

Քիմիա

УДК 577.322.72

ԴԻՍԵԹԻԼՍՈՒԼՖՕՔՍԻԴԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԿԱՐՔԱՍԻԴ–ՑՈՒԼԻ
ՇԻՃՈՒԿԱՅԻՆ ԱԼԲՈՒՄԻՆ ՓՈԽԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՎՐԱ

Կ. Ռ. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ*, Լ. Ս. ՍԱՐԳՍՅԱՆ

ԵՊՀ ֆիզիկական և կոլոիդ քիմիայի ամբիոն, Հայաստան

Բանալի բառերը. ցուլի շիճուկային ալբումին, ԴՄՍՕ, կարբամիդ, ջերմային-, քիմիական դեմատորացիա:

Ներածություն: Լուծույթների տեսության զարգացման մեջ առանձնակի ուշադրություն է դարձվում ոչ էլեկտրոլիտների ջրային լուծույթներին: Դա պայմանավորված է այն հանգամանքով, որ այս լուծույթները հանդիսանում են ոչ միայն քիմիական փոխարկումների, այլ նաև կենսամոլեկուլների հետ փոխազդեցությունների ուսումնասիրման միջավայր: Ոչէլեկտրոլիտների ջրային լուծույթները, մասնավորապես դիալկիլսուլֆօքսիդային լուծույթները, հայտնի են իրենց լայն կենսաբանական կիրառությամբ: Դրանք օգտագործվում են որպես սպիտակուցների, ԴՆԹ-ի, ֆոսֆոլիպիդների և այլ կենսաբանական մակրոմոլեկուլների դեմատորանտներ, ճառագայթա- և սառցապաշտպանիչներ [1–4]: Մասնավորապես, դիմեթիլսուլֆօքսիդի (ԴՄՍՕ), դիէթիլսուլֆօքսիդի ջրային լուծույթները հանդիսանում են կենսաբանական օբյեկտների ուսումնասիրման համար հետաքրքիր միջավայրեր, քանի որ, կախված խառը լուծիչում դրանց կոնցենտրացիայից, փոխվում է լուծիչի ցանցային կառուցվածքը, որն ազդում է համակարգում ընթացող նախընտրելի փոխազդեցությունների բնույթի վրա և կառավարելի է դարձնում կենսամակրոմոլեկուլների հետ փոխազդեցությունները: Կարբամիդը հայտնի է որպես ջրային լուծույթների կառուցվածքի վրա ազդող ազենտ: Փոքր կոնցենտրացիաների դեպքում կարբամիդը քանդում է ջրի կառուցվածքը, իսկ մեծ կոնցենտրացիաների դեպքում՝ նպաստում կառուցվածքազոյացմանը [5]: Մեծ է նաև կարբամիդի կենսաբանական նշանակությունը: Այն հանդիսանում է կենդանի օրգանիզմների նյութափոխանակության կարևորագույն արգասիք: Անփոխարինելի է կարբամիդի դերը բջիջների ջրային ռեժիմի կարգավորման խնդրում: Կարբամիդը հայտնի է նաև որպես սպիտակուցների դեմատորանտ [6, 7]:

Այս աշխատանքում ներկայացված է կարբամիդի ջուր–ԴՄՍՕ լուծույթների ֆիզիկաքիմիական ուսումնասիրությունը, և այդ լուծույթներում ՅՇԱ-ի ջերմային և քիմիական դեմատորացիան:

* E-mail: kara@ysu.am

Օգտագործված նյութերը և հետազոտման մեթոդները: Օգտագործվել է Sigma & Co. (ԱՄՆ) ընկերության ՑՇԱ և ԳՄՍՕ: Կարբամիդը եղել է մ.ա.հ. մակնիշի: ՑՇԱ-ի կոնցենտրացիան կազմել է 0,4 մգ/մլ, որը որոշվել է էլեկտրոնային կլանման սպեկտրադիտման օգնությամբ: Կարբամիդի կոնցենտրացիան կազմել է 0,4–1,0 մոլ/լ: ԳՄՍՕ-ի կոնցենտրացիան փոփոխվել է 10–20%:

