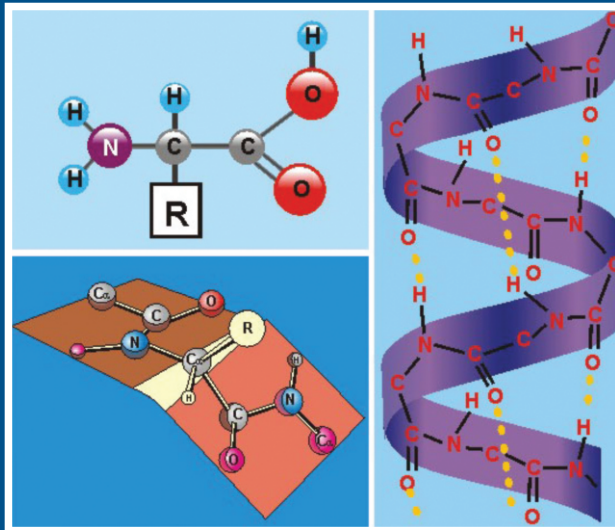


[ ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ  
ՆԱՄԱԼՍԱՐԱՆ ]

Ա. Ս. Սաղյան

ԱՄԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ,  
ՊԵՊՏԻԴՆԵՐԻ ԵՎ ՍՊԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐԻ  
ՔԻՄԻԱ



ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

Ա. Ս. Ս ա ղ յ ա ն

**ԱՄԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ,  
ՊԵՊՏԻԳՆԵՐԻ ԵՎ  
ՍՊԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐԻ ՔԻՄԻԱ**

ԵՐԵՎԱՆ

ԵՊՀ ՀՐԱՏԱՐԱԿՉՈՒԹՅՈՒՆ

2015

ՀՏԴ 547  
ԳՄԴ 24.2  
Ս 165

*Հրատարակության և երաշխավորել  
ԵՊՀ դեղագիտության և քիմիայի ֆակուլտետի  
գիտական խորհուրդը*

Սաղյան Ա.

Ս 165 Ամինաթթուների, պեպտիդների և սպիտակուցների քիմիա/Սաղյան Ա.: -Եր., ԵՊՀ հրատ., 2015, 452 էջ:

Դասագիրքը նվիրված է օրգանիզմի գոյատևման համար կարևոր կենսապոլիմեր սպիտակուցների և նրանց բաղադրիչների (ամինաթթուներ և պեպտիդներ), ինչպես նաև սպիտակուցների հետ համակցված այլ կենսապոլիմերների (նուկլեոպրոտեիններ, գլիկոպրոտեիններ, քրոմոպրոտեիններ և լիպոպրոտեիններ) և նրանց բաղադրիչների քիմիային: Այն ներառում է ԵՊՀ դեղագիտության և քիմիայի ֆակուլտետում հեղինակի կողմից դասավանդվող «Բնական միացությունների քիմիա» առարկայի դասախոսությունների նյութերը:

Դասագիրքը նախատեսված է հանրապետության պետական և ոչ պետական բուհերի քիմիայի, կենսաքիմիայի, դեղագործական քիմիայի, դեղագիտության և այլ բաժինների ուսանողների, մագիստրոսների, ասպիրանտների և հայցորդների, ինչպես նաև կենսատեխնոլոգիայի և կենսաօրգանական քիմիայի ոլորտներում գիտահետազոտական գործունեությամբ զբաղվող մասնագետների համար:

ՀՏԴ 547  
ԳՄԴ 24.2

ISBN 978-5-8084-1983-4

© ԵՊՀ հրատ., 2015  
© Սաղյան Ա., 2015

## ՆԱԽԱԲԱՆ

Գիտության և տեխնիկայի զարգացման ժամանակակից մակարդակը բնութագրվում է մասնավորապես կենսաբանության մեջ այնպիսի գիտությունների ներդրմամբ, ինչպիսիք են քիմիան, ֆիզիկան, կիրբեռնետիկան և այլն: Գիտության տարբեր ճյուղերի համակցումը խթան է հանդիսացել հասնելու առեւելի հաջողությունների մոլեկուլային կենսաբանության բնագավառում, պարզաբանելու ժառանգական էլեմենտների հաղորդման և սպիտակուցի կենսասինթեզի հիմնախնդիրները, բացահայտելու սպիտակուցի, նուկլեինաթթուների և այլ կենսապոլիմերների կառուցվածքային խնդիրները և բնության մեջ նրանց մասնակցությամբ ընթացող կենսակատալիտիկ պրոցեսների մեխանիզմները: Դրանք հիմք են հանդիսացել գիտության այնպիսի կարևոր և ժամանակակից ճյուղերի զարգացման համար, ինչպիսիք են կենսամիմետիկան և ֆարմակոգենետիկան, որոնք զբաղվում են օրգանիզմում ընթացող կենսակատալիտիկ պրոցեսների նմանակմամբ և գենային մակարդակով հիվանդությունների ու այլ պաթոլոգիական խանգարումների սկզբնաղբյուրների բացահայտման և դեղերի դեղաբանական ազդեցությունների կարգավորման հիմնախնդիրներով:

Դժվար է պատկերացնել մոլեկուլային կենսաբանության զարգացումը՝ առանց խորը պատկերացում ունենալու կենսապոլիմերների և նրանց բաղադրամասերի քիմիայի մասին: Այդ պատճառով էլ սկզբնական շրջանում մոլեկուլային կենսաբանության կարևոր և ծավալուն բաժիններից մեկը համարվում էր բնական միացությունների քիմիան: Վերջինս բնական ծագում ունեցող ցածրամոլեկուլային միացությունների սինթեզի և կառուցվածքի պարզաբանման խնդիրներից անցել է կենդանի բջջի հիմնական բաղադրիչների՝ սպիտակուցների, ֆերմենտների, նուկլեինաթթուների, լիպիդների և այլ կենսապոլիմերների կառուցվածքների ուսումնասիրման և բիոգենոզի հիմնախնդիրներին:

Այսօր դժվար է պատկերացնել տնտեսության որևէ բնագավառ, որն այս կամ այն չափով չառնչվի սպիտակուցների և նրա բաղա-

դրիչների հետ: Հատկապես մեծ է դրանց դերը բժշկության, դեղագործության, սննդաարդյունաբերության, գյուղատնտեսության և գիտության ու տեխնիկայի այլ բնագավառներում: Բազմաթիվ կարևոր կենսա- և դեղապատրաստուկներ համարվում են ամինաթթվային, պեպտիդային կամ ֆերմենտային բնույթի միացություններ՝ ինդիվիդուալ կամ այլ միացությունների հետ կոմպլեքս վիճակում: Կենդանի օրգանիզմների գոյատևման և զարգացման գործընթացներում որոշիչ դեր են խաղում տարբեր կենսապոլիմերների սպիտակուցային կոմպլեքսները՝ նուկլեոպրոտեինները, գլիկոպրոտեինները, լիպոպրոտեինները և այլն:

Վերջին ժամանակներս բժշկության և դեղագործության մեջ մեծ հետաքրքրություն են առաջացրել հատկապես օրգանիզմի համար օտարածին բնույթի միացությունները, որոնց շարքում առանձնահատուկ նշանակություն են ձեռք բերելոչ սպիտակուցային ամինաթթուները և պեպտիդները: Դրանք, որպես ֆերմենտների ոչ դարձելի արգելակիչներ, հանդիսանում են բազմաթիվ ժամանակակից հակաքաղցկեղային, հակավիրուսային և այլ ազդեցության դեղապատրաստուկների կարևոր դեղաբանորեն ակտիվ ազդիկոնը: Այսօր առավել ուշադրության են արժանի իզոտոպով ( $^{11}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ ) նիշադրված ամինաթթուները, որոնք հաջողությամբ կիրառվում են բժշկական ախտորոշման ամենաժամանակակից բնագավառում՝ պոզիտրոնային էմիսիոն տոմոգրաֆիայում (ՊԷՏ) որպես ռադիոդեղապատրաստուկներ: Հատկապես կարևոր է նրանց դերը զարգացման ամենավաղաժամ փուլում գտնվող քաղցկեղային բջիջների և չարորակ գոյացումների ախտորոշման գործընթացներում: Հատկանշական է, որ նշված միացությունները պիտանի են բժշկության և դեղագործության մեջ կիրառելու համար միայն օպտիկապես ակտիվ իզոմերների տեսքով, քանի որ դեղաբանորեն ակտիվ պատրաստուկի օպտիկական անտիպոդը, որպես կանոն, ցուցաբերում է բացասական դեղաբանական ազդեցություն: Գրեթե դա է հիմնական պատճառը, որ նշված միացությունների արտադրական պրակտիկայում գերիշխում են կենսատեխնոլոգիաները և ասիմետրիկ սինթեզի մեթոդները:

Անշուշտ, բժշկության և դեղագործության, գյուղատնտեսության և սննդարդյունաբերության բնագավառներում աշխատող մասնագետների համար խիստ անհրաժեշտ է բնական միացությունների, հատկապես սպիտակուցների և նրանց կոմպլեքսների ու բաղադրիչների քիմիայի խորը իմացությունը, ինչին և նպատակաուղղված է սույն դասագիրքը: Նման դասագրքի հրատապությունը պայմանավորված է նաև ամինաթթուների, պեպտիդների, սպիտակուցների և այլ բնական միացությունների քիմիային և կենսաքիմիային մվիրված հայերենով տպագրական նյութերի բացակայությամբ:

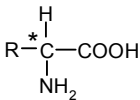
Դասագրքի հիմքում դրված են հեղինակի կողմից ԵՊՀ դեղագիտության և քիմիայի ֆակուլտետում դասավանդվող «Բնական միացությունների քիմիա» առարկայի դասախոսությունների հիմնական դրույթները: Դասագիրքը նախատեսված է Երևանի պետական համալսարանի, Երևանի Մխիթար Հերացու անվան պետական բժշկական համալսարանի, Հայաստանի ազգային ագրարային համալսարանի, Հայաստանի պետական ճարտարագիտական համալսարանի (պոլիտեխնիկ) և հանրապետության այլ պետական ու ոչ պետական բուհերի ուսանողների, մագիստրոսների և ասպիրանտների համար: Այն կազմված է երեք հիմնական գլուխներից ու ներառում է ռուսական և արտասահմանյան տպագրության որոշ գրքերի, մենագրությունների և գիտական հոդվածների դրույթները:

# ԲԱԺԻՆ I ԱՄԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐ

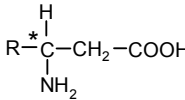
## Գլուխ 1. Ամինաթթուների բնութագրական հատկանիշները

### 1.1. Գ-ասակարգումը

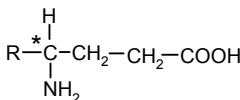
Ամինաթթուները կենսաբանորեն ակտիվ օրգանական միացություններ են, որոնք կազմված են  $\text{NH}_2$  և  $\text{COOH}$  ֆունկցիոնալ խմբերից և  $\text{R}$  ռադիկալից: Կախված  $\text{NH}_2$  խմբի դիրքից՝ ամինաթթուները դասակարգվում են  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - և  $\omega$ -ամինաթթուների:  $\alpha$ -ամինաթթուները կարելի է դիտարկել որպես կարբոնաթթուների ածանցյալներ, որոնց մոտ  $\alpha$ -ածխածնի ատոմին կից ջրածնի ատոմներից մեկը տեղակալված է  $\text{NH}_2$  խմբով:



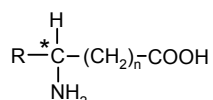
$\alpha$ -ամինաթթու



$\beta$ -ամինաթթու



$\gamma$ -ամինաթթու



$\omega$ -ամինաթթու

Ամինաթթուների համար տարածված է սովորական անվանակարգումը, և յուրաքանչյուր ամինաթթվի անվանումը ծագել է սպիտակուցային հիդրոլիզատներից նրա անջատման և հայտնաբերման գործընթացում: Չնայած այն հանգամանքին, որ առաջին անգամ գլիցին ամինաթթուն անջատվել է Բրակնոնյի կողմից ժելատինի թթվային հիդրոլիզատից դեռևս 1820 թվականին, սպիտակուցի լրիվ ամինաթթվային բաղադրությունը որոշվել է միայն XX դարի 30-ական թվականներին: Թթվային, հիմնային և ֆերմենտային հիդրոլիզի միջոցով հաջողվել էր միկրոխառնուրդներ չպարունակող մաքուր սպիտակուցի հիդրոլիզման արգասիքներից անջատել 20 ամինաթթու: Միաժամանակ տարբեր կենդանական և բուսական հյուս-

վածքներում, մանրէներում և բակտերիաներում հայտնաբերել էին բազմաթիվ այլ ամինաթթուներ՝ ազատ կամ տարբեր օրգանական միացությունների հետ կապված վիճակում:

Ըստ ծագման, կառուցվածքի և ֆունկցիաների՝ ամինաթթուները ստորաբաժանվում են բնական և ոչ բնական, սպիտակուցային և ոչ սպիտակուցային ամինաթթուների: Սպիտակուցների կազմում հայտնաբերված են հիմնականում հետևյալ ամինաթթուները՝ գլիցին, ալանին, լեյցին, իզոլեյցին, վալին, պրովին, ֆենիլալանին, թիրոզին, արգինին, տրիպտոֆան, ցիստեին, լիզին, ասպարազին, գլուտամին, ասպարազինաթթու, գլուտամինաթթու, մեթիոնին, սերին, թրեոնին, հիստիդին (առանձնացված են անփոխարինելի ամինաթթուները): Ինչպես նշված սպիտակուցային ամինաթթուների, այնպես էլ բնության մեջ տարածված բազմաթիվ ոչ սպիտակուցային ամինաթթուների համար բնորոշ է ամֆոտերությունը, քանի որ դրանցից յուրաքանչյուրը պարունակում է առնվազն մեկ թթվային և մեկ հիմնային խմբեր: Բացառություն են կազմում պրովինը և նրա ածանցյալ հիդրօքսիպրովինը, որոնք իմինաթթուներ են:

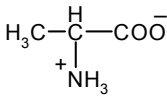
Ամինաթթուների դասակարգման համար կան մի շարք համակարգեր, օրինակ՝ ամինաթթուները դասակարգվում են արոմատիկ և ալիֆատիկ, ծծումբ և հիդրօքսիլային խումբ պարունակող, չեզոք և լիցքավորված ամինաթթուների: Սակայն առավել կիրառություն է գտել դասակարգումն ըստ R խմբի բևեռայնության՝  $pH=6-7$  մարզում, որը համապատասխանում է ներքջային պայմաններին: Համաձայն այդ դասակարգման՝ սպիտակուցային ամինաթթուները ստորաբաժանվում են չորս հիմնական խմբերի.

- չբևեռացված կամ հիդրոֆոբ R խմբերով ամինաթթուներ,
- բևեռացված, սակայն չլիցքավորված R խմբերով ամինաթթուներ,
- դրական լիցքավորված R խմբերով կամ հիմնային ամինաթթուներ,
- բացասական լիցքավորված R խմբերով կամ թթվային ամինաթթուներ:

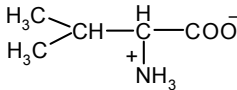


### **Չբևեռացված կամ հիդրոֆոր R խմբերով ամինաթթուներ**

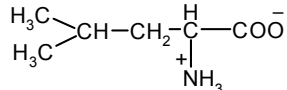
Այդ խմբին են պատկանում ալիֆատիկ ածխաջրածնային R խմբով չորս ամինաթթուներ (ալանին, վալին, լեյցին և իզոլեյցին), արոմատիկ ածխաջրածնային R խմբով երկու ամինաթթուներ (ֆենիլալանին և տրիպտոֆան), հետերոցիկլիկ R խմբով մեկ ամինաթթու (պրովին) և ծծումբ պարունակող R խմբով մեկ ամինաթթու (մետիոնին)։ Այդ ամինաթթուներին բնորոշ է ցածր լուծելիությունը՝ ջրում՝ համեմատած բևեռացված ամինաթթուների հետ։ Հիդրոֆորությունը համեմատաբար ավելի թույլ է արտահայտված ալանինի մոտ։



