային լուծույթների ոլսումնասիրությունը իրականացրել ենք ֆլուորեսցենսային առաքման սպեկտրաչափության և խտաչափության եղանակներով: Կատարել ենք նաև տեսական քվանտաֆիզիկական հաշվարկներ:

ԳԹ – ի լուծույթների ոլսումնասիրությունները ֆլուորեսցենսային սպեկտրաչափության եղանակով կատարել ենք ԳԹ-ի  $5.88 \cdot 10^{-4} - 5.88 \cdot 10^{-2}$  մոլ լ<sup>-1</sup> կոնցենտրացիաների տիրույթում, 23 և 33°C ջերմաստիճաններում: Նախորոք չափել ենք էլեկտրոնային կլանման սպեկտրները, որոնցից որոշվել է ֆլուորեսցենսային առաքման սպեկտրների գրանցման համար անհրաժեշտ գրգռման ալիքի երկարությունը (270նմ): Սպեկտրները գրանցվել են են 290 – 500նմ տիրույթում, երբ գրգռման և առաքման ճեղքերը կազմել են 10 նմ: Նկ. 18 - ում ներկայացված է ԳԹ – ի տարբեր կոնցենտրացիաներով լուծույթների ֆլուորեսցենսային սպեկտրները 33°C ջերմաստիճանում (23°C ջերմաստիճանում գրանցված սպեկտրները բերված չեն):



Նկ. 18 Ֆլուորեսցենցիայի ինտենսիվության կախվածությունը ԳԹ – ի կոնցենտրացիայից [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<sup>-1</sup>, T = 33°C:

Ինչպես տեսնում ենք նկարից, ԳԹ – ի կոնցենտրացիայի մեծացումը բերում է ֆլուորեսցենցիայի ինտենսիվության նվազմանը և առաքման մաքսիմումի շեղմանը դեպի երկար ալիքային մարզ: Սպեկտրաչափական բնութագրերը շատ զգայուն են ֆլուորոֆորի և միջավայրի կառուցվածքային փոփոխության նկատմամբ: Ինչպես ցույց է տրվել [111]- ում լուծույթի pH-ի, կամ լուծիչի բնույթի փոփոխությանը բերում է լուծույթում ԳԹ-ի չեզոք կամ անիոնային ձևի գերակայման: ԳԹ-ի ապրոտոնային ոչ բևեռային լուծույթներում առաջանում են էքսիմերներ կամ դիմերներ մոլեկուլի գրգռված վիճակում: Ջրային լուծույթներում ԳԹ-ի ֆլուորեսցենտային առաքման ինտենսիվության փոքրացումը և շեղումը դեպի երկար ալիքային մարզ կարելի է բացատրել լուծույթում հոմո- (ԳԹ – ԳԹ ասոցիատներ) և հետերո- (ԳԹ - H<sub>2</sub>O) ասոցիատների (ԳԹ-ի հիդրատացիա) առաջացմամբ: Աղ. 2 –ում ներկայացված են ԳԹ – ի լուծույթների սպեկտրալ բնութագրերը (ֆլուորեսցենտային առաքման ինտենսիվությունը, դրա փոփոխությունը, առաքման մաքսիմումը և դրա շեղումը) 23°C և 33°C -ում: Ինչպես երևում է ներկայացված աղյուսակից ԳԹ – ի կոնցենտրացիայի մեծացման հետ (մինչև 5.88·10<sup>-3</sup> մոլ լ<sup>-1</sup>) ֆլուորեսցենցիայի ինտենսիվությունը կտրուկ նվազում է՝ մնալով գրեթե անփոփոխ ԳԹ – ի մեծ կոնցենտրացիաների դեպքում: Նման ձևով փոխվում է նաև առաքման շեղումը:

Աղյուսակ  
2

ԳԹ – ի ջրային լուծույթների սպեկտրալ բնութագրերը 23 և 33°C ջերմաստիճաններում:

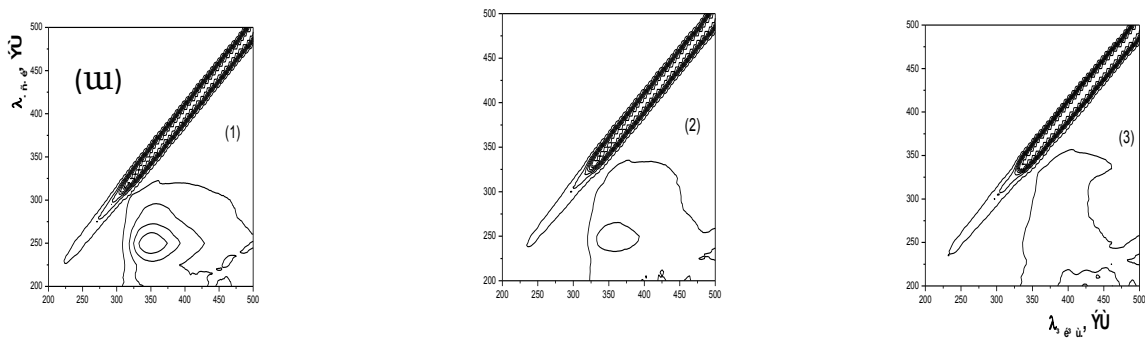
[ԳԹ], մոլ լ <sup>-1</sup>	T = 23°C				T = 33°C			
	F, պ.մ.	ΔF	λ, նմ	Δλ, նմ	F, պ.մ.	ΔF	λ, նմ	Δλ, նմ
5.88·10 <sup>-4</sup>	264.6	0	355.0	-	322.1	0	352.0	-

$7.35 \cdot 10^{-4}$	208.7	55.9	355.0	0	294.9	27.2	355.0	3.0
$1.47 \cdot 10^{-3}$	113.6	151.0	355.0	0	231.5	90.6	357.0	5.0
$2.94 \cdot 10^{-3}$	74.2	190.4	358.0	3.00	186.6	135.5	359.0	7.0
$5.88 \cdot 10^{-3}$	49.4	215.2	371.0	16.00	157.1	165.0	365.0	13.0
$4.50 \cdot 10^{-2}$	34.1	230.5	385.00	30.00	103.0	219.1	375.0	23.0
$5.88 \cdot 10^{-2}$	31.8	232.8	391.0	36.00	54.2	267.9	382.0	30.0

Ջերմաստիճանի բարձրացման հետ տեղի է ունենում ֆլուորեսցենցիայի ինտենսիվության աճ (տեղ աղ. 2.), իսկ մաքսիմումի տեղաշարժը դեպի երկար ալիքային մարզ դառնում է ավելի թույլ արտահայտված: Ֆլուորեսցենտային առաքման բնութագրերի այսպիսի փոփոխությունները կարելի է բացատրել ԳԹ – ի հիդրատացված վիճակի փոփոխմամբ և լուծույթում առկա սոցիատային կառուցվածքների թուլացմամբ:

ԳԹ –  $H_2O$  փոխազդեցությունների քվանտաբիմիակն հաշվարկների արդյունքում պարզվել է, որ ջրի մոլեկուլները ԳԹ-ի հիդրոֆոբ մասի շուրջը կազմում են ջրային թաղանթ՝ առանց ԳԹ-ի մոլեկուլի հետ անմիջական կոնտակտի մեջ մտնելու, իսկ հիդրոֆիլ մասի հետ առաջացնում են ուժեղ ուղղորդված կապեր [112]:

Այս համակարգի ուսումնասիրման համար մեր կողմից օգտագործվել է ֆլուորեսցենտային սպեկտրաչափության գրգռման/առաքման եռչափմատրիցի (3D սպեկտրներ) մեթոդը: Նկ. 19-ում բերված են ԳԹ – ի ջրային լուծույթների 3D սպեկտրների պրոյեկցիաները  $25^{\circ}C$  և  $30^{\circ}C$  ջերմաստիճաններում:



(բ)

Նկ. 19 ԳԹ – ի ջրային լուծույթների 3D սպեկտրների  
արոյեկցիաները:

(ա)–T = 25°C; (բ)–T = 30°C; [ԳԹ] -1– 5.88·10<sup>-4</sup>; 2 – 5.88·10<sup>-3</sup>; 3 – 5.88·10<sup>-2</sup>մոլ լ<sup>-1</sup>:

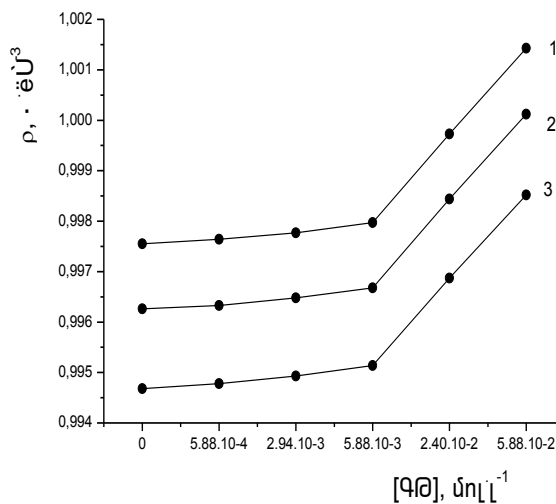
Ինչպես տեսնում ենք նկարից, ԳԹ – ի 3D սպեկտրները բնութագրվում են մեկ պիկով ( $\lambda_{գր.}/\lambda_{տ.} = 250/353$ նմ.,  $F = 585.4$  պ. մ.), որն ենթարկվում է զգալի փոփոխությունների, ԳԹ – ի կոնցենտրացիայի մեծացման և ջերմաստիճանի բարձրացման դեպքում: ԳԹ – ի կոնցենտրացիայի մեծացումը ( $\approx 10^{-3}$  մոլ լ<sup>-1</sup>) բերում է սպեկտրալ ազդանշանի բաժանմանը 2 մասի, որոնցից մեկը վերանում է կոնցենտրացիայի հետագամեծացման ( $\approx 10^{-2}$  մոլ լ<sup>-1</sup>) դեպքում, իսկ մյուսը շեղվում է դեպի երկար ալիքային մարզ (\$\lambda\$ ու որեսցենտային ազդանշանի մաքսիմումը չի հայտնաբերվել սպեկտրի գրանցման տիրույթում): Ջերմաստիճանի բարձրացումը ավելի շատ ազդում է սպեկտրների քանակական, քան որակական բնութագրերի վրա:

ԳԹ – ի ջրային լուծույթների համար ներկայացված 3D սպեկտրներում դիտվում է նաև ռելեյան ցրում ( $\lambda_{գր.}/\lambda_{տ.} = 235/235$  նմ): Ռելեյան ցրման ինտենսիվությունը աճում է (35.7 – 42.4 պ. մ.) ԳԹ – ի կոնցենտրացիայի մեծացման հետ: Ջերմաստիճանի բարձրացմանը հետ ռելեյան ցրման ինտենսիվությունը աճում է (35.7 – 43.2 պ. մ.) ԳԹ – ի փոքր կոնցենտրացիաների դեպքում ( $\approx 10^{-4}$ մոլ լ<sup>-1</sup>) և գործնականորեն մնում է անփոփոխ (42.4  $\pm$ 1.0 պ. մ.) ԳԹ – ի մեծ կոնցենտրացիաների դեպքում ( $\approx 10^{-2}$ մոլ լ<sup>-1</sup>): Սպեկտրների այսպիսի փոփոխությունները ցույց են տալիս, որ ԳԹ-ի ջրային լուծույթներում տեղի են ունենում մրցակցող փոխազդեցություններ (սոցիատների առաջացում և քանդում)

կախված ԳԹ-ի կոնցենտրացիայի և ջերմաստիճանի փոփոխություններից:

Լուծույթում առցիատների և դրանց հատկությունների մանրամասն ուսումնասիրումը հնարավոր է դառնում լուծույթների ծավալային հատկությունների պարզաբանմամբ, որոնք տեղեկություն են տալիս լուծույթում ընթացող միջմոլեկուլային փոխազդեցությունների մասին: Որպես լուծույթների ծավալային հատկությունները նկարագրող մեթոդ, կարևոր նշանակություն ունի խտացափոխան մեթոդը: Ծավալային բնութագրիչներից են թվացյալ պարցիալ մոլային ծավալը, պարցիալ մոլային ծավալը, հավելյալ մոլային ծավալը և այլն:

Օգտագործելով խտացափոխան մեթոդը, մենք ուսումնասիրել ենք ԳԹ – ի լուծույթները  $5.88 \cdot 10^{-4} - 5.88 \cdot 10^{-2}$  մոլ լ<sup>-1</sup> կոնցենտրացիոն տիրույթում, 23; 28 և 33°C ջերմաստիճաններում: Նշված ջերմաստիճաններում որոշվել են խտությունների ( $\rho$ ) արժեքները, որոնք ներկայացված են նկ. 20 - ում:



Նկ. 20 ρ – ի կախվածությունը ԳԹ – ի կոնցենտրացիայից տարբեր ջերմաստիճաններում: 1 – 23; 2 – 28; 3 – 33°C:

Ինչպես երևում է նկ. 20 – ում բերված տվյալներից, լուծույթների ρ – ի արժեքները ԳԹ – ի փոքր կոնցենտրացիաների (մինչև  $5.88 \cdot 10^{-3}$  մոլ լ<sup>-1</sup>) դեպքում գործնականորեն չեն փոփոխվում, իսկ ավելի մեծ կոնցենտրացիաների դեպքում (մինչև  $5.88 \cdot 10^{-2}$  մոլ լ<sup>-1</sup> –

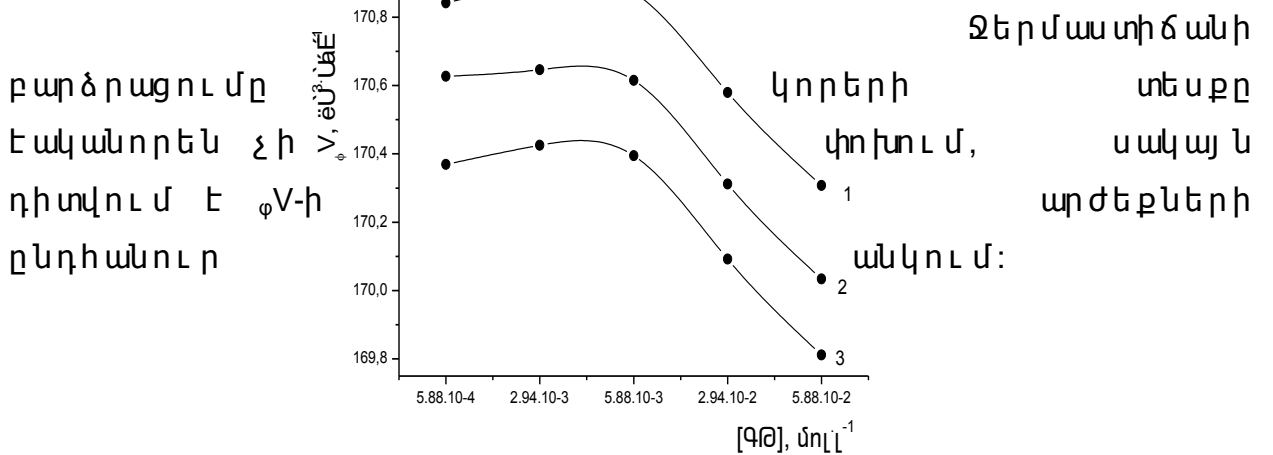


1) փոփոխվում են կտրուկ: Ձերմաստիճանի բարձրացումը չի ազդում կախվածությունների տեսքի վրա, բայց բերում է խտության արժեքների փոքրացմանը: Ելնելով խտությունների արժեքներից և օգտագործելով (21) հավասարումը.

$$\phi V = \frac{(\rho_0 - \rho)}{m\rho\rho_0} + \frac{M}{\rho} \quad (21),$$

որտեղ  $\phi V$ -ն Գթ-ի թվացյալ պարցիալ մոլային ծավալն է ( $\text{սմ}^3\text{գ}^{-1}$ ),  $\rho_0$ -ն և  $\rho$ -ն՝ լուծիչի և լուծույթի խտություններն են համապատասխանաբար ( $\text{գ}\cdot\text{սմ}^{-3}$ ),  $m$  - ը՝ լուծույթի մոլալ կոնցենտրացիան է ( $\text{մոլ}\cdot\text{կգ}^{-1}$ ),  $M$  - ը՝ Գթ-ի մոլային զանգվածն է ( $\text{գ}\cdot\text{մոլ}^{-1}$ ):

Մեր կողմից հաշվարկվել են  $\phi V$ -ի արժեքները, որոնց Գթ-ի կոնցենտրացիայից ունեցած կախվածությունները բերված են նկ. 21 - ում: Ինչպես տեսնում ենք նկ. 21 - ից,  $\phi V$  - ի արժեքները գործնականորեն չեն փոփոխվում փոքր կոնցենտրացիաների դեպքում, իսկ մեծ կոնցենտրացիաների դեպքում՝ կտրուկ փոքրանում են: Կախվածությունների այսպիսի տեսքը կարելի է բացատրել լուծույթում Գթ-ի մեծ կոնցենտրացիաների դեպքում առցված ձևերի



Նկ. 21  $\phi V$ -ի կախվածությունը Գթ-ի կոնցենտրացիայից տարբեր

ջերմաստիճաններում: 1 – 23; 2 – 28; 3 – 33°C:

φV-ի արժեքների այսպիսի փոփոխությունը կարելի է բացատրել այն հանգամանքով, որ ԳԹ – 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:

Հիմնվելով ԳԹ – ի ջրային լուծույթների ֆլուորեսցենտային սպեկտրաչափական և ծավալային հատկությունների (ρ – ի և φV – ի) վերլուծության վրա, կարող ենք ասել, որ համակարգում առկա են մրցակցող փոխազդեցություններ ԳԹ-ի մոնոմերային մոլեկուլների, ասոցիատների և դրանց հիդրատացված ձևերի միջև, որոնք կախված են ոչ միայն ԳԹ-ի կոնցենտրացիայից, այլ նաև ջերմաստիճանից [113]:

Այս կայուն ասոցիատների համար երկրաչափությունը, կառուցվածքները, լիցքերը և ներմոլեկուլային փոխազդեցությունների էներգիաները, դիպուկ մոմենտը, առաջացման էներգիան գազ ֆազում և ջրային միջավայրում (ջրի դիէլեկտրիկ թափանցելիությունը  $\epsilon_{(H_2O)} = 78.36$ ) որոշվել են քվանտաբիմիական հաշվարկների օգնությամբ (տես աղ. 3 և աղ. 4):

Աղյուսակ 3

ԳԹ-ի և ԳԹ-ԳԹ, ԳԹ – H<sub>2</sub>O կոմպլեքսների համար օպտիմալացված երկրաչափական բնութագրերը գազ ֆազում և ջրային լուծույթներում: Բազիսը - RHF/6-311+G\*:

Պարամետր	RHF/6-311+G*					
	Գազ ֆազ (ε=1)			SCRF (ε=78.36)		
	ԳԹ	ԳԹ – ԳԹ	ԳԹ – H <sub>2</sub> O	ԳԹ	ԳԹ – ԳԹ	ԳԹ – H <sub>2</sub> O
O <sub>15</sub> -H <sub>1</sub>	0.94248	0.94246	0.94241	0.94269	0.94246	0.94243
O <sub>14</sub> -H <sub>2</sub>	0.94249	0.94250	0.94239	0.94290	0.94250	0.94307
O <sub>13</sub> -H <sub>3</sub>	0.94030	0.94028	0.94020	0.94049	0.94028	0.94085

$O_{11}-H_{18}$	0.94436	0.95660	0.95335	0.94409	0.95660	0.95344
$C_4=O_{12}$	1.18651	1.20055	0.19458	1.18633	1.20055	1.19269
$C_{10}-C_4$	1.48612	1.48529	1.48823	1.48469	1.48529	1.48772
$O'_{15}-H'_1$	-	0.94246	-	-	0.94246	-
$O'_{14}-H'_2$	-	0.94250	-	-	0.94250	-
$O'_{13}-H'_3$	-	0.94028	-	-	0.94028	-
$O'_{11}-H'_{18}$	-	0.95660	-	-	0.95660	-
$C'_4=O'_{12}$	-	1.20055	-	-	1.20055	-
$C'_{10}-C'_4$	-	1.48529	-	-	1.48529	-
$O_{11}-H_{18}---O'_{12}$	-	1.83770	-	-	1.83770	-
$O'_{11}-H'_{18}---O_{12}$	-	1.83770	-	-	1.83770	-
$O_{11}-H_{18}---O_{20W}$	-	-	1.87132	-	-	1.89107
$O_{20}-H_{21}---O_{12W}$	-	-	2.25710	-	-	2.21551
$\angle O_{11}-H_{18}---O'_{12}$	-	174.31758	-	-	174.31758	
$\angle O'_{11}-H'_{18}---O_{12}$	-	174.31755	-	-	174.31755	
$\angle O_{11}-H_{18}--O_{20W}$	-		158.29659	-	-	158.29286
$\angle O_{20}-H_{21}--O_{12W}$	-		121.16119	-	-	124.15510
$\mu$ , Դեբայ	2.0586	0.0003	3.2138	2.5616	0.0003	4.360

Աղյուսակ

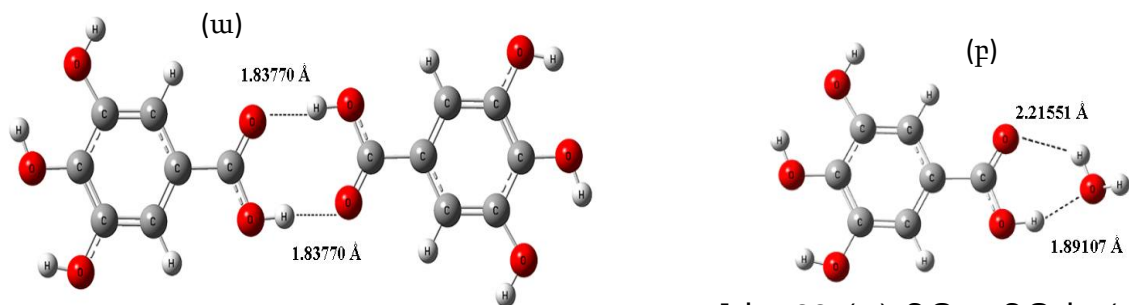
4

ԳԹ-ի և ԳԹ-ԳԹ, ԳԹ – H<sub>2</sub>O կոմպլեքսների համար ջրային  
 լուծույթներում և գազ ֆազում գումարային,  
 փոխազդեցությունների հարաբերական և միջմոլեկուլային  
 փոխազդեցությունների էներգիաները: Բազիսը - RHF/6-311+G\*:

Համակարգ	$E_{ընդ.}$ պ.մ.	$\Delta E_{հար.}$ կկալ մ նլ <sup>-1</sup>	$E_{միջմ.}$ կկալ մ նլ <sup>-1</sup>	$E_{ընդ.}$ պ.մ.	$\Delta E_{հար.}$ կկալ մ նլ <sup>-1</sup>	$E_{միջմ.}$ կկալ մ նլ <sup>-1</sup>
	Գազ – ֆազ			SCRF (ջրային միջավայր)		
	RHF/6-311+G*					
ԳԹ	-643.0559	-	-	-643.0565	-	-
ԳԹ – ԳԹ	- 1286.1336	0	-13.7306	-1286.1336	0	-12.9758
ԳԹ-H <sub>2</sub> O	-719.1095	3.7542	-9.9764	-719.1114	4.8164	-8.1594

Ինչպես երևում է աղ. 4 –ի տվյալներից ջրի առկայությունն դեպքում ավելի կայուն է ԳԹ –ի դիմերը, որի  $E_{միջմ.} = -12.9758$  կկալ մնլ<sup>-1</sup>, քանի ԳԹ – H<sub>2</sub>O կոմպլեքսը, որի համար  $E_{միջմ.} = -8.1594$  կկալ մնլ<sup>-1</sup>:

Նկ. 22–ում ներկայացված են ԳԹ–ԳԹ և ԳԹ–H<sub>2</sub>O կոմպլեքսների կառուցվածքները:



Նկ. 22 (ա) ԳԹ – ԳԹ և (բ) ԳԹ –

H<sub>2</sub>O ասոցիատների կառուցվածքները:

Այսպիսով, ԳԹ –ի ջրային լուծույթների ֆլուորեսցենսային սպեկտրաչափական, ծավալային հատկությունների և տեսական քվանտաբիմիական հաշվարկների վերլուծությունից կարող ենք ասել, որ լուծույթում առկա ԳԹ-ի մոնոմերային մոլեկուլների, հոմո- և հետերոասոցիատների, դրանց հիդրատացված ձևերի միջև մրցակցող փոխազդեցությունների վրա էական ազդեցություն ունեն ԳԹ-ի կոնցենտրացիայի և ջերմաստիճանի փոփոխությունները: Նշված ձևերից ամենակայունը ԳԹ-ի դիմերներն են:

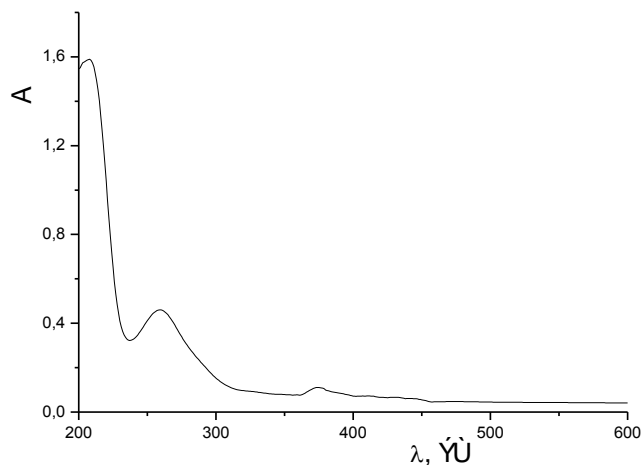
### 3.1.2 ԳԹ Մբ փոխազդեցությունների ուսումնասիրությունը

#### Էլեկտրոնային կլանման սպեկտրաչափության մեթոդով

Մարդու օրգանիզմում թթվածնի տրանսպորտը իրականանում է Մբ – ի և Հբ – ի միջոցով: Մբ – ը թթվածինը տեղափոխում և պահեստավորում է մկաններում, իսկ Հբ – ը մատակարարում է թթվածինը թոքերից դեպի հյուսվածքներ: Հարց է առաջանում, թե պոլիֆենոլների կապումը Մբ-ի և Հբ-ի հետ ինչպես կանդրադառնա թթվածնի տեղափոխման վրա:

ԳԹ-ի ջրային լուծույթների կառուցվածքային առանձնահատկությունները պարզելուց հետո ուսումնասիրվել է ԳԹ-ի փոխազդեցությունը Մբ-ի հետ: Ուսումնասիրությունները իրականացվել են էլեկտրոնային կլանման սպեկտրաչափության մեթոդի օգնությամբ, երբ Մբ-ի կոնցենտրացիան կազմել է  $3.5 \cdot 10^{-5}$  մոլ լ<sup>-1</sup>, ԳԹ – ի կոնցենտրացիան փոփոխվել է  $2.5 \cdot 10^{-5}$  –  $9 \cdot 10^{-5}$  մոլ լ<sup>-1</sup> տիրույթում: Սպեկտրները գրանցել ենք 200 – 600 նմ ալիքի երկարությունների տիրույթում 25 և 35°C ջերմաստիճաններում: Նախ գրանցել ենք լուծիչի, ապա՝ ԳԹ – ի, Մբ-ի, որից հետո՝ Մբ – ԳԹ համակարգի կլանման սպեկտրները:

Նկ. 23 –ում բերված է ԳԹ-ի էլեկտրոնային կլանման սպեկտրը ջրային լուծույթում:

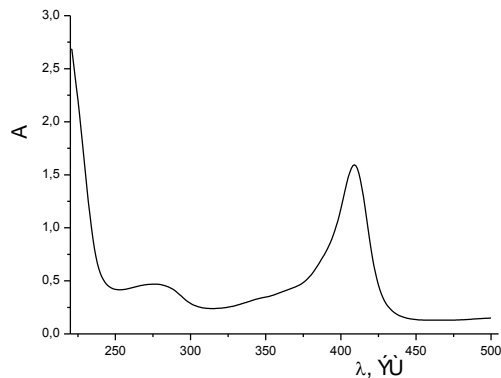


Նկ. 23 ԳԹ-ի էլեկտրոնային կլանման սպեկտրը ջրային  
լուծույթում:

[ԳԹ] -  $6.0 \cdot 10^{-5}$  մոլ լ<sup>-1</sup>; T = 25°C:

Ինչպես տեսնում ենք բերված նկարից, ջրային լուծույթում ԳԹ –ի էլեկտրոնային կլանման սպեկտրը ՈՒՄ մարզում բնութագրվում է երկու կլանումներով, որոնցից առաջինը ի հայտ է գալիս 225 նմ -ում ( $\epsilon = 26\,500 \text{ Մ}^{-1} \cdot \text{սմ}^{-1}$ ) իսկ երկրորդը՝ 260 նմ -ում ( $\epsilon = 21\,200 \text{ Մ}^{-1} \cdot \text{սմ}^{-1}$ ) [111]:

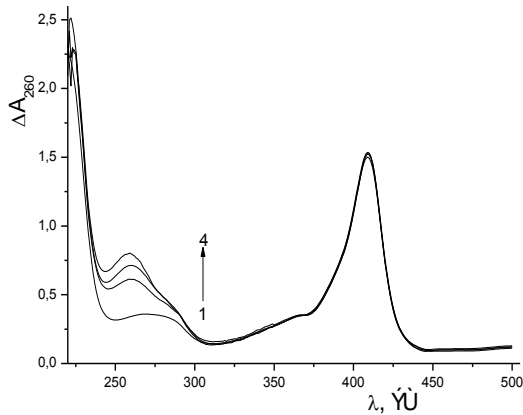
Նույն պայմաններում (լուծիչ և ջերմաստիճան) գրանցված Մբ-ի սպեկտրները բերված են նկ. 24 –ում: Մբ – ի էլեկտրոնային կլանման սպեկտրները ՈՒՄ մարզում բնութագրվում են երկու կլանումներով: Դրանցից առաջինը ի հայտ է գալիս 280 նմ ալիքի երկարության տակ ( $\epsilon = 34\,500 \text{ Մ}^{-1} \cdot \text{սմ}^{-1}$ ), որը համապատասխանում է սպիտակուցի մոլեկուլում առկա արոմատիկ ամինոթթվային մնացորդներին և երկրորդը՝ 408 նմ ալիքի երկարության տակ ( $\epsilon = 179\,000 \text{ Մ}^{-1} \cdot \text{սմ}^{-1}$ ), որը համապատասխանում է Մբ – ի մոլեկուլի պրոստետիկ հեմ խմբին [114, 115]: Մբ–ի կլանման սպեկտրներում ջերմաստիճանը 10 աստիճանով բարձրացնելիս կլանման բնութագրերի փոփոխություններ գործնականորեն չեն նկատվում, որոնք կարող էին ազդել սպեկտրների քանակական վերլուծության վրա:



Նկ. 24 Մբ – ի էլեկտրոնային կլանման սպեկտրը ֆոսֆատային բուֆերում.

[Մբ]-  $3.5 \cdot 10^{-5}$  մոլ լ<sup>-1</sup>; T = 25°C:

Նկ. 25 – ում բերված են Մբ- ԳԹ համակարգի էլեկտրոնային կլանման սպեկտրները, որոնցից նախորոք հանվել են ԳԹ-ի համապատասխան կոնցենտրացիաների սպեկտրները:



Նկ. 25 Մբ –ի էլ եկտրոնայ ին կլ անման սպեկտրները ԳԹ-ի ներկայ ու թյ ամբ ֆոսֆատայ ին բուլ ֆերու մ: [Մբ] -  $3.5 \cdot 10^{-5}$  մոլ լ<sup>-1</sup>, [ԳԹ] - 1- 0; 2-  $2.5 \cdot 10^{-5}$ ; 3-  $6.0 \cdot 10^{-5}$ ; 4 –  $9.0 \cdot 10^{-5}$  մոլ լ<sup>-1</sup>; T = 25°C

Ինչպես տեսնում ենք նկ. 25 – ից, ԳԹ –ի կոնցենտրացիան մեծացնելիս Մբ –ԳԹ կոմպլեքսի էլ եկտրոնայ ին կլ անման սպեկտրներն փոփոխության ենթարկվում է Մբ-ի միայն 280 նմ ալիքի երկարության տակ ի հայտ եկող կլ անումը, որը շարունակաբար աճում է, իսկ հեմ խմբի կլ անման հետ գործնականորեն փոփոխություններ չեն նկատվում: Բարձրանում է նաև ԳԹ-ի 260 նմ ալիքի երկարության տակ կլ անումը: Մբ – ԳԹ կոմպլեքսի էլ եկտրոնայ ին կլ անման սպեկտրների բնութագրերը տրված են աղ. 5-ում: ԳԹ-ի և Մբ-ի էլ եկտրոնայ ին կլ անման սպեկտրների համեմատությունից պարզ է դառնում, որ Մբ-ի էլ եկտրոնայ ին կլ անման սպեկտրի 280 նմ ալիքի երկարության տակ ի հայտ եկող կլ անումը, որն աճում է ԳԹ-ի կոնցենտրացիայի մեծացման հետ վերադրվում է ԳԹ-ի սպեկտրի հետ՝ առաջացնելով աջ կողմում ուս: Ստացվում է, որ Մբ-ի կլ անումը այնքան էլ հարմար չէ քանակական վերլուծություններ կատարելու համար, ուստի կոմպլեքսի առաջացման ֆիզիկաքիմիական բնութագրերը որոշելու համար հիմնվել ենք ԳԹ-ի էլ եկտրոնայ ին կլ անման սպեկտրների բնութագրերի վրա:

Աղյ ու սակ 5

Մթ – ԳԹ կոմպլեքսների կլանման արժեքները 25 և 35°C ջերմաստիճաններում:

[ԳԹ], 10 <sup>-5</sup> , լ մոլ Լ <sup>-1</sup>	T = 25°C			T = 35°C		
	A <sub>260</sub>	ΔA <sub>260</sub>	A <sub>408</sub>	A <sub>260</sub>	ΔA <sub>260</sub>	A <sub>408</sub>
2.5	0.6437	0.3391	1.6021	0.6007	0.2796	1.5490
6.0	0.9418	0.6131	1.5961	0.9155	0.5580	1.5468
8.0	1.1515	0.7133	1.5722	1.1010	0.6699	1.5521
9.0	1.2379	0.8029	1.6072	1.1705	0.7364	1.5762

Ըստ ստացված տվյալների որոշել ենք Մթ – ի ԳԹ – ի հետ կապման հաստատունը, օգտագործելով ստորև բերված հավասարումը.

$$\frac{1}{\Delta A} = \frac{1}{\Delta A_{\max}} + \frac{1}{K_B(\Delta A_{\max})} \cdot \frac{1}{[Q]}, \quad (20),$$

որտեղ  $\Delta A = A - A_0$  և  $A_0$  –ն ու  $A$ -ն՝ Մթ – ի կլանումներն են 260 նմ ալիքի երկարության տակ ԳԹ–ի բացակայության և առկայության պայմաններում համապատասխանաբար (պ. մ.),  $[Q]$ -ն՝ ԳԹ –ի կոնցենտրացիան է (մոլ Լ<sup>-1</sup>),  $\Delta A_{\max}$ -ը՝ կլանման փոփոխության է կոմպլեքսի ամբողջական առաջացման ժամանակ:

Նկ. 26-ում բերված է  $\frac{1}{\Delta A}$ -ի ԳԹ-ի

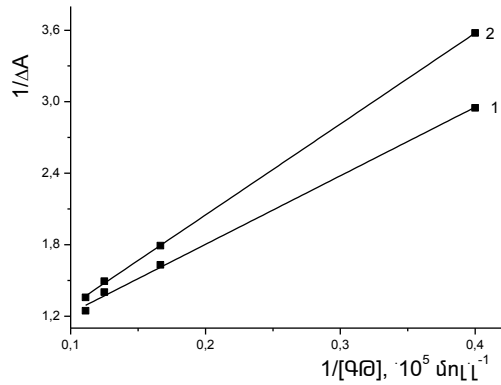
կոնցենտրացիայից  $\left(\frac{1}{[Q]}\right)$  կախվածությունը 25 և 35°C ջերմաստիճան-