Կալորիաչափություն: Չափումներն իրականացվել են Parr 1455 կալորիաչափի օգնությամբ: Որպես լուծիչ օգտագործվել է ջուր–ԳՄՍՕ խառը լուծիչը, որտեղ ԳՄՍՕ-ի պարունակությունը կազմում է 10% (ծավալային բաժնով): Փորձերը կատարվել են 20⁰ C ջերմաստիճանում: Որոշվել են կարբամիդի լուծման ջերմեֆեկտները ջրում և ջուր–ԳՄՍՕ խառը լուծիչում:

Էլեկտրահաղորդականության և pH-ի չափումներ: Լուծույթների տեսակարար էլեկտրահաղորդականությունը և pH-ը չափվել են Jenway 4330 սարքի օգնությամբ, 20⁰ C-ի պայմաններում: Չափումներն իրականացվել են լուծույթները 5 րոպե թերմոստատում պահելուց հետո:

Էլեկտրոնային կլանման սպեկտրադիտումներ: էլեկտրոնային կլանման սպեկտրները գրանցվել են Specord 50 սպեկտրալուսաչափի օգնությամբ: Օգտագործվել են 1 սմ լայնությամբ քվարցե կյուվետներ: Ջերմաստիճանը հաստատուն պահելու համար օգտագործվել է ցիրկուլացնող թեմոստատ (Lauda A100): ՑՇԱ-ի քիմիական դեմատորացիան ուսումնասիրվել է 60⁰ C-ում, 1 մոլ/լ կարբամիդի ջրային և ջուր–ԳՄՍՕ-ային լուծույթներում, իսկ ջերմային դեմատորացիան՝ 30–86⁰ C-ում: Ջերմաստիճանը փոփոխվել է 2⁰ C/րոպե արագությամբ:

ԻԿ-սպեկտրադիտումներ: ԻԿ-սպեկտրադիտումնային ուսումնասիրությունների համար օգտագործվել է Nicolet/FTIR Nexus սպեկտրալուսաչափը: Ջրային լուծույթների ԻԿ-սպեկտրների գրանցման համար օգտագործվել է ZnSe-ային բյուրեղը: Սպեկտրները գրանցվել են 950–3500 սմ⁻¹ տիրույթում: Կարբամիդի կոնցենտրացիան փոխվել է 0,1–1,0 մոլ/լ տիրույթում:

Արդյունքներ և դրանց քննարկումը: ԳՄՍՕ-ի ազդեցությունը ՑՇԱ-ի և կարբամիդի միջև ընթացող փոխազդեցությունների վրա պարզելու համար նախ ուսումնասիրվել է կարբամիդ–ջուր և կարբամիդ–ջուր–ԳՄՍՕ լուծույթների կառուցվածքային առնձնահատկությունները, ապա՝ այդ լուծույթներում ՑՇԱ-ի քիմիական և ջերմային դեմատորացիան: Որոշվել է կարբամիդի լուծման ջերմեֆեկտը ջրում և ջուր–ԳՄՍՕ լուծույթներում:

Աղյուսակ 1

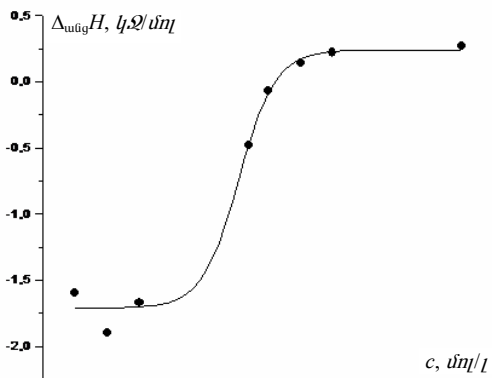
Կարբամիդի լուծման էնթալպիայի արժեքները ջուր և ջուր–ԳՄՍՕ խառը լուծիչում

[(NH ₂) ₂ CO], մոլ/լ	-ΔH, կՋ/մոլ	
	լուծիչ H ₂ O	լուծիչ H ₂ O–ԳՄՍՕ (10%, ծավ.)
0,40	12,50	14,10
0,45	12,90	14,80
0,50	13,45	15,12
0,67	14,77	15,25
0,70	14,81	14,88
0,75	14,99	14,85
0,80	15,05	14,83
1,00	15,27	15,00

