

Քիմիա

УДК 577.322.72

ԴԻՄԵԹԻԼՍՈՒԼՖՕՔՍԻԴԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԿԱՐԲԱՄԻԴ-ՑՈՒԼԻ
ՇԻՃՈՒԿԱՅԻՆ ԱԼԲՈՒՄԻՆ ՓՈԽԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՎՐԱ

Վ. Ռ. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ *, Լ. Ս. ՍԱՐԳՍՅԱՆ

ԵՊՀ ֆիզիկական և կոլոիդ քիմիայի ամբիոն, Հայաստան

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

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 դենատուրանտներ, ճառագայթա- և սառցապաշտպանիչներ [1–4]: Մասնավորապես, դիմերիլսուլֆօքսիդի (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 օրգանմիզմների նյութափոխանակության կարևորագույն արգասիք: Անփոխարինելի է կարբամիդի դերը բջիջների ջրային ռեժիմի կարգավորման խնդրում: Կարբամիդը հայտնի է նաև որպես սպիտակուցների դենատուրանտ [6, 7]:

Այս աշխատանքում ներկայացված է կարբամիդի ջուր-ԴՄՍՕ լուծույթների ֆիզիկաքիմիական ուսումնասիրությունը, և այդ լուծույթներում ՑՇԱ-ի ջերմային և քիմիական դենատուրացիան:

* E-mail: kara@ysu.am

Օգտագործված նյութերը և հետազոտման մեթոդները: Օգտագործվել է Sigma & Co. (ԱՄՆ) ընկերության ՅՇԱ և ԴՄՍՕ: Կարբամիդը եղել է մ.ա.հ. մականիշի: ՅՇԱ-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: ԴՄՍՕ-ի կոնցենտրացիան փոփոխվել է 10–20%:

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

Էլեկտրահաղորդականության և pH-ի չափումներ: Լուծույթների տեսակարար էլեկտրահաղորդականությունը և pH-ը չափվել են Jenway 4330 սարքի օգնությամբ, 200C-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 թերմոստատ (Lauda A100): ՅՇԱ-ի քիմիական դենատուրացիան ուսումնասիրվել է 600C-ում, 1 մոլ/լ կարբամիդի ջրային և ջուր–ԴՄՍՕ-ային լուծույթներում, իսկ ջերմային դենատուրացիան՝ 30–86⁰C-ում: Ջերմաստիճանը փոփոխվել է 2⁰C 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: ԴՄՍՕ-ի ազդեցությունը ՅՇԱ-ի և կարբամիդի միջև ընթացող փոխազդեցությունների վրա պարզելու համար նախ ուսումնասիրվել է կարբամիդ–ջուր և կարբամիդ–ջուր–ԴՄՍՕ լուծույթների կառուցվածքային առնձնահատկությունները, ապա՝ այդ լուծույթներում ՅՇԱ-ի քիմիական և ջերմային դենատուրացիան: Որոշվել է կարբամիդի լուծման ջերմեֆեկտը ջրում և ջուր–ԴՄՍՕ լուծույթներում:

Աղյուսակ 1

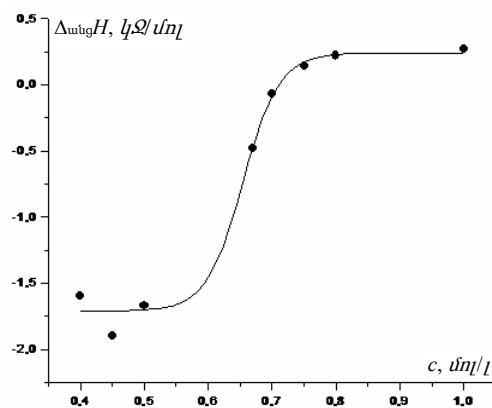
Կարբամիդի լուծման էնթալպիայի արժեքները ջուր և ջուր–ԴՄՍՕ խառը լուծիչում

[(NH ₂) ₂ CO], մոլ/լ	–ΔH, կՋ/մոլ	
	լուծիչ H ₂ O	լուծիչ H ₂ O–ԴՄՍՕ (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–ԴՄՍՕ

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 $\Delta_{\text{լ}}H_{\text{լ}}^0$ -ն