ներում: Այս ուղղագծային կախվածությունների  $\frac{1}{\Delta A}$  առանցքից

կտրած հատվածը իրենից ներկայացնում է  $\frac{1}{\Delta A_{\max}}$  - ն, իսկ թեքության

անկյան տանգենտով հաշվել ենք Մթ – ԳԹ կապման հաստատունը:





Նկ. 26  $\frac{1}{\Delta A}$ -ի կախվածությունը  $1/[ԳԹ]$ :

$T = 25^{\circ}\text{C}$ ; (2)  $T = 35^{\circ}\text{C}$ :

ԳԹ – Մբ փոխազդեցությունների համար կապման հաստատունների արժեքները կազմել են  $1.11 \cdot 10^4$  ( $T = 25^{\circ}\text{C}$ ) և  $0.68 \cdot 10^4$   $\text{լ} \cdot \text{մոլ}^{-1}$  ( $T = 35^{\circ}\text{C}$ ): Ինչպես տեսնում ենք, Մբ – ԳԹ փոխազդեցությունների կապման հաստատունների ստացված արժեքներից, կարող ենք եզրակացնել, որ կոմպլեքսը միջին կայունության է, որը ջերմաստիճանի բարձրացման հետփոքրանում է:

Ելնելով Մբ – ԳԹ կապման հաստատունների արժեքներից՝ 25 և  $35^{\circ}\text{C}$  – ում հաշվել ենք կապման թերմոդինամիկական բնութագրերը ( $\Delta G$ ,  $\Delta S$ ,  $\Delta H$ ), օգտվելով հետևյալ հավասարումներից.

$$\ln \frac{k_2}{k_1} = \frac{\Delta H}{R} \left( \frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right) \quad (23),$$

որտեղ  $k_1$ -ը և  $k_2$ -ը կապման հաստատուններն են 25 և  $35^{\circ}\text{C}$ -ում ( $\text{լ} \cdot \text{մոլ}^{-1}$ ),  $\Delta H$ -ը՝ էնթալպիայի փոփոխությունն է ( $\text{կՋ} \cdot \text{մոլ}^{-1}$ ),  $R$  - ընդհանրված գազային հաստատունը ( $\text{Ջ} \cdot \text{մոլ}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ ),  $T_1$  և  $T_2$ ՝ ջերմաստիճանները (Կ), և

$$\Delta G = -RT \ln K \quad (24),$$

որտեղ  $\Delta G$ -ն Գիբսի էներգիայի փոփոխությունն է ( $\text{կՋ} \cdot \text{մոլ}^{-1}$ ),  $T$ ՝ ջերմաստիճանը (Կ),  $R$ ՝ ընդհանրված գազային հաստատունը ( $\text{Ջ} \cdot \text{մոլ}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ ),  $K$ ՝ հավասարակշռության հաստատունը:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (13),$$

որտեղ  $\Delta G$ -ն Գիբսի էներգիայի (կՋ·մոլ<sup>-1</sup>),  $\Delta H$ -ը՝ Էնթալպիայի (կՋ·մոլ<sup>-1</sup>) և  $\Delta S$ -ը Էնտրոպիայի փոփոխությունն են (Ջ·մոլ<sup>-1</sup>·Կ<sup>-1</sup>) (տես աղ. 6 – ում):

Աղյուսակ 6

Մբ – ԳԹ կապման հաստատունի և կապման թերմոդինամիկական բնութագրերի արժեքները:

T, °C	$K_b \cdot 10^4$ , լ·մոլ <sup>-1</sup>	$\Delta H$ , կՋ·մոլ <sup>-1</sup>	$\Delta S$ , Ջ·մոլ <sup>-1</sup> ·Կ <sup>-1</sup>	$\Delta G$ , կՋ·մոլ <sup>-1</sup>
25	1.11	-36.24	-44.19	-23.06
35	0.68			-22.62

$\Delta G$ -ի բացասական արժեքը ցույց է տալիս, որ կոմպլեքսի առաջացումը ինքնաբերաբար ընթացող պրոցես է, իսկ  $\Delta H$  և  $\Delta S$  թերմոդինամիկական պարամետրերի արժեքների և նշանների (բացասական) համադրումը, ըստ Ռոսի - Սուբրամանյանի տեսության, մատնանշում է, որ Մբ – ԳԹ կոմպլեքսը առավել ապես կայունանում է ի հաշիվ ջրածնական կապերի [83]:

ԳԹ - ի Մբ - ի հետ կապման կենտրոնների թիվը 25 և 35°C ջերմաստիճաններում որոշվել են, օգտագործելով հետևյալ հավասարումը.

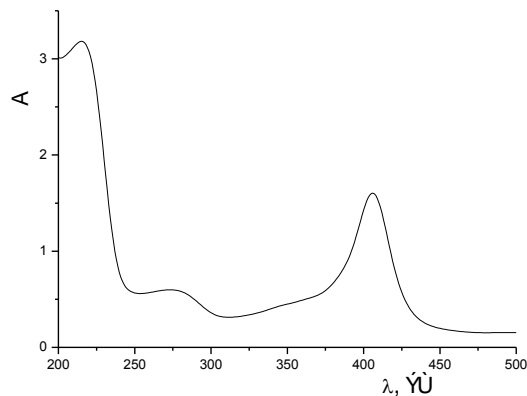
$$\log[\Delta A / (\Delta A_\infty - \Delta A)] = h \log[Q] + \log K_D \quad (25),$$

որտեղ  $K_D$ -ն դիսոցիման հաստատունն է (լ·մոլ<sup>-1</sup>), իսկ  $h$ -ը՝ Յիլի գործակիցն է: Մբ–ԳԹ փոխազդեցությունների համար 25 և 35°C ջերմաստիճաններում Յիլի գործակցի արժեքները կազմել են 1.01(±0.03) և 0.99(±0.03) համապատասխանաբար: Այսինքն, ջերմաստիճանը 10 աստիճանով բաժրացնելիս Յիլի գործակիցների արժեքների հետեական փոփոխություններ տեղի չեն ունենում: Սակարելի բացատրել նրանով, որ ԳԹ -ի կապումը Մբ – ի հետ կրում է միակենտրոն բնույթ:

Ի մի բերելով արդյունքները կարող ենք ասել, որ ԳԹ - Մբ փոխազդեցությունների արդյունքում առաջանում է միջին կայունություն կոմպլեքս, որի կայունությունը հիմնականում պայմանավորված է ջրածնական կապերով: ԳԹ-ի կապումը Մբ-ի հետ կրում է միակենտրոն բնույթ:

### **3.1.2 ԳԹ-Յբ փոխազդեցությունների ուսումնասիրությունը Էլեկտրոնային կլանման սպեկտրաչափության մեթոդով**

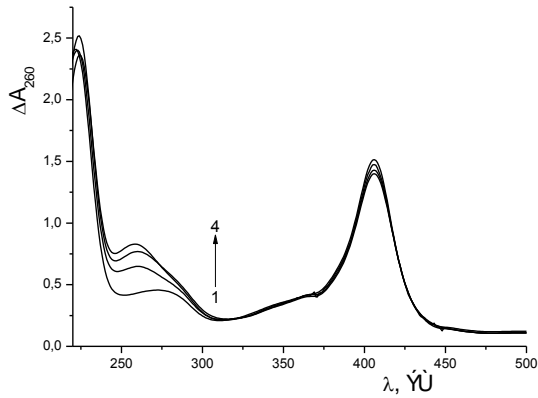
Յբ – ԳԹ փոխազդեցությունները ևս ուսումնասիրվել ենք՝ օգտագործելով Էլեկտրոնային կլանման սպեկտրաչափության եղանակը: Նկ. 27-ում ներկայացված է մաքուր Յբ – ի Էլեկտրոնային կլանման սպեկտրը:



Նկ. 27 Յբ – ի Էլեկտրոնային կլանման սպեկտրը: [Յբ]-  $3.956 \cdot 10^{-6}$  մոլ լ<sup>-1</sup>; T = 25°C:

Յբ – ԳԹ փոխազդեցությունների հետևանքով առաջացող կոմպլեքսների քանակական գնահատումը իրականացվել է Մբ – ԳԹ փոխազդեցությունների հետևանքով առաջացող կոմպլեքսների քանակական գնահատման նման, այսինքն, առաջացող կոմպլեքսի ֆիզիկաքիմիական բնութագրերը որոշելու համար հիմնվել ենք ԳԹ-ի սպեկտրալ բնութագրերի վրա:

Նկ. 28-ում բերված են Յբ - ԳԹ համակարգի Էլեկտրոնային կլանման սպեկտրները, որոնցից նախորոք հանվել են ԳԹ-ի համապատասխան կոնցենտրացիաների սպեկտրները:



Նկ. 28 Յբ –ի էլ եկտրոնայ ին կլ անման սպեկտրները ԳԹ-ի ներկայ ու թյ ամբ:

[Յբ] -  $3.956 \cdot 10^{-6}$  մոլ լ<sup>-1</sup>, [ԳԹ]- 1- 0; 2-  $2.5 \cdot 10^{-5}$ ;

3-  $6.0 \cdot 10^{-5}$ ; 4 –  $9.0 \cdot 10^{-5}$  մոլ լ<sup>-1</sup>: T = 25°C:

Ինչպես տեսնում ենք նկ. 28 – ից, ԳԹ-ի կոնցենտրացիան մեծացնելիս կտրուկ աճում է Յբ-ի միայն 280 նմ ալիքի երկարության տակի հայտնվող կլ անումը, իսկ հեմ խմբի կլ անման աճը փոքր է: Ընդ որում, գնահատել Յբ-ի կլ անման շեղումը այս պարագայում հնարավոր չէ, իսկ հեմ խմբի կլ անման շեղում չի դիտվում: Ստացված արդյունքները ամփոփված են աղ. 7-ում:

Աղյուսակ

7

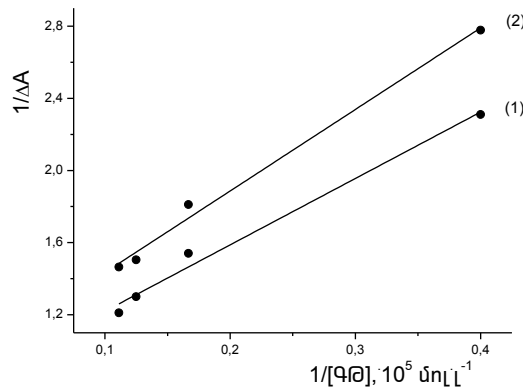
Յբ – ԳԹ կոմպլեքսների կլ անման արժեքները 25 և 35°C ջերմաստիճաններում:

[ԳԹ], $10^{-5}$ . լ մոլ <sup>-1</sup>	T = 25°C			T = 35°C		
	A <sub>260</sub>	ΔA <sub>260</sub>	A <sub>405</sub>	A <sub>260</sub>	ΔA <sub>260</sub>	A <sub>405</sub>
2.5	0.8091	0.4329	1.5853	0.7361	0.3600	1.5071
6.0	1.1088	0.6492	1.5376	1.1018	0.5522	1.4657
8.0	1.3000	0.7691	1.5016	1.1954	0.6645	1.4268
9.0	1.4094	0.8264	1.4900	1.2661	0.6831	1.3737

Ըստ ստացված տվյալների որոշել ենք Յբ – ի ԳԹ – ի հետ կապման հաստատունը՝ օգտագործելով (20) հավասարումը:

$\frac{1}{\Delta A}$ -ի ԳԹ-ի կոնցենտրացիայից  $\left(\frac{1}{[Q]}\right)$  կախվածության (տես նկ.

29) թեքության անկյան տանգենսով հաշվել ենք Յբ-ԳԹ կապման հաստատունը 25 և 35°C ջերմաստիճաններում, որոնք կազմում են  $2.31 \cdot 10^4$  և  $1.52 \cdot 10^4$  մոլ<sup>-1</sup>:



Նկ. 29  $\frac{1}{\Delta A}$ -ի կախվածությունը  $1/[Q]$ :

T = 25°C; (2) T = 35°C:

Յբ – ԳԹ փոխազդեցությունների կապման հաստատունների ստացված արժեքներից երևում է, որ առաջացող կոմպլեքսը միջին կայունության է, որը ջերմաստիճանի բարձրացման հետ փոքրանում է:

Յբ – ԳԹ կապման հաստատունների համար ստացված արժեքներից՝ 25 և 35°C – ում հաշվել ենք կապման թերմոդինամիկական բնութագրերը՝ ΔG-ն, ΔS-ը, և ΔH, օգտվելով վերը նշված (23) և (13) հավասարումներից: Ստացված արդյունքները ներկայացված են աղ. 8 – ում:

Աղյուսակ  
8

Յբ – ԳԹ կապման թերմոդինամիկական բնութագրերի արժեքները:

T, °C	ΔH, կՋ·մոլ <sup>-1</sup>	ΔS, Ջ·մոլ <sup>-1</sup> ·Կ <sup>-1</sup>	ΔG, կՋ·մոլ <sup>-1</sup>
25	-33.95	-73.66	-12.00
35			-11.25

Մեր կողմից ԳԹ – Յբ փոխազդեցությունների համար հաշվարկված ΔG-ի բացասական արժեքը ցույց է տալիս, որ ԳԹ - Յբ

կոմպլեքսի առաջացումը ինքնաբերաբար ընթացող պրոցես է, իսկ  $\Delta H$  և  $\Delta S$  թերմոդինամիկական պարամետրերի բացասական արժեքները, Ռոսի-Սուբրամանյանի տեսության, ցուցանիշ են այն բանի, որ  $\Delta G$  –  $\Delta G$  կոմպլեքսը առավել ապես կայունանում է ի հաշիվ ջրածնական կապերի:

$\Delta G$ -ի  $\Delta G$ -ի հետ կապման կենտրոնների թիվը 25 և 35°C ջերմաստիճաններում որոշվել են՝ օգտագործելով (25) հավասարումը, որոնք կազմել են 1.11( $\pm$ 0.02) և 1.09( $\pm$ 0.02) համապատասխանաբար:

Սակայն  $\Delta G$ -ի էլեկտրոնային կլանման սպեկտրների վերլուծության ընդհանուր (դիտվում է կլանման փոքր բարձրացում, սակայն շեղում չի նկատվում) պարզ է դառնում, որ  $\Delta G$ -ի հեմ խմբի հետ տեղի է ունենում ինչ-որ կառուցվածքային փոփոխություն: Այս պարզեցում և բազմակողմանի ու ավելի խորը բացատրություններ տալու համար անհրաժեշտ կլինի հետազոտությունների նոր շարք կազմակերպել:

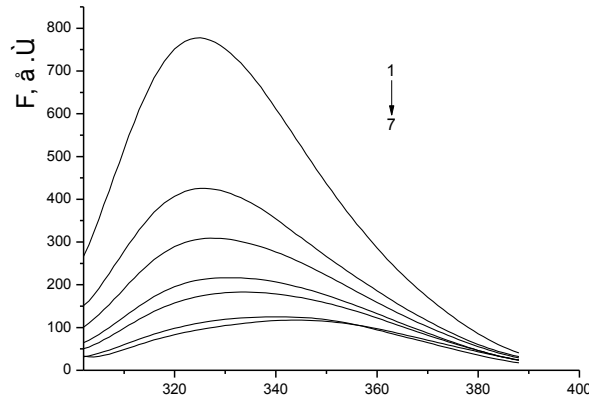
### 3.1.3 $\Delta G$ – Մբ փոխազդեցությունների ուսումնասիրությունը

$\Delta G$ -ն իրենից ներկայացնում է  $\Delta G$  – ի տասը և գլյուկոզի մեկ մոլեկուլից բաղկացած միացություն: Այն պարունակվում է բուլբուլներում, մրգերում, մրգերի կորիզներում՝ այլ պրիֆենոլների հետխառնուրդի տեսքով: Ինչպես  $\Delta G$ -ն, այնպես էլ  $\Delta G$ -ն օժտված է կենսաբանական մեծ ակտիվությամբ [102]: Մեր կողմից ուսումնասիրվել է  $\Delta G$ -ի կապումը Մբ-ի և  $\Delta G$ -ի հետ ֆլուորեսցենսային սպեկտրաչափության մեթոդով, որոշվել են կոմպլեքսների առաջացման մեխանիզմը, ինչպես նաև կառուցվածքային որոշ բնութագրեր:

Ինչպես հայտնի է, սպիտակուցների սեփական ֆլուորեսցենսիան պայմանավորված է դրանց մոլեկուլներում առկա երեք արոմատիկ ամինոթթվային մնացորդներով՝ Trp, Tyr և Phe [75]: Մբ –ը պարունակում է երկու Trp – այն ին մնացորդները (7 – րդ և 14 – րդ դիրքերում), որոնք ֆլուորեսցենսային սպեկտրում ի հայտ են գալիս մեկ առաջման աղդանշանով [116]: Պետք է նշել նաև,

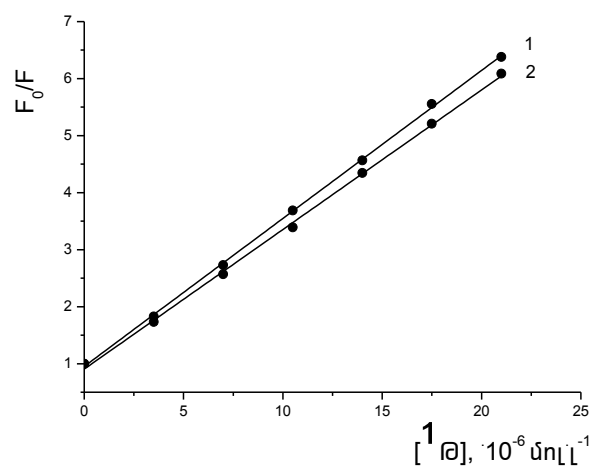
որ Մբ – ի մոլեկուլներում առկա հեմ խումբը չի ֆլուորեսցենցում [117]:

Նկ. 30-ում բերված են Մբ-ի ֆլուորեսցենսային առաքման սպեկտրները ԴԹ-ի ներկայ ու թյամբ:



Նկ. 30 Մբ – ի ֆլուորեսցենցիայի մարման սպեկտրները ԴԹ – ի ներկայ ու թյամբ: [Մբ]-  $3.5 \cdot 10^{-5}$  մոլ լ<sup>-1</sup>; [ԴԹ] - 1 – 0; 2 –  $3.5 \cdot 10^{-6}$ ; 3 –  $7 \cdot 10^{-6}$ ; 4 –  $10.5 \cdot 10^{-6}$ ; 5 -  $14 \cdot 10^{-6}$ ; 6 -  $17.5 \cdot 10^{-6}$ ; 7 –  $21 \cdot 10^{-6}$  մոլ լ<sup>-1</sup>; T = 25°C:

Սպեկտրները գրանցվել են  $\lambda_{գր.} = 280$  նմ ալիքի երկարությամբ տակ  $\lambda_{տռ.} = 290 - 400$  նմ տիրույթում: Գրգռման և առաքման ճեղքերը կազմել են 20նմ և 10նմ համապատասխանաբար: Չափումները կատարվել են 25 և 35°C: Նկ. 30 - ից երևում է, որ ԴԹ – ի ներկայ ու թյամբ տեղի է ունենում Մբ – ի ֆլուորեսցենցիայի մարում և առաքման տեղաշարժ դեպի երկար ալիքային մարզ: Նկ. 30 – ում ներկայացված սպեկտրներից որոշված առաքման մաքսիմումի տվյալներից, Մբ -ԴԹ փոխազդեցության ներքին համար կառուցվել է Շտեռնի – Ֆոլմերի կախվածությունը 25 և 35°C ջերմաստիճաններում, որոնք բերված են նկ. 31 – ում:



Նկ. 31 Շտեռնի – Ֆոլմերի կախվածությունը Մբ – ԴԹ

փոխազդեցությունների համար:  $T = 1 - 25; 2 - 35^{\circ}\text{C}$ :

Ինչպես տեսնում ենք, ԴԹ-ով Մբ-ի  $\Phi$  լուորեցեցեցիայի մարումը բնութագրվում է Շտեռնի – Ֆոլմերի ուղղագծային կախվածությամբ, որը ջերմաստիճանը բարձրացնելիս շեղվում է դեպի մարիչի կոնցենտրացիային առանցքը: Ելնելով տարբեր ջերմաստիճաններում Շտեռնի – Ֆոլմերի կախվածության ընթացքից որոշվել է ԴԹ-Մբ կապման մեխանիզմը: ԴԹ – Մբ կապման համար Շտեռնի - Ֆոլմերի հաստատունի արժեքները որոշվել են ըստ (1) հավասարման:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + k_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{sv} [Q] \quad (1),$$

որտեղ  $F_0$ -ն  $\Phi$  լուորեցեցեցիայի ինտենսիվությունն է մարիչի բացակայության պայմաններում (պ.մ.),  $F$ -ը՝  $\Phi$  լուորեցեցեցիայի ինտենսիվությունը մարիչի ներկայությամբ (պ.մ.),  $k_q$  – ն՝ բիմոլեկուլային բախման հաստատունը ( $\text{լ}\cdot\text{մոլ}^{-1}\cdot\text{վրկ}^{-1}$ ),  $\tau$ -ն՝  $\Phi$  լուորոֆորի կյանքի տևողությունը (վրկ.),  $Q$ -ն՝ մարիչի կոնցենտրացիան ( $\text{մոլ}\cdot\text{լ}^{-1}$ ),  $K_{sv}$  – ն՝ Շտեռնի – Ֆոլմերի հաստատունը ( $\text{լ}\cdot\text{մոլ}^{-1}$ ):  $K_b$ -ի և  $n$ -ի արժեքները որոշվել են համաձայն (11) հավասարման:

ԴԹ – Մբ կապման ֆիզիկաքիմիական բնութագրերը ներկայացված են աղյուսակ 9 – ում:

Աղյուսակ 9

ԴԹ–Մբ կապման ֆիզիկաքիմիական բնութագրերը 25 և 35°C -

ուժ:

$T, ^{\circ}\text{C}$	$K_{sv}, 10^5 \text{լ}\cdot\text{մոլ}^{-1}$	$k_q, 10^{13} \text{լ}\cdot\text{մոլ}^{-1}\cdot\text{վ}^{-1}$	$K_b, \text{լ}\cdot\text{մոլ}^{-1}$	$n$	$R$
25	2.59	2.59	$8.31 \cdot 10^5$	1.08	0.99919
30	2.44	2.44	$5.88 \cdot 10^5$	1.05	0.99871

R-ը՝ կորելիացիայի գործակից



Յիմնվելով նկ. 31-ի և աղ. 9 - ում ներկայացված տվյալների (K<sub>sv</sub>, k<sub>q</sub>, K<sub>b</sub> և n) վրա, կարող ենք ասել, որ Մբ – ի ֆլուորեսցենցիայի մարումը ԴԹ – ով ընթանում է ստատիկ մեխանիզմով: K<sub>b</sub> – ի համար ստացված արժեքները ցույց են տալիս, որ Մբ – ԴԹ փոխազդեցության հետևանքով առաջացող կոմպլեքսը ունի միջին կայունություն, որը ջերմաստիճանի բարձրացման հետ փոքրանում է: Որոշվել է նաև Յիլի գործակիցը, որը ջերմաստիճանի բարձրացման հետ գործնականորեն չի փոխվում՝ մնալով մեկին մոտ: Սա ցույց է տալիս, որ կապումը ընթանում է միակենտրոն մեխանիզմով:

Որոշվել է Մբ – ԴԹ փոխազդեցության թերմոդինամիկական բնութագրերը ( $\Delta G$ ,  $\Delta H$  և  $\Delta S$ ) ըստ (12) և (13) հավասարումների, որոնք ներկայացված են աղ 10 – ում:

Աղյուսակ  
10

Մբ – ԴԹ կապման թերմոդինամիկական բնութագրերը 25 և 30°C – ում:

T, °C	$\Delta H$ , կՋ·մոլ <sup>-1</sup>	$\Delta S$ , Ջ·մոլ <sup>-1</sup> ·Կ <sup>-1</sup>	$\Delta G$ , կՋ·մոլ <sup>-1</sup>
25	-51.98	-61.03	-33.78
30			-33.47

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 ՖՌԷԱ-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. 11 – ում:

$$J(\lambda) = \frac{\int_0^{\infty} F_d(\lambda) \varepsilon_A \lambda^4 d\lambda}{\int_0^{\infty} F_d(\lambda) d\lambda} = \frac{\int_0^{\infty} F_d(\lambda) \varepsilon_A \lambda^4 d\lambda}{\int_0^{\infty} F_d(\lambda) d\lambda} \quad (16),$$

որտեղ  $F_d(\lambda)$  -ն D-ի  $\Phi_L$  ու որոշեցնեցիայի նորմավորված ինտենսիվությունն է (ս.մ.),  $\varepsilon_A$  - ն A -ի էքստինկցիայի գործակիցը (լ.մոլ<sup>-1</sup>.սմ<sup>-1</sup>):

E - ի արժեքը որոշվում է համաձայն հետևյալ հավասարման:

$$E = \frac{k_T(r)}{\tau_D^{-1} + k_T(r)} \quad (17),$$

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

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

$$k_T(r) = \frac{Q_D \kappa^2}{\tau_D r^6} \left( \frac{9000(\ln 10)}{128\pi^5 N n^4} \right) J(\lambda) \quad (15),$$

որտեղ  $Q_D$  - ն D - ի քվանտային ելքն է, n - ը լուծիչի բեկման ցուցիչը, N - ը Ավոգադրոյի թիվը ( $6.02 \cdot 10^{23}$  մոլ<sup>-1</sup>),  $\kappa^2$  - ն D - ի և A - ի դիպոլ մոմենտների փոխադարձ դասավորվածությունը բնութագրող գործոնը, որը կախված D - A հեռավորությունից և կարող է ընդունել 0 - ից մինչև 4 արժեքները (կենսամոլեկուլների, և հատկապես սպիտակուցների համար օգտագործվում է  $\kappa^2 = 2/3$  արժեքը):

Չաշվի առնելով (14) հավասարումը, կստանանք.

$$E = \frac{R_0^6}{R_0^6 + r^6} \quad (18),$$

որտեղ  $R_0$ -ն իրենից ներկայացնում է այն հեռավորությունը, որի դեպքում ռեզոնանսային էներգիայի անցումը իրականանում է 50% - ով (սմ), r - ը՝ D - A հեռավորությունը (սմ):

Բացի դրանից, E – ի արժեքը կարող ենք որոշել նաև ըստ հետևյալ հավասարման.

$$E = 1 - \frac{F_{DA}}{F_D} \quad (19),$$

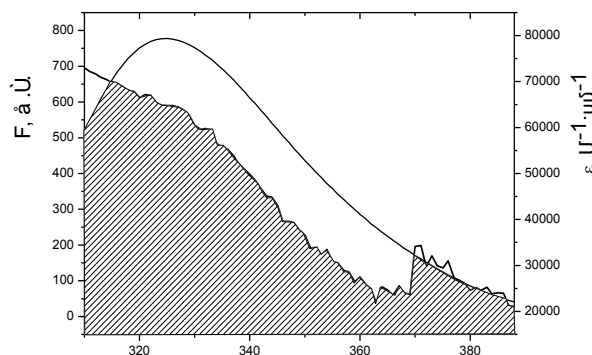
որտեղ  $F_{DA}$  – ն ֆլուորեսցենցիայի ինտենսիվությունն է A-ի ներկայությունում, իսկ  $F_D$  – ն՝ A – ի բացակայությունում (պ.մ.):

Աղյուսակ  
11

Մթ – Դթ կոմպլեքսի համար E-ի, J-ի, r-ի և  $R_0$ -ի արժեքները 25 և 30°C –ում:

T, °C	E	J, $10^{-14}$ սմ <sup>3</sup> լ մոլ <sup>-1</sup>	r, նմ	$R_0$ , նմ
25	0.453	6.518	2.13	2.06
30	0.422	6.649	2.18	2.07

Նկ. 32-ում ներկայացված է Մթ – ի ֆլուորեսցենսային առաքման և Դթ-ի էլեկտրոնային կլանման սպեկտրերի վերադրումը 298.154-ում, երբ Մթ-ի կոնցենտրացիան կազմել 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. 32 Մթ – ի առաքման և Դթ  $\lambda, \text{նմ}$  – ի կլանման սպեկտրների վերադրումը:

[Մթ] -  $3.5 \cdot 10^{-5}$  մոլ լ<sup>-1</sup>; [Դթ] -  $3.5 \cdot 10^{-6}$  մոլ լ<sup>-1</sup>; T = 25°C:

Դթ – Մթ փոխազդեցությունների համար այս հաշվարկները իրականացնելիս օգտագործվել է  $\Phi = 0.065$ ,  $\kappa^2 = 2/3$  և  $n = 1.336$

արժեքները [118]: Յաշվարկված  $R_0$ -ի և  $r$ -ի արժեքները գտնվում են  $0.5R_0 < r < 1.5R_0$  տիրույթում:  $r$ -ի արժեքը, որ 2-8 նմ-ի սահմաններում է, հիմնավորում է այն փաստը, որ Մբ-ի  $\Phi$  լուորեցենցիայի մարումը ԴԹ-ով կրում է ստատիկ բնույթ, առաջացած կոմպլեքսի կայունությանը փոքրանում է ջերմաստիճանի բարձրացման հետ [119]:

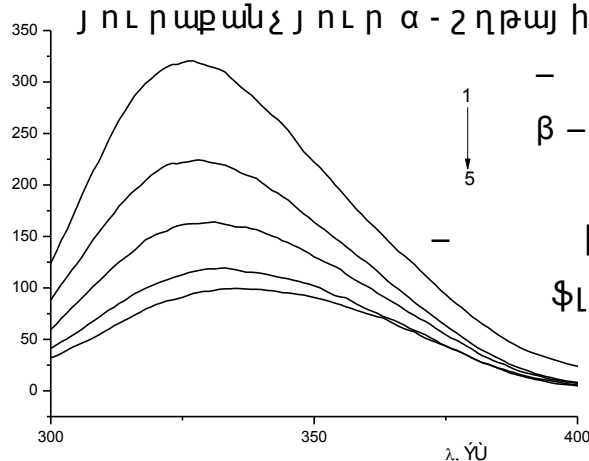
Մբ-ԳԹ և Մբ-ԴԹ կոմպլեքսների համեմատություննից կարող ենք ասել, որ ԴԹ-ի դեպքում առաջացող կոմպլեքսները ավելի կայուն են, քանի որ կապման հաստատունը մեծ է մեկ կարգով, կապման թերմոդինամիկական բնութագրերի արժեքները նույնպես:

### 3.1.4 ԴԹ- Յբ փոխազդեցությունների ուսումնասիրությունը

ԴԹ - ի և Յբ - ի միջև կապումը ուսումնասիրվել է  $\Phi$  լուորեցենտային սպեկտրաչափական մեթոդով: ԴԹ - ով Յբ - ի  $\Phi$  լուորեցենտային առաքման սպեկտրները գրանցվել են  $\lambda_{գր.} = 280$  նմ ալիքի երկարության տակ,  $\lambda_{տն.} = 290 - 400$  նմ տիրույթում, երբ գրգռման և առաքման ճեղքերը կազմել են 10 նմ: Չափումները կատարելուց առաջ Յբ - ի լուծույթը անց է կացվել PD - 10 տարրաբաժանիչ աշտարակի (Sephadex G - 25) միջով, որը լիցքավորված է միմյանց հետխաչած և կապված դեքստրանի մոլեկուլների գելով: Այս տարրաբաժանիչ աշտարակը թույլ է տալիս հեռացնել ցածր մոլեկուլային զանգված ունեցող միացությունները ( $M_r < 1000$ ) մեծ մոլեկուլային զանգված ունեցող միացություններից ( $M_r > 5000$ ) [120-122]:

Յբ - ի  $\Phi$  լուորեցենտային առաքման սպեկտրները ԴԹ - ի ներկայությամբ բերված են նկ. 33 - ում: Յբ - ի մոլեկուլը պարունակում է վեց Trp - ային, երեսուն Phe - ային և տասներկու Tyr - ային մնացորդներ, որոնցից մեկական Trp-ային մնացորդներ գտնվում են

յուրաքանչյուր  $\alpha$ -շղթայի՝ 14-րդ դիրքում և երկուական Trp<sub>37</sub> յուրաքանչյուր 37 - րդ դիրքում: Պարզվել է, որ Յբ

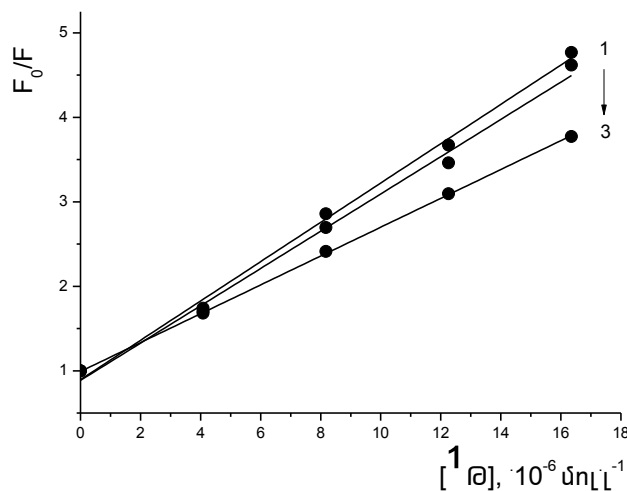


ային մնացորդ՝  $\beta$ -շղթայի 15-րդ և դիրքերում: ի սեփական  $\Phi$  լուորեցենցիան

պայմանավորված է միայն  $\beta - 37$  դիրքում գտնվող Trp – ային մնացորդով [107]: Կարևոր է նշել նաև, որ Յբ – ի մոլեկուլում առկա հեմ խումբը չի ֆլուորեսցենցում [117]:

Նկ. 33 Յբ – ի ֆլուորեսցենցիայի մարման սպեկտրները ԴԹ-ով;  
 [Յբ]-  $3.956 \cdot 10^{-6}$  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 = 25°C:

Նկ. 33 - ից երևում է, որ ԴԹ-ի կոնցենտրացիայի մեծացման հետ տեղի է ունենում Յբ – ի ֆլուորեսցենտային ինտենսիվության նվազում, որը պայմանավորված է Յբ-ի ԴԹ-ի հետ կապմամբ: Բացի դրանից նկատվում է առաքման մաքսիմումի տեղաշարժ դեպի երկարալիքային մարզ, որը վկայում է Յբ – ԴԹ փոխազդեցությունների բևեռային բնույթ կրելու մասին: Ստացված արդյունքների հիման վրա կառուցել ենք Շտեռնի-Ֆոլմերի կախվածությունը՝ 25, 30 և 36.6 °C ջերմաստիճանների համար (տես Նկ. 34):



Նկ. 34 Շտեռնի – Ֆոլմերի կախվածությունը Յբ – ԴԹ փոխազդեցությունների համար: [Յբ] -  $3.956 \cdot 10^{-6}$  մոլ լ<sup>-1</sup>; [ԴԹ]-  $4.088 \cdot 10^{-6}$  –  $16.352 \cdot 10^{-6}$  մոլ լ<sup>-1</sup>;

$$T = 1 - 25; 2 - 30; 3 - 36.6 \text{ } ^\circ\text{C:}$$

Ինչպես տեսնում ենք նկ. 34-ից,  $F_0/F=f[Q]$  կախվածությունը 3 տարբեր ջերմաստիճանների համար էլ ունի ուղղագծային տեսք: Ջերմաստիճանի բարձրացման հետ դիտվում է ուղղագծային կախվածության շեղում դեպի  $\Gamma\theta$  – ի կոնցենտրացիաների առանցքը, ինչը ցույց է, որ  $\text{Յբ}$  – ի  $\text{Ֆլուորեսցենցիայի}$  մարումը  $\Gamma\theta$  – ով ընթանում է ստատիկ մեխանիզմով: Այս կախվածություններից որոշվել է Շտեռնի - Ֆոլմերի հաստատունի արժեքները տարբեր ջերմաստիճաններում, դրանց հիման վրա՝ բիմոլեկուլային բախման հաստատունները օգտագործելով (1) հավասարումը: Ստացված արդյունքները ամփոփված են աղ. 12 – ում:

Աղյուսակ  
12

Շտեռնի – Ֆոլմերի և բիմոլեկուլային բախման  
հաստատունների արժեքները

$\Gamma\theta$  –  $\text{Յբ}$  փոխազդեցությունների համար 25, 30 և 36.6  $^\circ\text{C}$ :

T, $^\circ\text{C}$	$K_{SV}, 10^5 \text{ L} \cdot \text{մոլ}^{-1}$	$k_q, 10^{13} \text{ L} \cdot \text{մոլ}^{-1} \cdot \text{վ}^{-1}$	R
25	2.34	2.34	0.97733
30	2.28	2.28	0.97984
36.6	1.70	1.70	0.99957

R – ը կորելիացիայի գործակիցն է

Հիմնվելով Շտեռնի – Ֆոլմերի կախվածության վրա և օգտագործելով (12) և (13) հավասարումները,  $\Gamma\theta$  –  $\text{Յբ}$  փոխազդեցությունների համար հաշվարկվել են նաև կապման  $\text{Ֆիզիկաքիմիական}$  և  $\text{թերմոդինամիկական}$  բնութագրերը, որոնք ներկայացված են աղ. 13 – ում:

Աղ. 13 – ու մ ներկայացված  $K_b$  – ի արժեքներից երևում է, որ առաջացած կոմպլեքսը միջին կայունության է, լիզանդի կապումը դարձելի: Ջերմաստիճանը բարձրացնելիս կոմպլեքսի կայունությունը փոքրանում է, որը հաստատում է ստատիկ մարման մեխանիզմը:

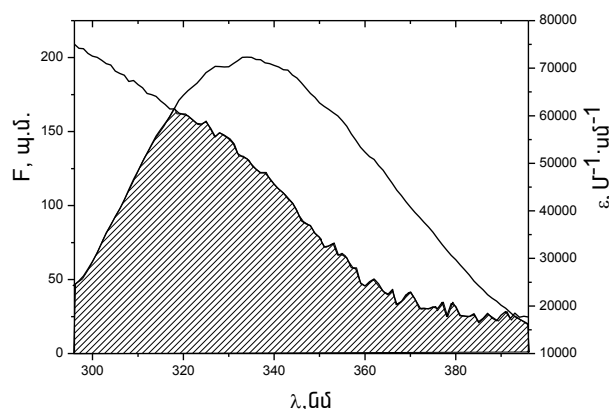
Աղյուսակ  
13

ԴԹ – Յբ փոխազդեցությունների համար կապման  
ֆիզիկաքիմիական  
և թերմոդինամիկական բնութագրերը 25, 30 և 36.6 °C  
ջերմաստիճաններում:

T, °C	$K_b$ , $10^6, \text{լ} \cdot \text{մոլ}^{-1}$	$\Delta H$ , $\text{կՋ} \cdot \text{մոլ}^{-1}$	$\Delta S$ , $\text{Ջ} \cdot \text{մոլ}^{-1} \cdot$ $^{\circ}\text{C}^{-1}$	$\Delta G$ , $\text{կՋ} \cdot \text{մոլ}^{-1}$	n, (Յիլի գործ.)
25	4.57	-197.33	-532.20	-38.66	1.30
30	1.76			-36.00	1.20
36.6	0.21			-32.48	1.03

$\Delta G$  – ի ընդունած բացասական արժեքներից կարելի է ասել, որ ԴԹ – Յբ կապումը տեղի է ունենում ինքնաբերաբար, իսկ  $\Delta S$ -ի և  $\Delta H$ -ի արժեքները ցույց են տալիս, որ ԴԹ-ի և Յբ-ի կապման հետևանքով առաջացող կոմպլեքսը կայունանում է վանդերվալ սյան փոխազդեցությունների և ջրածնական կապերի հաշվին: n – ի արժեքները ցույց են տալիս, որ ԴԹ – Յբ փոխազդեցությունները կրում են ոչ կոոպերատիվ բնույթ:

Օգտագործելով (15), (16), (17), (18) և (19) հավասարումները, Յբ – ԴԹ փոխազդեցությունների համար որոշել ենք նաև J – ի,  $R_0$ -ի, E-ի և r – ի արժեքները 25 °C: J – ի արժեքը որոշվել է Յբ – ի ֆլուորեսցենսային առաքման և ԴԹ – ի էլեկտրոնային կլանման սպեկտրի վերադրումով, որը ներկայացված է նկ. 35-ում:



Նկ. 35 Յբ – ի առաքման և ԴԹ – ի կլ անման սպեկտրների վերադրումը:

[Յբ] -  $4.088 \cdot 10^{-6} \text{մոլ } \text{լ}^{-1}$ ; [ԴԹ] -  $4.088 \cdot 10^{-6} \text{մոլ } \text{լ}^{-1}$ ;  $T = 25^\circ\text{C}$ :

J – ի արժեքը կազմել է  $J=3.627 \cdot 10^{-14} \text{սմ}^3 \cdot \text{լ}^{-1} \cdot \text{մոլ}^{-1}$ , իսկ  $R_0=2.69 \text{նմ}$ ,  $E=0.456$  և  $r=2.76 \text{նմ}$ : Յբ – ի համար քվանտայ ին տել քը ( $\Phi$ ) հավասար է եղել 0.062 [123]: Ել նել ով r – ի և  $R_0$ -ի ընդունած արժեքներից, որ կարող ենք ասել, որ ԴԹ-ով Յբ – ի  $\Phi$  ու որեցեցեցիայ ի մարումը նույն պես տեղի է ունենում ստատիկ մեխանիզմով, քանի որ այն նույնպես բավարարում է  $0.5R_0 < r < 1.5R_0$  պայմանին [124]:

Այսպիսով,  $\Phi$  ու որեցեցեցե տնայ ին սպեկտրաչ ափու թյ ան մեթոդով ԴԹ – ի հետ Յբ – ի և Մբ – ի փոխազդեցու թյ ու նների ու սու մնասիրու թյ ու նից կարող ենք ասել, որ ԴԹ – ով Մբ – ի և Յբ – ի  $\Phi$  ու որեցեցեցիայ ի մարումը տեղի է ունենում ստատիկ մեխանիզմով, որը բերում է միջին կայ ու նու թյ ու ն ու եցող ԴԹ – Մբ և ԴԹ – Յբ կոմպլ էքսների առաջացմանը որոնք կայ ու նանում են ի հաշիվ ջրածնական կապերի և վան դեր վալսյան փոխազդեցու թյ ու նների: Այդ կոմպլ էքսների առաջացումը ինքնաբերաբար ընթացող պրոցես է: Աղ. 14 – ու մ ներկայացված է Յբ – ԴԹ և Մբ – ԴԹ փոխազդեցու թյ ու նների կապման  $\Phi$  ի գիկաբի միական և թերմոդինամիկական բնութագրերի համեմատու թյ ու նը:

Աղյ ու սակ

14

Յբ – ԴԹ և Մբ – ԴԹ փոխազդեցու թյ ու նների համար կապման  $\Phi$  ի գիկաբի միական և թերմոդինամիկական բնութագրերի համեմատու թյ ու նը:

Յամակարգ	Յբ – ԴԹ			Մբ – ԴԹ	
	25	30	36.6	25	35
$T, ^\circ\text{C}$	25	30	36.6	25	35
$K_{SV}, 10^5 \text{լ}^{-1} \cdot \text{մոլ}^{-1}$	2.34	2.28	1.70	2.59	2.44
$K_q, 10^{13}$	2.34	2.28	1.70	2.59	2.44

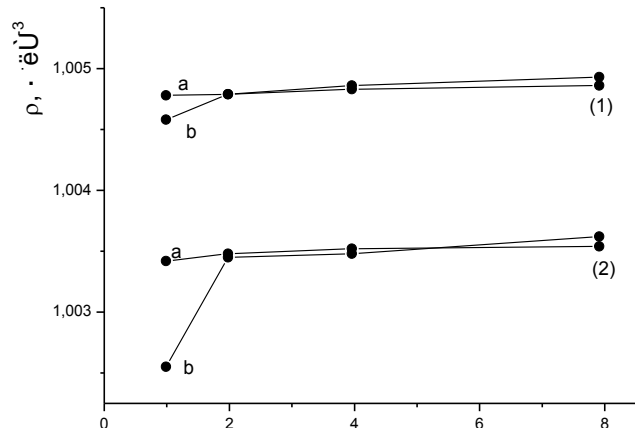


$L \cdot \text{մոլ}^{-1} \cdot \text{վ}^{-1}$					
$K_b, L \cdot \text{մոլ}^{-1}$	$4.57 \cdot 10^6$	$1.76 \cdot 10^6$	$2.1 \cdot 10^5$	$8.31 \cdot 10^5$	$5.88 \cdot 10^5$
n	1.29	1.20	1.03	1.08	1.05
$\Delta G, \text{կՋ} \cdot \text{մոլ}^{-1}$	-38.66	-36.00	-32.48	-33.78	-33.47
$\Delta H, \text{կՋ} \cdot \text{մոլ}^{-1}$	-197.33			-51.98	
$\Delta S, \text{Ջ} \cdot \text{մոլ}^{-1} \cdot \text{Կ}^{-1}$	-532.20			-61.03	

Աղ. 14 – ու մ ներկայացված տվյալներից երևում է, որ ԴԹ – Յբ կապման համար  $K_b$  – ,  $\Delta G$ ,  $\Delta S$  և  $\Delta H$  ֆիզիկաքիմիական բնութագրերը ունեն ավելի մեծ թվային արժեքներ, քան ԴԹ – Սբ փոխազդեցությունների համար: Սա բացատրվում է Յբ – ի և Սբ – ի չափսերի տարբերությամբ, այսինքն այս պարագայում որքան մեծ է սպիտակուցի մոլեկուլը, այնքան առաջացող կոմպլեքսը ավելի կայուն է:

### 3.1.5 Յբ – ի ծավալային հատկությունների ուսումնասիրությունը

Ինչպես արդեն նշվել էր, ԴԹ – ով Յբ – ի ֆլուորեսցենցիայի մարումը ուսումնասիրելիս Յբ – ի լուծույթը ենթարկվել էր տարանջատման ցածրամոլեկուլային միացություններից, որը կարող է ազդել սպիտակուցի ծավալային հատկությունների վրա: Ծավալային հատկությունների փոփոխությունները կարող են պայմանավորված լինել Յբ – ի մոլեկուլում տարանջատման հետևանքով դիտվող որոշ խմբերի տարածական դասավորվածության փոփոխությամբ, որը կարող է հանգեցնել Յբ – ի ռեակցիոնունակության փոփոխությանը: Այս պարագայում անհրաժեշտություն առաջացավ ուսումնասիրել Յբ – ի ծավալային հատկությունները: Սպիտակուցի ծավալային հատկությունները բնութագրող պարամետրերից են թվացյալ պարցիալ սպեցիֆիկ ծավալի ( $\phi$ ) և պարցիալ սպեցիֆիկ ծավալը ( $\phi^V$ ), որոնք կարելի է որոշել օգտագործելով խտաչափության մեթոդը: Յբ – ի լուծույթների  $\rho$  – ի արժեքների կախվածությունը կոնցենտրացիայից 309.75 և 313.154 ջերմաստիճաններում տրված է նկ. 36-ում:



Նկ. 36 ρ – ի կախվածությունը Յբ [Յբ], 10<sup>-6</sup> մոլլ<sup>-1</sup> րացիայից:  
 [Յբ] - 0.989·10<sup>-6</sup> – 7.912·10<sup>-6</sup> մոլլ<sup>-1</sup>, T = 36.6, 40 °C:

Յիմնվելով ρ – ի արժեքների վրա և օգտագործելով (22) հավասարումը, որոշել ենք Յբ – ի ϕ-ի արժեքները (տես աղ. 15)

$$\phi = \frac{1}{\rho_0} \left( 1 - \frac{\rho - \rho_0}{c} \right) \quad (22),$$

որտեղ ϕ-ն՝ Յբ-ի թվացյալ պարցիալ սպեցիֆիկ ծավալն է (սմ<sup>3</sup>գ<sup>-1</sup>), ρ<sub>0</sub>-ն և ρ-ն՝ լուծիչի և լուծույթի խտություններն են համապատասխանաբար (գ·սմ<sup>-3</sup>), c – ն՝ Յբ - ի կոնցենտրացիան է (գ·մլ<sup>-1</sup>): Խմբային տարրանջատված և չտարրանջատված Յբ-ի թվացյալ պարցիալ սպեցիֆիկ ծավալների արժեքները բերված են աղ. 15-ում:

Աղյուսակ

15

Խմբային տարրանջատված և չտարրանջատված Յբ-ի ϕ-ի արժեքները  
 36.6 և 40 °C:

ϕ, սմ <sup>3</sup> գ <sup>-1</sup>				
T, °C	36.6	40	36.6	40
[Յբ], 10 <sup>-6</sup> մոլլ <sup>-1</sup>	Տարրանջատված Յբ		Չտարրանջատված Յբ	
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. 15 – ում  $40^{\circ}\text{C}$  – ում  $\phi$ -ի արժեքների փոփոխությունները կախված Յբ – ի կոնցենտրացիայից անկանոն են, որը կարելի է բացատրել Յբ – ի մոլեկուլում ջերմաստիճանի ազդեցությամբ ի հայտ եկող կառուցվածքային փոփոխություններով: Էքստրապոլելով  $\phi$ - ի արժեքը մինչև սպիտակուցի գրոյական կոնցենտրացիա,  $36.6^{\circ}\text{C}$  – ում որոշել ենք Յբ – ի 2 ձևերի համար  $\phi$ -ի արժեքները, որոնք կազմել են համապատասխանաբար  $0.811\text{ սմ}^3\cdot\text{գ}^{-1}$  տարրանջատված Յբ-ի և  $0.609\text{ սմ}^3\cdot\text{գ}^{-1}$  չտարրանջատված Յբ – ի համար: Հիմնվելով  $\phi$ -ի արժեքների վրա, կարող ենք ասել, որ տարրանջատված Յբ-ը ունի ավելի տարածական բացված կառուցվածք, քան չտարրանջատված Յբ – ը [125]:

Տարրանջատված և չտարրանջատված Յբ – ի ծավալային հատկությունների տարբերությունը ազդում է նաև Յբ-ի ռեակցիոն ակտիվության վրա: Ինչպես արդեն նշվել է,  $\Gamma\theta$  – ի հետ տարրանջատված Յբ – ի կապումը տեղի է ունենում ստատիկ մեխանիզմով, իսկ առաջացող կոմպլեքսը ջերմաստիճանի բարձրացման հետ կորցնում է իր կայունությունը [123]: Ուսումնասիրել ենք նաև չտարրանջատված Յբ – ի կապումը  $\Gamma\theta$  – ի հետ  $\Phi$  նոորեսցենտային սպեկտրաչափական մեթոդով: Այս դեպքում  $\Gamma\theta$  – ով Յբ – ի  $\Phi$  նոորեսցենցիայի մարումը ընթանում է դինամիկ մեխանիզմով, ջերմաստիճանի բարձրացման հետ կոմպլեքսի կայունությունը մեծանում է, իսկ առաջացող կոմպլեքսը կայունանում է ի հաշիվ հիդրոֆոբ փոխազդեցությունների (տես աղ. 16 և 17) [126]:

Աղյուսակ

16

Յբ (չտարրանջատված) –  $\Gamma\theta$  փոխազդեցությունների համար ծտեռնի –  $\Phi$  նմերի և  $\Phi$  նոորեսցենցիայի մարման արագության հաստատունների արժեքները  $25; 30$  և  $35^{\circ}\text{C}$  ջերմաստիճաններում:

T, $^{\circ}\text{C}$	$K_{sv}, 10^5 \text{ Լ} \cdot \text{մոլ}^{-1}$	$k_q, 10^{13} \text{ Լ} \cdot \text{մոլ}^{-1} \cdot \text{վ}^{-1}$
25	1.906	1.906
30	2.015	2.015

35	2.414	2.414
----	-------	-------

Աղյուսակ

17

Չտարրանջատված Յբ - ԴԹ կապման ֆիզիկաքիմիական և թերմոդինամիկական բնութագրերի արժեքները տարբեր ջերմաստիճաններում:

T, °C	$K_b, 10^4 \text{ Լ} \cdot \text{մոլ}^{-1}$	$\Delta H, \text{ կՋ} \cdot \text{մոլ}^{-1}$	$\Delta S, \text{ Ջ} \cdot \text{մոլ}^{-1} \cdot \text{Կ}^{-1}$	$\Delta G, \text{ կՋ} \cdot \text{մոլ}^{-1}$	n, Յիլի գործ.
25	1.62	121.81 (±13.321)	489.528 (±46.01)	-24.144	1.32
30	6.02			-26.592	1.21
35	9.27			-29.529	1.22

Այսպիսով, Յբ-ի ռեակցիոնունակությունը կախված է, սպիտակուցի մակերևույթին տեղակայված խմբերի տարածական դասավորվածությունից: (տարանջատվածությունից):

**3.2 ԴԹ- Ի ԿԱՊՄԱՆ ԱՉԴԵՑՈՒ ԹՅՈՒՆԸ ՅԲ - Ի ԿԱՅՈՒՆՈՒ ԹՅԱՆ ՎՐԱ**

Լիզանդի կապումը սպիտակուցին կարող է հանգեցնել ինչպես սպիտակուցի կայունության մեծացման, այնպես էլ՝ փոքրացման: Մեր կողմից ուսումնասիրվել է Յբ- ի ջերմային բնափոխումը ԴԹ-ի ներկայությամբ: Այս ուսումնասիրությունները իրականացրել ենք էլեկտրոնային կլանման, ֆլուորեսցենտային առաքման և շրջանային դիֆրոիզմի սպեկրաչափական մեթոդների օգնությամբ [93-95]: Նախ և առաջ ուսումնասիրել ենք Յբ-ի ջերմային կայունությունը,