Աղյուսակ 1-ում բերված է կարբամիդի լուծման էնթալպիայի փոփոխության կախվածությունը կարբամիդի կոնցենտրացիայից ջուր և ջուր–ԳՄՍՕ

լուծույթում: Ինչպես տեսնում ենք, համակարգի էնթալպիայի փոփոխությունը ջրում աճում է կարբամիդի կոնցենտրացիայի աճի հետ: Այս երևույթի պատճառ կարող է հանդիսանալ այն, որ կարբամիդը ջրում լուծվելիս առաջացնում է հինգից ավելի ջրածնական կապեր, որոնք կարբամիդի կոնցենտրացիայի մեծացմամբ դառնում են շատ ինտենսիվ: Սա կարող է բերել ջրի կառուցվածքի քանդման [7]:

Բինար լուծիչների դեպքում լուծույթների բնութագիրը առնչվում է անցման էնթալպիայի՝ $\Delta_{\text{անց}}H$ -ի հետ, որն իրենից ներկայացնում է նյութի տարբեր բաղադրությամբ խառը լուծիչից պարզ լուծիչ անցման էնթալպիան: Այն կարելի է արտահայտել հետևյալ պարզ առնչությամբ, $\Delta_{\text{անց}}H = \Delta_{\text{լու}}H_{\text{լու}}^0 - \Delta_{\text{լ}}H_{\text{լ}}^0$, որտեղ՝ $\Delta_{\text{անց}}H$ -ը նյութի անցման ստանդարտ էնթալպիան է, $\Delta_{\text{լու}}H_{\text{լու}}^0$ -ն և $\Delta_{\text{լ}}H_{\text{լ}}^0$ -ը համապատասխանաբար խառը և մաքուր



Նկ. 1: Կարբամիդի ջրից ջուր-ԳՄՍՕ խառը լուծիչ անցման էնթալպիաների կախվածությունը կոնցենտրացիայից: ԳՄՍՕ – 10%:

մոլեկուլների ընդգրկմամբ:

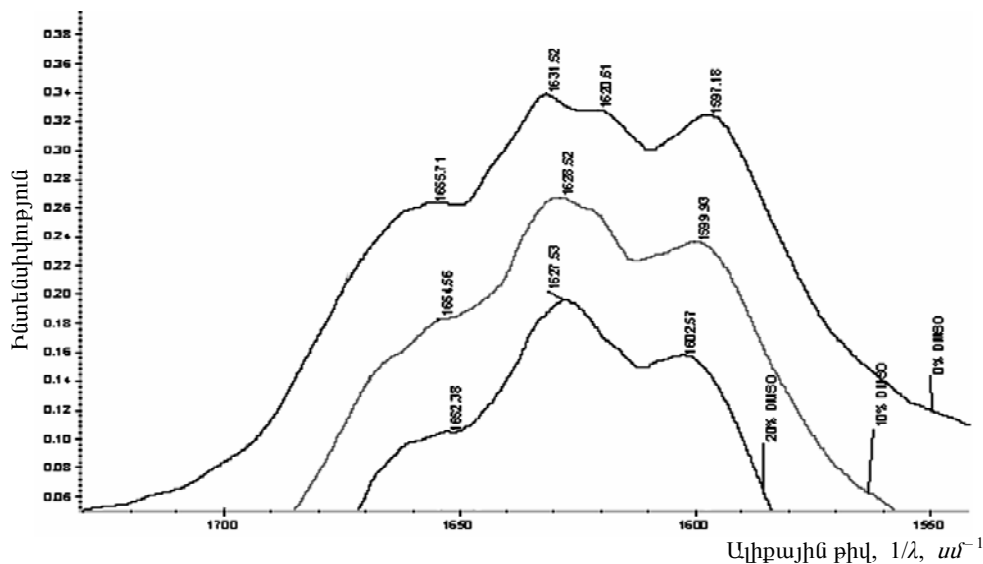
Կարբամիդի ջրային և ջուր-ԳՄՍՕ լուծույթների pH-ի և էլեկտրահաղորդականության չափումները ցույց տվեցին, որ ԳՄՍՕ ներկայությամբ լուծույթում էական փոփոխություններ չեն նկատվում. լուծույթների pH-ը մնում է 7,00–7,35 սահմաններում, իսկ տեսակարար էլեկտրահաղորդականությունը՝ 20–22 մՄ-ի սահմաններում:

Կարբամիդի ջրային և ջուր-ԳՄՍՕ լուծույթներում առաջացող ջրածնական կապերի մասին տեղեկություն կարելի է ստանալ ԻԿ-սպեկտրներից՝ կարբամիդի NH-խմբի դեֆորմացիոն տատանումների (1620 սմ^{-1} և 1631 սմ^{-1}) և CO-խմբի վալենտային տատանման (1597 սմ^{-1}) մարզերից [8]: NH-խմբի դեֆորմացիոն տատանումները նկարագրվում են, որպես ամիդ 1 (1620 սմ^{-1}) և ամիդ 2 (1631 սմ^{-1}) կլանման մաքսիմումներ:

Ինչպես երևում է նկ. 2-ից, կարբամիդի հաստատուն կոնցենտրացիայի դեպքում, ԳՄՍՕ-ի պարունակությունը 0–20% մեծացնելիս դիտվում է ամիդ 1-ի կլանման ինտենսիվության նվազում, իսկ ամիդ 2-ի կլանման շեղում 1631 – 1627 սմ^{-1} : Սա ասում է այն մասին, որ ջրի հետ ջրածնական կապի առաջացմանը մասնակցում է կարբամիդի ամիդ 1 խմբի ջրածինը: Ուսումնասիրվել է նաև ԳՄՍՕ-ի SO-խմբի կլանման մարզը, որը բնութագրվում է 2 կլանումով՝ 1050 սմ^{-1} և 950 սմ^{-1} : Կարբամիդի կոնցենտրացիան $0,4$ – $1,0 \text{ մոլ/լ}$ մեծացնելիս

լուծիչների լուծման ստանդարտ էնթալպիաներն են: Ստացված արդյունքների հիման վրա հաշվարկվել են կարբամիդի ջրից ջուր-ԳՄՍՕ խառը լուծիչ անցման էնթալպիայի արժեքները, որոնք բերված են նկ. 1-ում: Կախվածությունը շատ լավ նկարագրվում է սիգմոիդալ կորով: Դիտվում է $\Delta_{\text{անց}}H$ արժեքի կտրուկ փոփոխություն կարբամիդի $0,6$ – $0,7$ կոնցենտրացիոն տիրույթում: Հետևաբար կարելի է եզրակացնել, որ ԳՄՍՕ 10% լուծույթում տեղի ունի կարբամիդի սուլվատ թաղանթի կառուցվածքի փոփոխություն՝ ԳՄՍՕ-ի

սպեկտրալ ազդանշանների շեղում չի դիտվում: ԻԿ-սպեկտրների ուսումնասիրությունից կարելի է գալ այն եզրահանգման, որ կարբամիդի 0,4–1,0 մոլ/լ կոնցենտրացիոն տիրույթում ԳՄՍՕ-ի 10%-ոց լուծույթի բևեռայնության փոփոխությունը ջրի համեմատ շատ փոքր է:



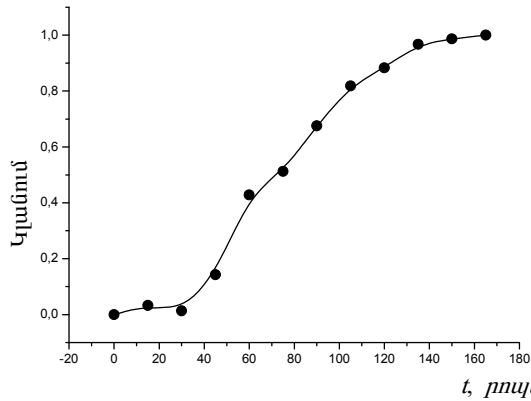
Նկ. 2: Կարբամիդի ԻԿ-սպեկտրում CO- և NH-խմբերի տատանման մարզերը:

Այսպիսով, կարբամիդ–ջուր–ԳՄՍՕ համակարգում նշված կոնցենտրացիոն տիրույթում տեղի է ունենում կարբամիդի սուլվատ թաղանթի փոփոխություն, որը սակայն չի բերում լուծույթի ֆիզիկաքիմիական բնութագրի էական փոփոխության:

Կարբամիդը հայտնի է սպիտակուցները դենատուրացնելու հատկությամբ: Այն, կոնցենտրացիայից անկախ, դարձելիորեն կապվում է սպիտակուցների հետ, որը հնարավորություն է տալիս ուսումնասիրել սպիտակուցների դենատուրացիայի-ռենատուրացիայի պրոցեսները [6]: Դիալկիլսուլֆոքսիդների (ԴԱՍՕ) նման հատկությունները կապված են ինչպես ալկիլ շղթայի երկարության, այնպես էլ կոնցենտրացիայի հետ: Ցածր կոնցենտրացիաների դեպքում դրանք ի հայտ են բերում կայունացնող, իսկ բարձր կոնցենտրացիաների դեպքում՝ ապակայունացնող հատկություն: Ցածր կոնցենտրացիաների դեպքում ԴԱՍՕ-ի կայունացնող հատկությունը պայմանավորված է ջրային միջավայրի կառուցվածքազոյացման մեծացմամբ, իսկ բարձր կոնցենտրացիաների դեպքում ապակայունացնող հատկությունը՝ սպիտակուցի կողմնային շղթայի ամինաթթվային մնացորդների հետ անմիջական փոխազդեցությամբ [2]: Մեր կողմից ուսումնասիրվել է ՅՇԱ–կարբամիդ փոխազդեցությունը 60⁰ C-ում ջուր–ԳՄՍՕ լուծույթում: Ստացված արդյունքները բերված են նկ. 3-ում:

ՅՇԱ-ն իրենից ներկայացնում է մեկ պոլիպեպտիդային շղթա՝ բաղկացած 512 ամինաթթվային մնացորդներից: Այն կազմված է երեք դոմեններից, ընդ որում, դրանցից յուրաքանչյուրը՝ երկու ենթադոմենից: ՅՇԱ-ի էլեկտրոնային կլանման սպեկտրը բնութագրվում է լայն կլանման շերտով 280 նմ ալիքի երկարության մաքսիմալ կլանումով, որը պայմանավորված է տրիպտո-

ֆանային, քիրոզինային և ֆենիլալանինային արոմատիկ ամինաթթվային մնացորդներով:



Նկ. 3: ՅՇԱ-ի քիմիական դեմատուրացման կորը ջուր-ԴՄՍՕ լուծույթում $T=60^{\circ}C$, ԴՄՍՕ – 10%:

Լուծույթի օպտիկական խտությունը սկսում է բարձրանալ 30 րոպե անց, այսինքն սկսվում է դեմատուրացման պրոցեսը, իսկ 140 րոպեից հետո օպտիկական խտության փոփոխություն չի դիտվում (նկ. 3): Դեմատուրացիան բնութագրվում է սիզմոնիդալ կորով, որի վրա կարելի է առանձնացնել երկու մարզ: Սա բացատրվում է նրանով, որ բերված պայմաններում դեմատուրացիան իրականանում է երկու փուլով, որոնցից առաջինը

կարելի է վերագրել դոմենների միմյանցից հեռանալուն, իսկ երկրորդը՝ դարձելի դեմատուրացիային: Ջերմաստիճանի փոփոխության ազդեցությունը ՅՇԱ-կարբամիդ փոխազդեցությունների վրա ուսումնասիրվել է էլեկտրոնային կլանման սպեկտրադիտման մեթոդով $36-86^{\circ}C$ ջերմաստիճանային տիրույթում, ջերմաստիճանի $2^{\circ}C/րոպե$ արագությամբ փոփոխության պայմաններում ԴՄՍՕ-ի առկայությամբ: Հետևել ենք կլանման ինտենսիվության փոփոխությանը $280 նմ$ ալիքի երկարության տակ: Ստացված արդյունքները բերված են աղյ. 2-ում:

Աղյուսակ 2

Ջերմաստիճանի փոփոխության ազդեցությունը ջուր-ԴՄՍՕ խառը լուծիչում ՅՇԱ-կարբամիդ փոխազդեցությունների վրա: [ԴՄՍՕ] – 10% (ծավ.), $[(NH_2)_2CO]$ – 1,0 մոլ/լ

$t^{\circ}C$	36	40	44	48	52	56	60	64	68	72	76	80	84
A	0,653	0,652	0,651	0,657	0,654	0,654	0,652	0,653	0,653	0,649	0,649	0,647	0,646