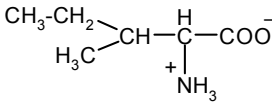
Ալանին, Ala



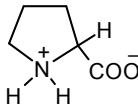
Վալին, Val



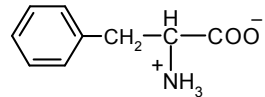
Լեյցին, Leu



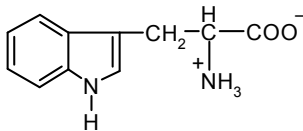
Իզոլեյցին, Ileu



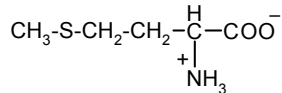
Պրովին, Pro



Ֆենիլալանին, Phe



Տրիպտոֆան, Try



Մետիոնին, Met

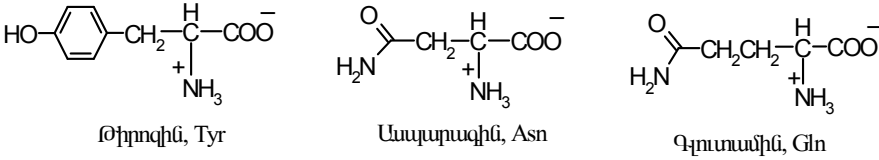
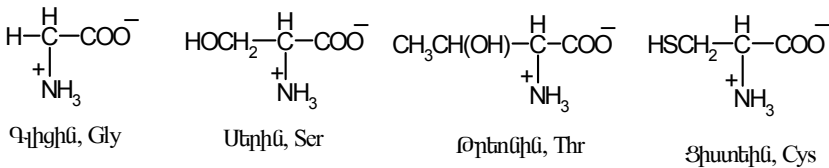
### **Բևեռացված, սակայն չլիցքավորված R խմբերով ամինաթթուներ**

Այդ ամինաթթուներն ավելի լավ են լուծվում ջրում, քան հիդրոֆոր ամինաթթուները, քանի որ նրանց բևեռացված խմբերը ընդունակ են ջրի մոլեկուլի հետ առաջացնելու ջրածնական կապեր։

Սերինի, թրեոնինի և թիրոզինի բևեռայնությունը պայմանավորված է նրանց R մնացորդում առկա OH խմբով, ասպարագինի և գլուտամինի բևեռայնությունը՝ ամիդային խմբով, իսկ ցիստեինի բևե-

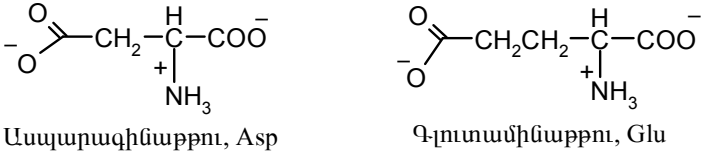
ռայնությունը՝ SH խմբով: Գլիցինը դժվար է դասել որևէ խմբի, քանի որ նրա R խումբը համարվում է ջրածնի ատոմ, որը բավականին թույլ տեղակալիչ է  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> և  $\alpha$ -COOH խմբերի բևեռայնության վրա ազդելու համար: Սակայն ավելի հաճախ այն դասվում է բևեռացված ամինաթթուների խմբին:

Ֆիստեինը և թիրոզինը կողքային ռադիկալում պարունակում են առավել բևեռացված համապատասխանաբար թիոլային և ֆենոլային հիդրօքսիլային խմբեր: Չնայած այդ խմբերն ավելի հեշտ են պրոտոն տալիս, քան մյուս ամինաթթուների ռադիկալի խմբերը, այդ ամինաթթուները pH=7 պայմաններում թույլ իոնացված են:



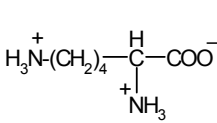
**Բացասական լիցքավորված R խմբերով կամ քրվային ամինաթթուներ**