օգտագործելով  $\Phi$  և ու որ ե ս ց Ե ն տ ա յ ի ն Ե ո չ ա ի գ ր գ ռ մ ա ն / առ ա ք մ ա ն մ ա տր ի ց ի (3D ս ա Բ Կ տր ն Ե ր) մ Ե թ ո ղ ր : Չ ա փ ու մ ն Ե ր ը ի ր ա կ ա ն ա ց վ Ե Լ Ե ն 30 – 70°C ջ Ե ր մ ա ս տ ի ճ ա ն ա յ ի ն տ ի ր ու Լ յ թ ու մ , Ե ր Բ Յ Բ -ի կ ո ն ց Ե ն տր ա ց ի ա ն կ ա զ մ Ե Լ Ե 3.956·10<sup>-6</sup> մ ու Լ Լ <sup>-1</sup> : Չ ա փ ու մ ն Ե ր ը ի ր ա կ ա ն ա ց վ Ե Լ Ե ն հ Ե տ ն յ ա Լ ա յ ա մ ա ն ն Ե ր ու մ ՝  $\lambda_{գր.} = 200$  ն մ ,  $\lambda_{առ.} = 200 – 400$  ն մ , գ ր գ ռ մ ա ն ա Լ ի ք ի փ ո փ ո Խ մ ա ն ք ա յ Լ ը կ ա զ մ Ե Լ Ե 10 ն մ , ս կ ա ն ն Ե ր ի թ ի վ ը Ե ղ Ե Լ Ե 26, ի ս կ գ ր գ ռ մ ա ն և առ ա ք մ ա ն ճ Ե ղ ք Ե ր ի Լ ա յ ն ու թ յ ու Լ ն ը 10 ն մ : Ջ Ե ր մ ա ս տ ի ճ ա ն ի Բ ա ր ձ ր ա ց մ ա ն ա ր ա գ ու թ յ ու Լ ն ը կ ա զ մ Ե Լ Ե 1°C/ր ո ա Բ Ե : Ն կ . 37 – ու մ Բ Ե ր վ ա ծ Ե ն Յ Բ -ի  $\Phi$  և ու որ ե ս ց Ե ն տ ա յ ի ն 3D ս ա Բ Կ տր ն Ե ր ի ա ր ո յ Ե կ ց ի ա ն Ե ր ը 30, 50 և 66°C ջ Ե ր մ ա ս տ ի ճ ա ն ն Ե ր ու մ :

(ա)

(բ)

(գ)

Ն կ . 37 Յ Բ -ի  $\Phi$  և ու որ ե ս ց Ե ն տ ա յ ի ն 3D ս ա Բ Կ տր ն Ե ր ի ա ր ո յ Ե կ ց ի ա ն Ե ր ը :

ա - 30; Բ – 50; գ - 66°C ջ Ե ր մ ա ս տ ի ճ ա ն ն Ե ր ու մ , [Յ Բ] - 3.956·10<sup>-6</sup> մ ու Լ Լ <sup>-1</sup> :

Ս ա փ տ ա կ ու ց ն Ե ր ի 3D ս ա Բ Կ տր ն Ե ր ը հ ի մ ն ա կ ա ն ու մ Բ ն ու թ ա գ ր վ ու մ Ե ն 2 ա ի կ ո վ , ո ր ո ն ց ի ց մ Ե կ ը հ ա մ ա պ ա տ ա խ ա ն ու մ Ե ս ա փ տ ա կ ու ց ի մ ու Ե կ ու Լ ու մ առ կ ա Trp, Tyr և Phe – ա յ ի ն մ ն ա ց ո ր ղ ն Ե ր ի ն , ի ս կ մ յ ու Լ ս ը ՝ ա ր Լ ի ա Բ Ե ա տ ի դ ա յ ի ն շ ղ թ ա ն Ե ր ի ն : Յ Բ -ի 3D  $\Phi$  և ու որ ե ս ց Ե ն տ ա յ ի ն ս ա Բ Կ տր ն Ե ր ը և ս Բ ն ու թ ա գ ր վ ու մ Ե ն 2 ա ի կ ո վ , ո ր ո ն ց ի ց առ ա ջ ի ն ը (Պ ի կ 1) ՝  $\lambda_{գր.}/\lambda_{առ.} = 230/335$  ն մ հ ա մ ա պ ա տ ա խ ա ն ու մ Ե Յ Բ -ի ա ր Լ ի ա Բ Ե ա տ ի դ ա յ ի ն շ ղ թ ա ն Ե ր ի  $\Phi$  և ու որ ե ս ց Ե ն տ ա յ ի ն Բ ն ու թ ա գ ր Ե ր ի ն և Ե ր կ ր ո ղ ը (Պ ի կ 2) ՝  $\lambda_{գր.}/\lambda_{առ.} = 280/339$  ն մ ՝ Trp, Phe և Tyr – ա յ ի ն ա մ ի ն ո թ թ վ ա յ ի ն մ ն ա ց ո ր ղ ն Ե ր ի ն (տ Ե ս ա ղ . 18) :

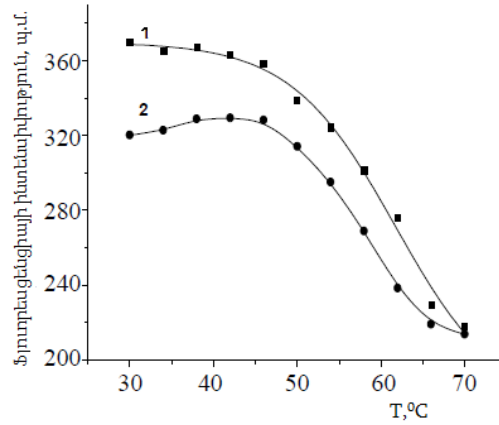
Ա ղ յ ու Լ ս ա կ

18

Յբ -ի ջերմային բնափոխման \$L\$ ու որոշեցնտային 3D սպեկտրների բնութագրերը:

T, °C	Պիկ 1			Պիկ 2		
	$\lambda_{գր.}/\lambda_{առ.},$ նմ	$\Delta\lambda,$ նմ	Ինտենսիվ., պ.մ.	$\lambda_{գր.}/\lambda_{առ.},$ նմ	$\Delta\lambda,$ նմ	Ինտենսիվ., պ.մ.
30	230/333	103	369.64	280/333	53	320.1
34	230/332	102	364.9	280/335	55	322.65
38	230/332	102	367.16	280/336	56	328.75
42	230/334	104	336.82	280/336	56	329.31
46	230/334	104	358.11	280/337	57	328.08
50	230/335	105	338.78	280/339	59	314.01
54	230/335	105	324.16	280/339	59	295.00
58	230/335	105	301.2	280/339	59	268.77
62	230/335	105	276.16	280/339	59	238.35
66	230/335	105	235.61	280/339	59	219.03
70	230/335	105	245.04	280/339	59	213.63

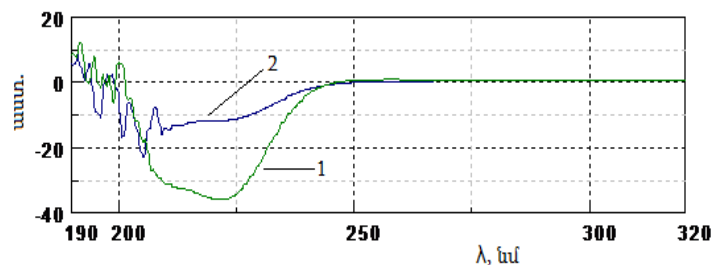
Ինչպես երևում է աղ. 18 – ում ներկայացված տվյալներից, ջերմաստիճանի բարձրացման հետ դիտվում է այս 2 պիկերի ինտենսիվությունների արժեքների նվազում, ինչպես նաև Պիկ 2-ի համար դիտվում է տեղաշարժ դեպի երկար ալիքային մարզ 6 նմ-ի չափով: Յիմնվելով \$L\$ ու որոշեցնտային 3D սպեկտրներից Պիկ 1 և Պիկ 2-ի համար ստացված տվյալների վրա, կառուցել ենք Յբ-ի ջերմային բնափոխման \$L\$ ու որոշեցնտային պրոֆիլները, որոնք ներկայացված են նկ. 38 - ում:



Նկ. 38 Յբ – ի բնափոխման  $\Phi_L$  ու որոշեցնտայ ին պրոֆիլները,  $[R_p] - 3.956 \cdot 10^{-6} \text{ մոլ } \text{լ}^{-1}$ ; 1 -  $\lambda_{q.p.}/\lambda_{u.m.} = 230/335 \text{ նմ}$ ; 2 -  $\lambda_{q.p.}/\lambda_{u.m.} = 280/338 \text{ նմ}$ :

Բերված կորերից (1) –ը համապատասխանում է Պիկ 1-ի ինտենսիվությունների արժեքներին, իսկ (2) կորը՝ Պիկ 2-ի ինտենսիվությունների արժեքներին: Ստացված տվյալների վերլուծությունից կարող ենք ասել, որ ջերմաստիճանի բարձրացումը ավելի մեծ չափով ազդում է Յբ - ի արոմատիկ մնացորդներ պարունակող առանձին հատվածների կառուցվածքի, քան պոլիպետիդային շղթաների իրար նկատմամբ ունեցած դասավորվածության վրա [127]:

Յբ – ի ջերմային կայունությունն ուսումնասիրել ենք նաև ՇԴ սպեկտրաչափության մեթոդով: Չափումները կատարվել են 36.6 – 64.0°C ջերմաստիճանային տիրույթում, սպեկտրները գրանցվել են 190 – 320 նմ ալիքի երկարությունների միջակայքում: Մաքուր Յբ – ի ՇԴ սպեկտրը ներկայացված է նկ. 39 – ում :



Նկ. 39 Յբ – ի ՇԴ սպեկտրը:  $[R_p] - 3.956 \cdot 10^{-6} \text{ մոլ } \text{լ}^{-1}$ ;  $t = 1 - 36,6^\circ\text{C}$ ; 2 –  $64^\circ\text{C}$ :

Յբ-ի ՇԴ սպեկտրը բնութագրվում է կլանումով 200-230 նմ մարզում, որը տեղեկություն է տալիս սպիտակուցի երկրորդային կառուցվածքի վերաբերյալ: Մասնավորապես,  $\alpha$  – պարունակող պարունակությունը երևում է 230 նմ ալիքի երկարության տակ,

իսկ  $\beta$  – շերտերի պարունակությունը պայմանավորված է 216 – 218 նմ ալիքի երկարության տակ ի հայտ եկող ձախակողմյան բևեռացված լույսի կլանմամբ [97]: Ինչպես տեսնում ենք բերված նկարից, ջերմաստիճանի բարձրացումը բերում է Յբ –ի ճԴ սպեկտրում փոփոխության, որը ցույց է տալիս, որ Յբ-ի մոլեկուլում տեղի է ունենում երկրորդային կառուցվածքի քանդում և  $\alpha$  – պարունյրները պահպանվում են 32% -ով:

Մաքուր Յբ – ի ջերմային կայունությունը ուսումնասիրելուց հետո, ուսումնասիրել ենք Յբ – ԴԹ կոմպլեքսների ջերմային կայունությունը էլեկտրոնային կլանման սպեկտրաչափության մեթոդով 36.6 – 66°C ջերմաստիճանային տիրույթում: Յետևել ենք օպտիկական խտության արժեքների փոփոխությունների  $\lambda = 280$  նմ ալիքի երկարության տակ, որը համապատասխանում է Յբ – ի մոլեկուլում գտնվող Trp, Tyr և Phe ամինոթթվական մնացորդների կլանմանը և  $\lambda = 405$  նմ, որն համապատասխանում է հեմ խմբի կլանմանը (տես նկ. 27): Ջերմաստիճանի բարձրացման արագությունը եղել է 1°C/րոպե: Յբ – ի կոնցենտրացիան կազմել է  $3.956 \cdot 10^{-6}$  մոլ լ<sup>-1</sup>, իսկ ԴԹ-ի կոնցենտրացիան փոփոխվել է  $4.088 \cdot 10^{-6}$  մոլ լ<sup>-1</sup> -  $8.17 \cdot 10^{-6}$  մոլ լ<sup>-1</sup>: Յբ – ԴԹ կոմպլեքսների ջերմային կայունությունը ուսումնասիրելիս սպասել ենք, որ ԴԹ – ի ավելացումից հետո համակարգում հաստատվի հավասարակշռական վիճակ (տես աղ. 19):

Աղյուսակ 19

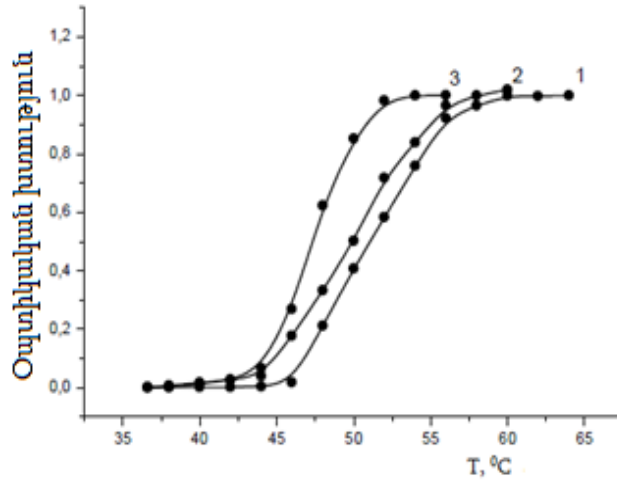
Յբ –ԴԹ համակարգի էլեկտրոնային կլանման արժեքները: T-36.6°C

[Յբ] -  $3.956 \cdot 10^{-6}$  մոլ լ<sup>-1</sup>:

t, րոպե	[ԴԹ], $4.08 \cdot 10^{-6}$ մոլ լ <sup>-1</sup>		[ԴԹ], $8.17 \cdot 10^{-6}$ մոլ լ <sup>-1</sup>	
	A <sub>280</sub>	A <sub>405</sub>	A <sub>280</sub>	A <sub>405</sub>
0	0.4930	1.6448	0.4984	1.7257
2	0.7418	1.7335	1.3218	1.7218
4	0.7444	1.7693	1.3310	1.7287
16	0.7464	1.6498	1.3265	1.6307



Ինչպես տեսնում ենք աղ. 19 - ում բերված տվյալներից, ԴԹ – Յբ համակարգում հավասարակշռությունը հաստատվում է բավականին արագ (~15 րոպե): Այնուհետև, ուսումնասիրել ենք Յբ – ԴԹ կոմպլեքսների կայունությունը 36.6 – 66°C տիրույթում: Բնափոխման ՌԻՄ կորերը ներկայացված են նկ. 40 – ում:



Նկ. 40 Յբ – ի և Յբ – ԴԹ կոմպլեքսների բնափոխման ՌԻՄ կորերը:

$$[\text{Յբ}] - 3.956 \cdot 10^{-6} \text{ մոլ } \text{լ}^{-1},$$

$$[\text{ԴԹ}] - 1 - 0; 2 - 4.088 \cdot 10^{-6}; 3 - 8.17 \cdot 10^{-6} \text{ մոլ } \text{լ}^{-1}:$$

Ինչպես տեսնում ենք նկ. 40 - ից, Յբ-ի և ԴԹ-ի հետ կամպլեքսացրյացված սպիտակուցների բնափոխման կորերը ԴԹ-ի կոնցենտրացիայի մեծացման հետ տեղաշարժվում են դեպի ցածր ջերմաստիճանային տիրույթի համեմատ մաքուր Յբ-ի: ՌԻՄ բնափոխման կորերը բնութագրվում են սիգմոիդալ տեսքով, որը ցույց է տալիս, որ 40-ից բարձր ջերմաստիճանում տեղի է ունենում կապերի կոոպերատիվ քանդում: Որոշել ենք մաքուր Յբ – ի և Յբ – ԴԹ կոմպլեքսների բնափոխման ջերմաստիճանները  $T_{բս}$ . ըստ սիգմոիդալ թռիչքի միջնակետի, որոնք ներկայացված են աղ. 20 - ում:

Աղյուսակ

20

Յբ-ի և Յբ-ԴԹ կոմպլեքսների բնափոխման ջերմաստիճանները:

Յամակարգ	ԴԹ, $10^{-6} \text{ մոլ } \text{լ}^{-1}$	$T_{բս}, ^\circ\text{C}$
Յբ	0	51.10

ՅԲ-ԴԹ	4.08	50.02
ՅԲ-ԴԹ	8.17	47.40

Այս սպիտակ, օգտագործելով \$Լ ու որոշեցնելու համար սպեկտրաչափական 3D սպեկտրների, էլեկտրոնային կլանման և ՇԴ սպեկտրաչափական մեթոդները, ուսումնասիրեցինք մաքուր ՅԲ – ի և ԴԹ – ՅԲ կոմպլեքսների ջերմային կայունությունը: Մասնավորապես, \$Լ ու որոշեցնելու համար սպեկտրաչափական 3D սպեկտրների վերլուծությունից հանգեցինք այն եզրակացության, որ ջերմաստիճանի բարձրացումը ավելի արտահայտված կառուցվածքային փոփոխությունների պատճառ է դառնում ՅԲ- ի առանձին արոմատիկ մնացորդներ պարունակվող հատվածներում, քան պոլիպեպտիդային շղթաներում: Այս երևույթը դիտվեց նաև մաքուր ՅԲ – ի բնափոխումը ՇԴ սպեկտրաչափական մեթոդով ուսումնասիրելիս, երբ տեսանք, որ ՅԲ – ի ջերմային բնափոխումը ուղեկցվում է  $\alpha$ -պարունյրների քանդամմբ: ՅԲ – ԴԹ կոմպլեքսների ուսումնասիրման ժամանակ մենք տեսանք, որ ԴԹ – ի կոնցենտրացիայի մեծացումը բերում է կոմպլեքսի ջերմային կայունության նվազմանը:

### 3.3 ԱՄՓՈՓՈՒՄ

Այս աշխատանքը վերաբերում է ներկայումս կենսաբժշկության ոլորտում հետաքրքրություն ներկայացնող խնդիրներից մեկի՝ մասնավորապես, տրանսպորտային սպիտակուցների (ՅԲ և ՄԲ) միաժամանակյա մի քանի լիգանդների հետ փոխազդեցությունների, սպիտակուցների կառուցվածքային փոփոխությունների և առաջացած կոմպլեքսների ջերմային կայունության ուսումնասիրությունը: Որպես լիգանդ օգտագործվել են բժշկության, ինչպես նաև թեթև արդյունաբերության տարբեր բնագավառներում՝ սննդի, խմիչքների և ըմպելիքների (կոնյակ, գինի, գարեջուր, հյութեր), կաշվի և մորթու արտադրության մեջ օգտագործվող բնական ծագում ունեցող տանիներ (ԳԹ և ԴԹ):

Աշխատանքի նպատակն է պարզել հեմոգլոբինի և միոգլոբինի հետ գալաթիլի ու դաբալաթիլի փոխազդեցությունների ֆիզիկաքիմիական առանձնահատկությունները, որոնք

հնարավորությունն կտան գնահատել ԴԹ - ի և ԳԹ – ի կապման ազդեցությունը այդ սպիտակուցների հիմնական ֆունկցիայի և կայունությունը վրա:

Այս փոխազդեցությունների ուսումնասիրությունների համար օգտագործվել են խտաչ ափուլային, էլեկտրոնային կլանման, ֆլուորեսցենտային առաքման և շրջանային դիֆրոիզմի սպեկտրաչափության եղանակները, ինչպես նաև իրականացվել են տեսական քվանտաֆիզիկական հաշվարկներ:

Պարզվել ԳԹ-ի ջրային լուծույթների կառուցվածքային առանձնահատկությունները: Ցույց է տրվել լուծույթում առկա առավել կայուն ասոցիատների կառուցվածքները և հաշվարկվել են դրանց երկրաչափական բնութագրերը:

Որոշվել են ԳԹ-ի և ԴԹ-ի հետ Մբ-ի և Յբ-ի կապման ֆիզիկաքիմիական և թերմոդինամիկական բնութագրերը: Պարզվել է Յբ – ԴԹ, Մբ - ԴԹ կոմպլեքսների առաջացման մեխանիզմը ըստ ֆլուորեսցենտային ուսումնասիրությունների, իսկ ԳԹ-Մբ և ԳԹ-Յբ փոխազդեցությունների ուսումնասիրությունը իրականացվել է էլեկտրոնային կլանման սպեկտրաչափության օգնությամբ: Ցույց է տրվել, որ պոլիֆենոլների կապումը սպիտակուցների հետ ազդում է սպիտակուցի ընդհանուր կառուցվածքի վրա, իսկ հեմ խմբի կառուցվածքը էական փոփոխություն չի կրում:

Ուսումնասիրվել է նաև Յբ-ի և Յբ-ի ԴԹ-ի հետ առաջացրած կոմպլեքսների ջերմային կայունությունը 30 – 70°C ջերմաստիճանային տիրույթում: Պարզվել է, որ մաքուր Յբ-ի կայունությունը ավելի մեծ է համեմատած Յբ – ԴԹ կոմպլեքսների ջերմային կայունության հետ: Հաստատվել է, որ ջերմաստիճանի բարձրացումից Յբ - ի արոմատիկ մնացորդներ պարունակող առանձին հատվածների կառուցվածքը ավելի խորը փոփոխություններ է կրում, քան պոլիպեպտիդային շղթաների իրար նկատմամբ ունեցած դասավորվածությունը:

## **ԱՇԽԱՏԱՆՔԻ ՀԻՄՆԱԿԱՆ ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐ ԵՎ ԵԶՐԱՅԱՆԳՈՒՄՆԵՐ**

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 – Յբ և ԴԹ – Մբ, ԴԹ – Յբ փոխազդեցությունների արդյունքում առաջանում են կոմպլեքսներ, որոնք կայունանում են ջրածնական կապերով և վանդեր վալսյան փոխազդեցություններով: Ջերմաստիճանի բարձրացման հետ առաջացած կոմպլեքսների կայունությունը փոքրանում է: ԴԹ – ի և ԳԹ-ի կապումը սպիտակուլցների հետ կրում է ոչ կոոպերատիվ բնույթ:

3. Պարզված է Յբ – ԴԹ, Մբ – ԴԹ կոմպլեքսների առաջացման մեխանիզմը (սպիտակուլցի  $\Phi$  լուորեսցենցիայի մարումը, բիմոլեկուլային բախման հաստատունը՝  $k_q$ ), և այդ կոմպլեքսների կառուցվածքային բնութագրերը (ռեզոնանսային էներգիայի անցման արդյունավետությունը՝  $E$ , Ֆյոստերյան հեռավորությունը՝  $R_0$ , սպիտակուլցի լիգանդի հեռավորությունը՝  $r$ ):

4. ԴԹ – ի և ԳԹ-ի կապումը Մբ-ի և Յբ-ի հետ հանգեցնում է սպիտակուլցի տարբեր հատվածներում կառուցվածքային փոփոխությունների, սակայն ոչ սպիտակուլցային մասի՝ հեմ խմբի, կառուցվածքի հետեական փոփոխություններ տեղի չեն ունենում:

5. Յբ – ԴԹ կոմպլեքսների ջերմային կայունությունը ավելի փոքր է, քան մաքուր Յբ – ը: Ջերմաստիճանի բարձրացումը ավելի մեծ չափով ազդում է Յբ – ի արոմատիկ մնացորդներ պարունակող

առանձին հատվածների կառուցվածքի, քան արլիպեպտիդային  
շղթաների իրար նկատմամբ ունեցած դասավորվածություն վրա:

## ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Williamson M., How Proteins Work, 1<sup>st</sup> ed., US: Garland Science, 2011, New York, 464p.
2. Kessel A. and Ben-Tal N., Introduction to Proteins: Structure, Function, and Motion, Chapman & Hall/CRC Mathematical and Computational Biology, 2010, London, New York, CRC Press, 654 p.
3. Sipe J. D., Benson M. D., Buxbaum J. N., Ikeda Sh., Merlini G., Saravia M. J. M. and Westermark P., Nomenclature 2014: Amyloid Fibril Proteins and Clinical Classification of the Amyloidosis, J. Prot. Fold. Dis, 2014, N21, v.4, p. 221 – 224.
4. Dill K. A., Theory for the Folding and Stability of Globular Proteins, Biochemistry, 1984, v. 24, p. 1501 – 1509.
5. Kull F. J. and Endow Sh. A., A New Structural State of Myosin, Tr. Biochem. Sci., 2004, N3, v. 29, p. 103 – 106.
6. Peters T. J., All about Albumin Biochemistry, Genetic and Medical Applications. San Diego. CA: Academic Press, 1996, 432 p.
7. Postnikova G.B. and Shekhovtsova E.A., Myoglobin and Mitochondria: How Does the “Oxygen Store” Work?, J. Phys. Chem. Biophys., 2013, v. 3, p. 126 – 133.
8. Hoffmann F. G., Opazo J. C and Storza J. F., Gene Cooption and Convergent Evolution of OxygenTransport Hemoglobins in Jawed and JawlessVertebrates, PNAS, 2010, N32, v. 107, p. 14274 – 14279.
9. Burmester T., Molecular Evolution of the Arthropod Hemocyanin Superfamily, Mol. Biol. Evol., 2001, N2, v.18, p. 184 – 195.
10. Ghosh S., Chakrabarty S., Bhowmik D., Kumar G. S. and Chattopadhyay N., Stepwise Unfolding of Bovine and Human Serum Albumin by an Anionic Surfactant: An Investigation Using the Proton Transfer Probe Norharmine, J. Phys. Chem. B, 2015, N6, v. 119, p. 2090–2102.
11. Dash R. K. and Bassingthwaighe J., Simultaneous Blood–Tissue Exchange of Oxygen, Carbon Dioxide, Bicarbonate, and Hydrogen Ion, An. Biomed. Eng., 2006, v. 34, p. 1129-1148.
12. Thews G., Blood Gas Transport and Acid – Base Balance, Hum. Phys., 1989, p. 578 – 597.

13. Atamna H., Killilea D. W., Killilea A. N. and Ames B. N., Heme Deficiency May Be a Factor in the Mitochondrial and Neuronal Decay of Aging, *PNAS*, 2002, N22, v. 99, p. 14807 – 14812.
14. Nakashima H., Hasegawa J. – Y. and Nakatsuji H., On the Reversible O<sub>2</sub> Binding of the Fe – Porphyrin Complex, *J. Comput. Chem.*, 2006, v. 27, p. 426 – 433.
15. Ruiz-Larrea M. B., A Simple Question to Think about When Considering the Hemoglobin Function, *Biochem. Mol. Bio. Ed.*, 2002, N4, v. 30, p. 235 – 238.
16. Marks J., Molecular Micro- and Macroevolution in the Primate Alpha-Globin Gene Family, *Amer. J. Hum. Biol.*, 2005, v. 1, p. 555 – 566.
17. Nagai M., Nagatomo Sh., Nagai Y., Ohkubo K., Imai K. and Kitagawa T., Near-UV Circular Dichroism and UV Resonance Raman Spectra of Individual Tryptophan Residues in Human Hemoglobin and Their Changes upon the Quaternary Structure Transition, *Biochem.*, 2012, N51, v. 30, p. 5932–5941.
18. Gupta C. P., Role of Iron (Fe) in Body, *J. App. Chem.*, 2014, v. 7, p. 38 – 46.
19. Conley k. E., Ordway G. A. and RichardsonR. S., Deciphering the Mysteries of Myoglobin in Striated Muscle, *A. Physiol. Scand.*, 2000, v. 168, p. 623 – 634.
20. Takeda K., Wada A., Yamamoto K., Hachiya K, and Batra P. P., Secondary Structure Change of Myoglobin Induced by Sodium Dodecyl Sulfate and Its Kinetic Aspects, *J. Coll. Int. Sci.*, 1988, v. 125, p. 307 – 313.
21. Dong M., Wu Zh., Lu M., Wang Zh. and Li Zh., Combining the Physical Adsorption Approach and the Covalent Attachment Method to Prepare a Bifunctional Bioreactor, *Int. J. Mol. Sci.*, 2012, v. 13, p. 11443-11454.
22. Peterson E. S., Leonard E. F., Foulke J. A., Oliff M. C., Salisbury R. D. and Kim D. Y., Folding Myoglobin within a Sol-Gel Glass: Protein Folding Constrained to a Small Volume, *Biophys. J.*, 2008, v. 95, p. 322–332.
23. Tofani L., Feis A., Snoke R. E., Berti D., Baglioni P. and Smulevich G., Spectroscopic and Interfacial Properties of Myoglobin/Surfactant Complexes, *Bioph. J.*, 2004, v. 87, p. 1186–1195.
24. Zhou J. H., Wu X. H., Yang C., Gu X. T., Zhou L., Song K. X., Feng Y. Y. and Shen J., Spectroscopic Studies on the Interaction of Hypocrellin A with Myoglobin, *Spectroscopy*, 2007, v. 21, p. 235–243.
25. GalinatoM. G. I., Fogle III R. S. and GalanJ. F., Binding Interaction of Hypocrellin B to Myoglobin: A Spectroscopic and Computational Study, *Spectrochem. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectr.*, 2013, v. 115, p. 337–344.

26. Chaudhuri S., Chakraborty S. and Sengupta P. K., Probing the Interactions of Hemoglobin with Antioxidant Flavonoids via Fluorescence Spectroscopy and Molecular Modeling Studies, *Bioph. Chem.*, 2011, v. 154, p. 26 – 34.
27. Cheng H., Liu H., Bao W. And Zou G., Studies on the Interaction Between Docetaxel and Human Hemoglobin by Spectroscopic Analysis and Molecular Docking, *J. Photochem. Photobiol B: Biol.*, 2011, v. 105, p. 126 – 132.
28. Minakshi Vishwas Patil M. V. and Kolkar G. B., Binding of Drug Pamabrom to Human Hemoglobin: Structural and Thermodynamic Characterization Studies, *Int. J. Sci. Res.*, 2014, v. 3, p. 3095 – 3109.
29. Yang A. P., Ma M. H., Li X. H. and Xue M .Y., Interaction of Irbesartan with Bovine Hemoglobin Using Spectroscopic Techniques and Molecular Docking, *Spectroscopy Int. J.*, 2012, v. 27, p. 119 – 128.
30. Sengupta B., Chakraborty S., Crawford M., Taylor J. M., Blackmon L. E., Biswas P. K. and Kramer W. H., Characterization of Diadzein–Hemoglobin Binding Using Optical Spectroscopy and Molecular Dynamics Simulations, *Int. J. Biol. Macromol.*, 2012, v. 51, p. 251 – 258.
31. Mandal P. and Ganguly T., Fluorescence Spectroscopic Characterization of the Interaction of Human Adult Hemoglobin and Two Isatins, 1-Methylisatin and 1-Phenylisatin: A Comparative Study, *J. Phys. Chem. B.*, 2009, N.113, v. 45, p. 14904 – 14913.
32. Basu A. and Kumar G. S., Interaction of The Dietary Pigment Curcumin with Hemoglobin: Energetics of The Complexation, *Food Funct.*, 2014, N8, v. 8, p. 1949 - 1955.
33. Lu Zh., Zhang Y., Liu H. C. and Zou G., Transport of a Cancer Chemopreventive Polyphenol, Resveratrol: Interaction with Serum Albumin and Hemoglobin, *J. Fluor.*, 2007, N17, v. 5, p. 580 – 587.
34. Chen T., Zhu S., Shang Y., Ge C. and Jiang G., Binding of Dihydromyricetin to Human Hemoglobin: Fluorescence and Circular Dichroism Studies, *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2012, v. 93, p. 125 – 130.
35. Sil R., Sen S. and Chakraborti A. S., Interaction of Glycyrrhizin with Human Haemoglobin, *Curr. Sci.*, 2015, N3, v. 108, p. 364 – 371.
36. Li A. N., Li Sh., Zhang Y. J., Xu X. R., Chen Y. M. and Li H .B., Resources and Biological Activities of Natural Polyphenols, *Nutrients*, 2014, v. 6, p. 6020-6047.



37. Rizvi S. I. and Pandey K. Bh., Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2009, N5, v. 2, p. 270–278.
38. Pereira D. M., Valentão P., Pereira J. A. and Andrade P. B., Phenolics: From Chemistry to Biology, *Molecules*, 2009, v. 14, p. 2202 – 2211.
39. Dai J. and Mumper R. J., Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties, *Molecules*, 2010, v. 15, p. 7313 – 7352.
40. Rajha H. N., Darra N. E., Hobaika Z., Boussetta N., Vorobiev E., Maroun R. G. and Louka N., Extraction of Total Phenolic Compounds, Flavonoids, Anthocyanins and Tannins from Grape Byproducts by Response Surface Methodology. Influence of Solid-Liquid Ratio, Particle Size, Time, Temperature and Solvent Mixtures on the Optimization Process, *Food Nutr. Sci.*, 2014, v. 5, p. 397-409.
41. Kolečkar V., Kubikova K., Rehakova Z., Kuca K., Jun D., Jahodar L. and Opletal L., Condensed and Hydrolysable Tannins as Antioxidants Influencing the Health, *Mini Rev. Med. Chem.*, 2008, N5, v. 8, p. 436 – 447.
42. Moghadas M., Edalatmanesh M. A. and Robati R., Histopathological Analysis from Gallic Acid Administration on Hippocampal Cell Density, Depression, and Anxiety Related Behaviors in A Trimethyltin Intoxication Model, *Cell J. (Yakhteh)*, 2016, N4, v. 17, p. 659 – 667.
43. O'Donovan L. and Brooker J. D., Effect of Hydrolysable and Condensed Tannins on Growth, Morphology and Metabolism of *Streptococcus Gallolyticus* (*S. Caprinus*) and *Streptococcus Bovis*, *Microbiol.*, 2001, v. 147, p. 1025 – 1033.
44. Pourali A., Afrouziyeh M. and Moghaddaszadeh-ahrabi S., Extraction of Phenolic Compounds and Quantification of the Total Phenol of Grape Pomace, *Eur. J. Experim. Biol.*, 2014, N4, v. 1, p. 174-176.
45. Danihelová M., Viskupičová J. and Šturdíka E., Lipophilization of Flavonoids for Their Food, Therapeutic and Cosmetic Applications, *A. Chim. Slov.*, 2012, N1, v. 5, pp. 59–69.
46. Han R. M, Zhang J. P. and Skibsted L. H., Reaction Dynamics of Flavonoids and Carotenoids as Antioxidants, *Molecules*, 2012, v. 17, p. 2140 – 2160.
47. Agrawal A. D., Reaction Dynamics of Flavonoids and Carotenoids as Antioxidants, *Int. J. Pharm. Sci. Nanotech.*, 2011, v. 4., p. 1394 – 1398.
48. Lazaro – Lopes M., Distribution and Biological Activities of Flavonoid Luteolin, *Mini Reviews Med. Chem.*, 2009, v. 9, p. 31 – 59.