Նշված պայմաններում օպտիկական խտության արժեքը պրակտիկորեն չի փոխվում ողջ ջերմաստիճանային տիրույթում, որը սակայն դեռ ապացույց չէ այն բանի, որ ԴՄՍՕ-ի առկայությունը պաշտպանում է ՅՇԱ-ը թերմիկ դեմատուրացիայից: Սակայն պարզ է, որ կառուցվածքային որոշակի միավորներ, մինչև երրորդային կախուցվածքի մակարդակով, պահպանվում են:

Եզրակացություն: Այսպիսով, ԴՄՍՕ-ի ազդեցությունը ՅՇԱ-ի և կարբամիդի միջև ընթացող փոխազդեցությունների վրա արտահայտվում է կարբամիդի սուլվատ թաղանթի կառուցվածքի փոփոխությամբ, որը հանգեցնում է լուծույթի կառուցվածքի կայունացմանը: Այս պայմաններում ՅՇԱ-ի ջերմային և քիմիական դեմատուրացիան իրականանում է դարձելի բազմափուլ մեխանիզմով, իսկ կառուցվածքային որոշակի միավորներ մինչև երրորդային կառուցվածքի մակարդակով պահպանվում են:

Ստացվել է 15.09.2011

Գ Ր Ա Կ Ա Ն Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն

1. Markarian Sh., Bagramyan K., Arakelyan V. // Probl. Cryobiol., 2003, v. 2, p. 11–15.
2. Григорян К.Р., Маркарян Ш.А., Азнаурян М.Г. // Пробл. криобиологии, 2009, т. 19, № 1, с. 3–9.
3. Markarian Sh., Asatryan A., Grigoryan K., Sargsyan H. // Biopolym., 2006, v. 81, p. 1–5.
4. Григорян К.Р., Шиладжян А.А. // Ученые записки ЕГУ. Химия и биология, 2009, № 3, с. 3–6.
5. Das A., Chitra R., Choudhury R., Ramanadham M. // Pramana, 2004, v. 62, № 2, p. 363–368.
6. Muraldihara B., Prakash V. // Current Science, 1997, v. 72, № 11, p. 831–834.
7. Piekarski H. // Pure Appl. Chem., 1999, v. 71, № 7, p. 1275–1283.
8. Grandolnik J., Marechal Y. // J. Molec. Struct., 2002, v. 615, p. 177–189.

К. Р. ГРИГОРЯН, Л. С. САРКИСЯН

ВЛИЯНИЕ ДИМЕТИЛСУЛЬФОКСИДА НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ
КАРБАМИДОМ И БЫЧЬИМ СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ

Резюме

Методами классической физической химии (калориметрия, электропроводность, рН-метрия) и спектроскопии (ИК-, УФ-абсорбционная спектроскопия) изучено влияние диметилсульфоксида (ДМСО) на взаимодействия между карбамидом и бычьим сывороточным альбумином (БСА). Выявлены структурные особенности водных растворов карбамида в присутствии ДМСО, изучены химическая и термическая денатурация БСА в этих растворах.

Установлено, что в растворах, содержащих ДМСО (до 10% от объема), сольватная оболочка карбамида подвергается изменению из-за включения молекул ДМСО. В приведенных условиях химическая и термическая денатурация БСА протекает по обратимому многоэтапному механизму. После денатурации сохраняются отдельные блоки третичной структуры БСА.

K. R. GRIGORYAN, L. S. SARGSYAN

INFLUENCE OF DIMETHYLSULFOXIDE ON UREA-BOVINE SERUM
ALBUMIN INTERACTIONS

Summary

Using classical physicochemical (calorimetry, electroconductivity, pH-metry) and spectroscopic (IR, UV/vis) methods the effect of dimethylsulfoxide (DMSO) on urea bovine serum albumin (BSA) interactions have been studied. First of all the structural peculiarities of urea aqueous solutions in the presence of DMSO and then in these solutions the thermal and chemical denaturation of BSA has been determined.

It has been established that in DMSO containing solutions (up to 10%, v/v) urea solvate shell structure changes by inclusion of DMSO molecules. At mentioned conditions BSA thermal and chemical denaturation proceeds according to reversible multistep mechanism. After denaturation some structural unities of BSA ternary structure remain.