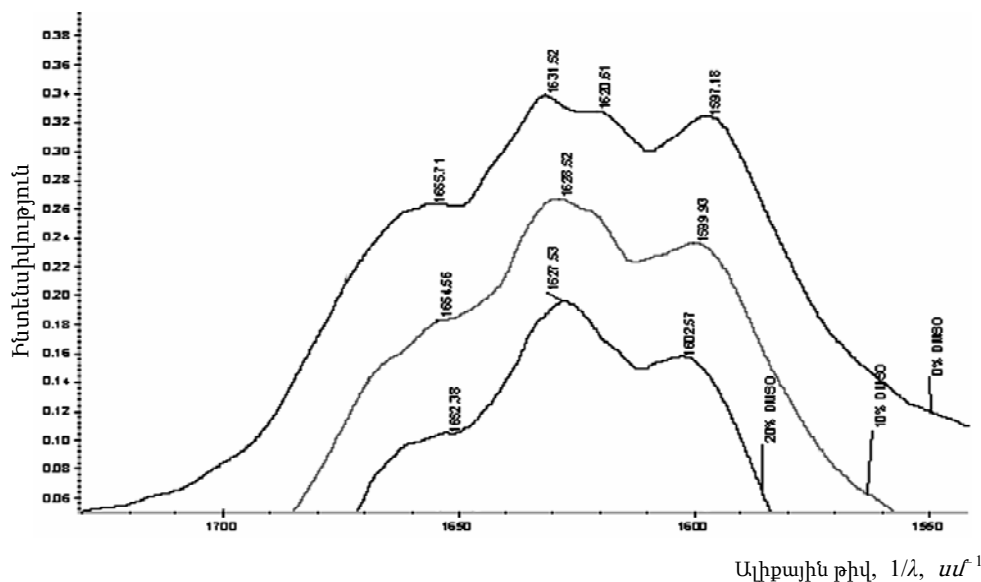
Նկ. 1: Կարբամիդի ջրից ջուր-ԴՄՍՕ խառը լուծիչ անցման էնթալպիաների կախվածությունը կոնցենտրացիայից: ԴՄՍՕ – 10%:

և համապատասխանաբար խառը և մաքուր լուծիչների լուծման ստանդարտ էնթալպիաներն են: Ստացված արդյունքների հիման վրա հաշվարկվել են կարբամիդի ջրից ջուր-ԴՄՍՕ 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 ԴՄՍՕ 10% լուծույթում տեղի ունի կարբամիդի սուլվատ թաղանթի կառուցվածքի փոփոխություն՝ ԴՄՍՕ-ի մոլեկուլների ընդգրկմամբ: Կարբամիդի ջրային և ջուր-ԴՄՍՕ լուծույթների pH-ի և էլեկտրահաղորդականության չափումները ցույց տվեցին, որ ԴՄՍՕ 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-ԴՄՍՕ լուծույթներում առաջացող ջրածնական կապերի մասին տեղեկություն կարելի է ստանալ ԲԿ-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 (1620 սմ^{-1}) կլանման մաքսիմումներ:

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

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

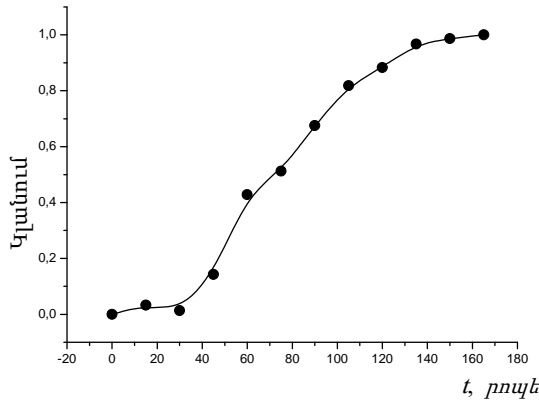


Նկ. 2. Կարբամիդի ԻԿ-սպեկտրում CO- և NH- խմբերի տատանման մարգերը:

Այսպիսով, կարբամիդ-ջուր-ԴՄՍՕ 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: Յաճախ կոնցենտրացիաների դեպքում դրանք ի հայտ են բերում կայունացնող, իսկ բարձր կոնցենտրացիաների դեպքում՝ ապակայունացնող հատկություն: Յաճախ 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 60⁰C-ում ջուր-ԴՄՍՕ 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 ապեկտրը բնութագրվում է լայն կլանման շերտով 280 նմ ալիքի երկարության մաքսիմալ

կլանումով, որը պայմանավորված է տրիպտոֆանային, թիրոզինային և ֆենիլալանինային արոմատիկ ամինաթթվային մնացորդներով:



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

Լուծույթի օպտիկական խտությունը սկսում է բարձրանալ 30 րոպե անց, այսինքն սկսվում է դենատուրացման պրոցեսը, իսկ 140 րոպեից հետո օպտիկական խտության փոփոխություն չի դիտվում (նկ. 3): Դենատուրացիան բնութագրվում է սիգմոիդալ կորով, որի վրա կարելի է առանձնացնել երկու մարզ: Սա բացատրվում է նրանով, որ բերված պայմաններում դենատուրացիան իրականանում է երկու փուլով, որոնցից առաջինը կարելի է վերագրել դոմենների միմյանցից հեռանալուն, իսկ երկրորդը՝ դարձելի դենատուրացիային: 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.), [(NH₂)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 դենատուրացիայից: 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 սովատ թաղանթի կառուցվածքի փոփոխությամբ, որը հանգեցնում է լուծույթի կառուցվածքի կայունացմանը: Այս պայմաններում ՅՇԱ-ի ջերմային և քիմիական դենատուրացիան իրականանում է դարձելի բազմափուլ մեխանիզմով, իսկ կառուցվածքային որոշակի միավորներ մինչև երրորդային կառուցվածքի մակարդակով պահպանվում են:

Ստացվել է 15.09.2011

Գ Դ Ա Վ 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.