49. Tang H. R., Covington A. D. and Hancock R. A., Structure-Activity Relationships in the Hydrophobic Interactions of Polyphenols with Cellulose and Collagen, *Biopol.*, 2003, N3, v. 70, p. 403-413.
50. Vauzour D., Rodriguez-Mateos A., Corona G., Oruna-Concha M. J. and Spencer J. P. E., Polyphenols and Human Health: Prevention of Disease and Mechanisms of Action, *Nutrients*, 2010, v. 2, p. 1106-1131.
51. Pereira Lima G. P., Vianello F., Renata Corrêa C., Arnoux da Silva Campos R and Galhardo Borguini M., Polyphenols in Fruits and Vegetables and Its Effect on Human Health, *Food Nutr. Sci.*, 2014, v. 5, p. 1065-1082.
52. Gumul D., Korus J., Czechowska K., Bartoń H. and Fołta M., The Impact of Extrusion on The Content of Polyphenols and Antioxidant Activity of Rye Grains (*Secale Cereale L.*), *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2010, N3, v. 9, p. 319-330.
53. Ozdal T., Capanoglu E. and Altay F., A Review on Protein–Phenolic Interactions and Associated Changes, *Food Res. Int.*, 2013, v. 51, p. 954 – 970.
54. Mulaudzi R. B., Ndhlala A. R., Kulkarni M. G. and Van Staden J., *J. Ethnopharmacol.*, 2012, N1, v. 143, p. 185 – 193.
55. Labuckas D. O., Maestri D. M., Perelló M., Martínez M. L. and Lamarque, A. L., Phenolics from walnut (*Juglans regia L.*) kernels: Antioxidant activity and interactions with proteins, *Food Chem.*, 2008, v. 107, p. 607–612.
56. Gaonkar A. G., McPherson A., *Ingredient Interactions: Effects on Food Quality*, Second Edition, 2005, CRC Press, London, 332 p.
57. Richard T., Lefeuvre D., Descendit A., Quideau S. and Monti J. P., Recognition characters in peptide–polyphenol complex formation. *Biochim. Biophys. Acta*, 2006, N6, v. 1760, p. 951–958.
58. Richard T., Vitrac X., Merillon J. M. and Monti J. P., Role of peptide primary sequence in polyphenol–protein recognition: An example with neurotensin. *Biochim. Biophys. Acta*, 2005, v. 1726, p. 238–243.
59. Siebert K. J., Hazes formation in beverages. *LWT — Food Science and Technology*, 2006, v. 39, p. 987–994.
60. Liu Z., Li D. and Niu F., Characterization of Gallic Acid Interaction with Human Serum Albumin by Spectral and Molecular Modeling Methods, *Chem. Res. Chin. Univ.*, 2012, N2, v. 28, p. 287 -290.
61. Volynskaia A. V., Skripkin A. I., Dzhafarov E. S., Rumiantsev Iu. M. and Shishkov A. V., Determination of the Accessible Surface of Lysozyme and Human

Serum Albumin Molecules by the Total Tritium Labeling Method, *Mol. Biol. (Mosk.)*, 1985, N5, v. 19, p. 1294 – 1300.

62. Soares S., Mateus N. and De Freitas V., Interaction of Different Polyphenols with Bovine Serum Albumin (BSA) and Human Salivary  $\alpha$ -Amylase (HSA) by Fluorescence Quenching, *J. Agric. Food Chem.*, 2007, N16, v. 55, p. 6726–6735.

63. Latruffe N., Menzel M., Delmas D., Buchet R. and Lançon A., Compared Binding Properties between Resveratrol and Other Polyphenols to Plasmatic Albumin: Consequences for the Health Protecting Effect of Dietary Plant Microcomponents, *Molecules*, 2014, v. 19, p. 17066 – 17077.

64. Hider R. C., Liu Z. D. and Khodr H. H., Metal Chelation of Polyphenols. *Meth. Enzymol.*, 2001, v. 335, p. 190–203.

65. Loomis L. D. and Raymond K. N., Solution Equilibria of Enterobactin and Metal-Enterobactin Complexes, *Inorg. Chem.*, 1991, v. 30, p. 906–911.

66. Holten-Andersen N., Harrington M. J., Birkedal H., Lee B. P., Messersmith P. B., Lee K.Y. C. and Waite J. H., pH-induced Metal- Ligand Cross- Links Inspired by Mussel Yield Self- Healing Polymer Networks with Near-Covalent Elastic Moduli, *PNAS*, 2011, N7, v. 108, p. 2651 – 2655.

67. Perron N. R., Wang H. C., DeGuire S. N., Jenkins M., Lawson M. and Brumaghim J. L., Kinetics of Iron Oxidation Upon Polyphenol Binding, *Dalton Trans.*, 2010, v. 39, p. 9982–9987.

68. Ryan P. and Hynes M. J., The Kinetics And Mechanisms Of The Complex Formation and Antioxidant Behaviour of the Polyphenols EGCG And ECG with Iron(III), *J. Inorg. Biochem.*, 2007, v. 101, p. 585 – 593.

69. Perron N. R. and Brumaghim J. L., A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding, *Cell Biochem. Biophys.*, 2009, v. 53, p. 75 – 100.

70. Siligardi G., Hussain R., Patching S. G. and Phillips-Jones M. K., Ligand- and Drug-Binding Studies of Membrane Proteins Revealed Through Circular Dichroism Spectroscopy, *Biochim. Biophys. A. (BBA) – Biomembr.*, 2014, v. 1838, p. 34 – 42.

71. Grigoryan K. and Shilajyan H., Physicochemical Peculiarities of Iodine Dimethylsulfoxide-H<sub>2</sub>O Solutions and Effect on Ion Binding to Bovine Serum Albumin, *Dat. Pap. Chem.*, 2013, v. 1, p. 1 – 5.

72. Hui X., Quanwen L., Ying Z., Yan B., Shuli G. Spectroscopic Studies on the Interaction of Vitamin C with Bovine Serum Albumin, *J. Sol. Chem.*, 2009, v. 38, p. 15 - 25.

73. Micsonai A., Wien F., Kernya L., Lee Y. H., Goto Y., Réfrégiers M., and Kardosa J., Accurate Secondary Structure Prediction and Fold Recognition for Circular Dichroism Spectroscopy, *PNAS*, 2015, v. 112, p. 3095 – 3103.

74. Գրիգորյան Կ. Ռ., Ֆլուորեսցենսային սպեկտրոսկոպիայի մեթոդների կիրառությունը կենսամոլեկուլների ուսումնասիրման համար, ԵՊՀ հրատ., Երևան, 2012, 35 էջ.

75. Lepthien S., Hoesl M. G., Merkel L. and Budisa N., Azatryptophans Endow Proteins with Intrinsic Blue Fluorescence, *PNAS*, 2008, N42, v. 105, p. 16095 – 16100.

76. Lakowicz J., Principles of Fluorescence Spectroscopy, 3rd Ed., 2006, New York: Springer, 960 p.

77. Kragh – Hansen U., Molecular Aspects of Ligand Binding to Serum Albumin, *Pharmacol. Rev.*, 1981, v. 33, p. 17 – 53.

78. Van Holde K. E., Physical Biochemistry (Second edition), 1985, Prentice-Hall, NJ, 287 p.

79. Chen Y. C., Wang H. M., Niu Q. X., Ye D. Y. and Liang G. W., Binding between Saikosaponin C and Human Serum Albumin by Fluorescence Spectroscopy and Molecular Docking, *Molecules*, 2016, N2, v. 21, p. 153 – 167.

80. Tian J. N., Liu J. Q., He W.Y., Hu Z.D., Yao Z.D. and Chen X.G., Probing The Binding of Scutellarin to Human Serum Albumin by Circular Dichroism, Fluorescence Spectroscopy, FTIR, and Molecular Modeling Method, *Biomacromol.*, 2004, v. 5, p. 1956–1961.

81. Salentin S., Schreiber S., Haupt V. J., Adasme M. F. and Schroeder M., PLIP: Fully Automated Protein–Ligand Interaction Profiler, *Nucl. Ac. Res.*, 2015, v. 43, p. 443 – 447.

82. Ross P. D. and Subramanian S., Thermodynamics of Protein Association Reactions: Forces Contributing to Stability, *Biochem.*, 1981, v. 20, p. 3096–3102.

83. Maltas E., Binding Interactions of Niclosamide with Serum Proteins, *J. Food Dr. Anal.*, 2014, v. 22, p. 549 – 555.

84. Yan Y. and Marriott G., Analysis of Protein Interactions Using Fluorescence Technologies, *Curr. Op. Chem. Biol.*, 2003, v. 7, p. 635–640.

85. James N. G., Ross A. J., Mason A. B. and Jameson D. M., Excited-State Lifetime Studies of the Three Tryptophan Residues in the N-Lobe of Human Serum Transferrin, *Prot. Sci.*, 2010, v. 19, p. 99 – 110.
86. Xu Q. H., Wang S., Korystov D., Mikhailovsky A., Bazan G. C., Moses D. and Heeger A. J., The Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET) Gate: A Time-Resolved Study, *PNAS*, 2005, N3, v. 102, p. 530 – 535.
87. Khan S. N., Islam B., Rajeswari M. R., Usmani H. and Khan A. U., Interaction of Anesthetic Supplement Thiopental with Human Serum Albumin, *A. Bioch. Pol.*, 2008, N2, v. 55, p. 399 – 409.
88. Guinna E. J., Konturc W. S., Tsodikov O. V., Shkela I., and Record T. M. Jr., Probing the Protein-Folding Mechanism Using Denaturant and Temperature Effects on Rate Constants, *PNAS*, N42, v. 110, p. 16784 – 16789.
89. England J. L. and Haran G., Role of Solvation Effects in Protein Denaturation: From Thermodynamics to Single Molecules and Back, *Annu. Rev. Phys. Chem.*, 2011, N2, v. 62, p. 257 – 277.
90. Arakawa T., Kita Y. and Timasheff S. N., Protein Precipitation and Denaturation by Dimethyl Sulfoxide, *Biop. Chem.*, 2007, v. 131, p. 62 – 70.
91. Shao Q., Methanol Concentration Dependent Protein Denaturing Ability of guanidinium/Methanol Mixed Solution, *J. Phys. Chem. B*, 2014, N23, v. 118, p. 6175–6185.
92. Григорян К. Р., Маркарян Ш. А., Азнаурян М. Г., Влияния диметилсульфоксида и диэтилсульфоксида на термическую денатурацию человеческого сывороточного альбумина, *Проблемы Криобиологии*, 2009, N.1, т. 19, с. 3 – 9.
93. Pinho Melo E., Aires-Barros M. R., Costa S. M. B. and Cabral J. M. S., Thermal Unfolding of Proteins at High pH Range Studied by UV Absorbance, *J. Biochem. Biophys. Met.*, 1997, v. 34, p. 45 – 59.
94. Xu Q. and Keiderling T. A., Effect of Sodium Dodecyl Sulfate on Folding and Thermal Stability of Acid-Denatured Cytochrome C: A Spectroscopic Approach, *Prot. Sci.*, 2004, v. 13, p. 2949 – 2959.
95. Dong A., Kendrick B., Kreilgard L., Matsuura J., Manning M. C. and Carpenter J. F., Spectroscopic Study of Secondary Structure and Thermal Denaturation of Recombinant Human Factor XIII in Aqueous Solution, *Arc. Biochem. Biophys.*, 1997, N2, v. 347, p. 213 – 220.

96. Duncan T., Osawa Y., Kutty K. R., Kutty G. and Wiggert B., Heme-Binding by *Drosophila* Retinoid- and Fatty Acid-Binding Glycoprotein (RFABG), A Member of the Proapolipoprotein Gene Family, *J. Lip. Res.*, 1999, v. 40, p. 1222 – 1228.
97. Corrêa D. H. A. and Ramos C. H. I., The Use of Circular Dichroism Spectroscopy to Study Protein Folding, Form and Function, *J. Biochem. Res.*, 2009, N5, v. 3, p. 164-173.
98. Lukin J. A. and Ho C., The Structure–Function Relationship of Hemoglobin in Solution at Atomic Resolution, *Chem. Rev.*, 2004, N3, v. 104, p. 1219–1230.
99. Zaia J., Roland S. Annan R. S. And Biemann K., The Correct Molecular Weight of Myoglobin, A Common Calibrant for Mass Spectrometry, *Rap. Com, Mass Spect.*, 1992, v. 6, p. 32 – 36.
100. Syukriah N. A. R., Liza M. S., Harisun Y. and Fadzillah A. A. M., Effect of Solvent Extraction on Antioxidant and Antibacterial Activities from *Quercus Infectoria* (Manjakani), *Int. Food Res. J.*, 2014, N3, v. 21. p. 1067 – 1073.
101. Barcelo J. M., Guieb M, Ventura A., Nacino A., Pinasen H., Viernes L., Yodong T., Lou Estrada B., Valdez D. and Binwag T., Antibacterial, Prooxidative and Genotoxic Activities of Gallic Acid and its Copper and Iron Complexes against *Escherichia coli*, *Asia Pac. J. Mult. Res.*, 2014, N6, v. 2, p. 45 – 56.
102. Chen X., Beutler J. A., McCloud T. G., Loehfelm A., Yang L., Dong H. F., Chertov O. Y., Salcedo R., Oppenheim J. J. and Zack Howard O. M., Tannic Acid Is an Inhibitor of CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 with Antiangiogenic Activity, *Clin. Canc. Res.*, 2003, v. 9, p. 3115 – 3123.
103. Min B. R., Pinchak W. E., Merkel R., Walker S., Tomita G. and Anderson R.C., Comparative Antimicrobial Activity of Tannin Extracts from Perennial Plants on Mastitis Pathogens, *Sci. Res. Es.*, 2008, N2, v. 3, p. 66 – 73.
104. Григорян К.Р., Физико – Химическое Исследование Стабильности Человеческого Сывороточного Альбумина В Присутствии Димексида, *Медицинская наука Армении НАН РА.*, 2008, N2, с. 67 – 73.
105. Taulier N., Chalikian T., Characterization of pH-Induced Transitions of B-Lactoglobulin: Ultrasonic, Densimetric, and Spectroscopic Studies, *J. Mol. Biol.*, 2001, v. 314, p. 873 – 889.
106. Csonka G. I., Ruzsinszky A. and Perdew J. P., Proper Gaussian Basis Sets for Density Functional Studies of Water Dimers and Trimers, *J. Phys. Chem. B*, 2005, N46, v. 106, p. 21471 – 21475.

107. De S. and Girigoswami A., A Fluorimetric and Circular Dichroism Study of Hemoglobin—Effect of pH and Anionic Amphiphiles, *J. Col. Int. Sci.*, 2006, v. 296, p. 324 – 331.
108. Miller D. W. and Dill K. A., Ligand Binding to Proteins: The Binding Landscape Model, *Prot. Sci.*, 1997, v. 6, p. 2166 – 2179.
109. Kurek-Górecka A., Rzepecka-Stojko A., Górecki M., Stojko J., Sosada M. and Świerczek-Zięba G., Structure and Antioxidant Activity of Polyphenols Derived from Propolis, *Molecules*, 2014, v. 19, p. 78-101.
110. Ren Sh. Ch., Qiao Q. Q. and Ding X. L., Antioxidative Activity of Five Flavones Glycosides from Corn Silk (*Stigma maydis*), *Czech. J. Food Sci.*, 2013, N2, v. 31, p. 148 – 155.
111. Polewski K., Kniat S. and Slawinska D., Gallic Acid, A Natural Antioxidant, In *Aqueous and Micellar Environment: Spectroscopic Studies*, *Cur. Top. Biop.*, 2002, N2, v. 26, p. 217-227.
112. Grigoryan K. R., Sargsyan L. S. and Zatikyan A. L., Experimental and Theoretical Studies on Competitive Interactions in Gallic Acid – Water System, 2015 (Thesis), IV International Conference „Current Problems Of Chemical Physics”, 5 – 9 October 2015, Yerevan, p. 204 – 205.
113. Григорян К. Р., Саргсян Л. С., Межмолекулярные взаимодействия в водных растворах галловой кислоты при 296–306 К по данным спектрофлуориметрии и денситометрии, *Журнал Физической Химии*, 2015, N. 12, т. 89, с. 75 – 78.
114. Faendrich M., Forge V., Buder K., Kittler M., Dobson C. M. and Diekmann S., Myoglobin Forms Amyloid Fibrils by Association of Unfolded Polypeptide Segments, *PNAS*, 2003, N26, v. 100, p. 15463 – 15468.
115. Castro-Forero A., Jiménez D., López-Garriga J. and Torres – Lugo M., Immobilization of Myoglobin from Horse Skeletal Muscle in Hydrophilic Polymer Networks, *J. App. Polym. Sci. Symp.*, 2008, N2, v. 107, p. 881 – 890.
116. Nakashima K., Yuda K., Ozaki Y. and Noda I., Two-Dimensional Fluorescence Correlation Spectroscopy: Resolution of Fluorescence of Tryptophan Residues in Horse Heart Myoglobin, *App. Spectr.*, 2003, v. 57, p. 1381 – 1385.
117. Albani, J. R., *Fluorescence Spectroscopy Principles*, in *Principles and Applications of Fluorescence Spectroscopy*, Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK., 2007, 270 p.

118. Postnikova G. B., Komarov Y. E. and E. M. Yumakova, Fluorescence Study of the Conformational Properties of Myoglobin Structure. 2. pH- and Ligand-Induced Conformational Changes in Ferric- and Ferrousmyoglobins, *Eur. J. Biochem.*, 1991, v. 198, pp. 233-239
119. К.Р. Григорян, Л.С. Саргсян, Спектральные исследования миоглобина с танином, *Журн. прик. спектрос.*, 2016, N 3, т. 83, с. 493 – 497
120. *Gel Filtration: Principles and Methods* (7th ed). Pharmacia Biotech., 1997.
121. Hagel L., *Gel Filtration in Protein Purification, Principles, High Resolution Methods and Applications* (eds. J.-C. Janson and L. Rydén). NY: VCH Publishers Inc., 1989, p. 63–106.
122. Flodin P., *Methodological Aspects of Gel-Filtration with Special Reference to Desalting Operations.*, *J. Chromatogr.*, 1961, v. 5, p. 103–115.
123. Grigoryan K., Sargsyan L., Markarian S., Jacob C. and Burkholz T., Fluorescence Characterization of Human Hemoglobin Binding with Tannic Acid, *Arm. Chem. J.*, 2014, N2–3, p. 181–187.
124. Chen T., Zhu S., Shang Y., Ge C. and Jiang G., Binding of Dihydromyricetin to Human Hemoglobin: Fluorescence and Circular Dichroism Studies, *Spect. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2012, v. 93, p. 125 – 130.
125. Sargsyan L. S., Impact of Different Factors on Volume Properties of Human Hemoglobin, *Proc. of the Yerevan State Univ. Chemistry and Biology*, 2015, N1, p. 9–12.
126. Grigoryan K. R. and Sargsyan L., The Study of Hemoglobin - Tannic Acid Interactions by Fluorescence Spectroscopy Method, 2013 (Thesis), *Frontiers in Chemistry Armenia*, Yerevan, 25 - 29 August 2013, p. 178.
127. Grigoryan K. R. and Sargsyan L. S., Denaturation of Hemoglobin in the Presence of Tannic Acid, *Proc. of the Yerevan State Univ. Chemistry and Biology*, 2014, N1, p. 23–27.