Այդ խմբին են պատկանում ասպարազինաթթուն և գլուտամինաթթուն, որոնք կողքային ռադիկալում պարունակում են լրացուցիչ COOH խումբ: Դրանք pH-ի ֆիզիոլոգիական արժեքների պայմաններում կրում են գունարային բացասական լիցք:

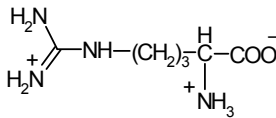


**Դրական լիցքավորված R խմբերով կամ հիմնային ամինաթթուներ**

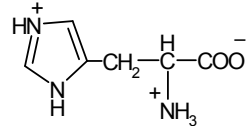
Հիմնային ամինաթթուների խմբին են պատկանում այն ամինաթթուները, որոնց կողքային ռադիկալը  $pH=7$  պայմաններում կրում է գունարային դրական լիցք: Դրանց թվին են պատկանում լիզինը, որի ռադիկալի  $\epsilon$ -դիրքում բաշխված է լրացուցիչ  $NH_2$  խումբը, արգինինը, որը ռադիկալում պարունակում է դրական լիցքավորված գուանիդինային խումբ, և հիստիդինը, որի կողքային ռադիկալը հանդիսանում է համեմատաբար ավելի թույլ հիմնային իմիդազոլային խումբը ( $pH=6,0$  արժեքի դեպքում դրական լիցք են կրում հիստիդինի մոլեկուլների  $\sim 50\%$ -ի ռադիկալի խմբերը, իսկ  $pH=7.0$ -ի տակ՝ ընդամենը  $10\%$ ):



Լիզին, Lys



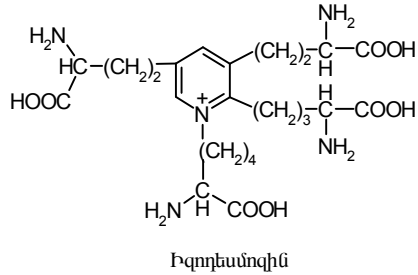
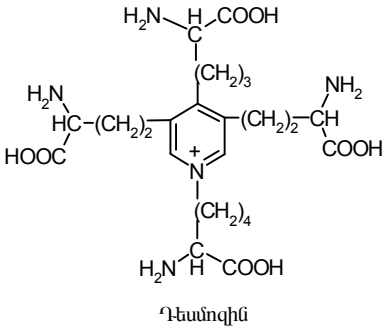
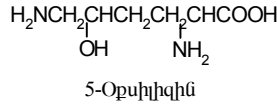
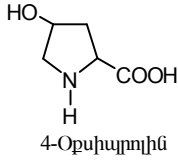
Արգինին, Arg



Հիստիդին, His

Բացի հիմնական 20 ամինաթթուներից՝ որոշ սպիտակուցների հիդրոլիզատներից հաջողվել է անջատել նաև այլ ամինաթթուներ, որոնք ըստ կառուցվածքի հանդիսանում են հիմնական ամինաթթուների ածանցյալներ: Օրինակ՝ ֆիբրիլային սպիտակուց կոլագենի և որոշ բուսական ծագում ունեցող սպիտակուցների հիդրոլիզատներից անջատվել են 4-հիդրօքսիպրովին և 5-հիդրօքսիլիզին:

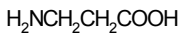
Դեամոզինը և իզոդեամոզինը հայտնաբերված են միայն ֆիբրիլային սպիտակուց էլաստինի հիդրոլիզատում: Դրանք ոչ սովորական կառուցվածքով ամինաթթուներ են՝ կազմված լիզինի չորս մնացորդներից, որոնք, կապվելով իրար հետ իրենց R խմբերի հաշվին, առաջացնում են պիրիդինային օղակ: Հավանաբար, շնորհիվ մնան կառուցվածքի, դեամոզինը և իզոդեամոզինը ընդունակ են առաջացնելու չորս պեպտիդային կապեր, ինչի շնորհիվ էլաստինը, ի տարբերություն մյուս ֆիբրիլային սպիտակուցների, ընդունակ է ձգվելու երկու ուղղություններով:



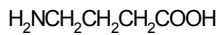
Բացի 20 հիմնական և հազվագյուտ հանդիպող սպիտակուցային ամինաթթուներից՝ հայտնի են բազմաթիվ ոչ սպիտակուցային ամինաթթուներ, որոնք կամ բնական ծագման են, կամ ստացված են սինթետիկ եղանակով: Ներկայումս տարբեր բջիջներում ու հյուսվածքներում հայտնաբերված են ավելի քան 700 ոչ սպիտակուցային ամինաթթուներ: Ոչ սպիտակուցային են համարվում այն ամինաթթուները, որոնք չունեն սեփական փոխադրող ՌՆԹ և կոդային տրիպլետը և չեն կարող հայտնվել սպիտակուցների պոլիպեպտիդային շղթայում հետտրանսլյացիոն մոդիֆիկացման ճանապարհով: Դրանք հիմնականում սպիտակուցային ամինաթթուների ածանցյալներն են, որոնք կողքային ռադիկալում պարունակում են տարբեր տեղակալիչներ կամ ունեն *D*-բացարձակ կոնֆիգուրացիա:

Որոշ ոչ սպիտակուցային ամինաթթուներ, որպես միջանկյալ միացություններ կամ նախորդներ, կարևոր դեր են խաղում նյութափոխանակության պրոցեսներում: Օրինակ՝  $\beta$ -ալանինը մտնում է վիտամին պանտոտենաթթվի կազմի մեջ, օրնիթինը և ցիտրուլինը արգինինի սինթեզի միջանկյալ միացություններ են,  $\gamma$ -ամինակարագա-

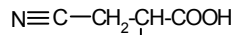
թթուն հանդիսանում է հայտնի արգելակիչ նեյրոսինապսների նեյ-  
րոտրանամիտրը և այլն:



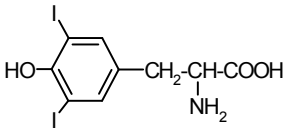
β-ալանին



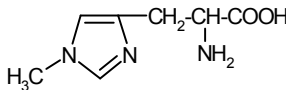
γ-ամինակարագաթթու



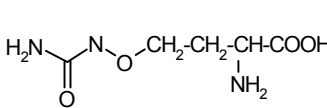
$\text{NH}_2$   
β-ցիանալանին



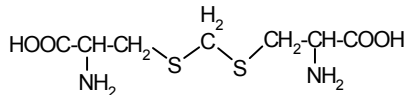
3,5-դիյոդթիրոզին



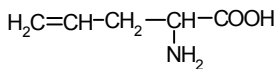
3-մեթիլհիստիդին



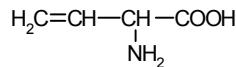
Կամավանին



Դիենկուլաթթու



$\text{NH}_2$   
Ալիզիցին



$\text{NH}_2$   
Վինիզիցին

Հատկանշական է, որ սնկային և բուսական ծագում ունեցող ամինաթթուները տարբերվում են կառուցվածքային բազմազանու-  
թյամբ: Դրանցից որոշները, օրինակ՝ կամավանինը, դիենկուլաթթուն,  
β-ցիանալանինը, թունավոր միացություններ են:

## 1.2. Ամինաթթուների կենսաբանական հատկությունները

Ամինաթթուները լայն կիրառություն են գտել բժշկության, դեղա-  
գործության, գյուղատնտեսության, սննդարդյունաբերության և ժո-  
ղովրդական տնտեսության այլ բնագավառներում: Նրանք համար-  
վում են սպիտակուցների կառուցվածքային բաղադրամասեր և կեն-  
սական կարևոր դեր են խաղում օրգանիզմում:

Դիարեայով, ինչպես նաև բարձր ջերմությամբ ուղեկցվող վա-  
րակիչ հիվանդությունների ժամանակ օրգանիզմում սպիտակուցա-

յին անբավարարություն է սկսվում, որն իր հերթին բերում է հիվանդության խորացմանը և օրգանիզմում ազոտի հաշվեկշռի խախտմանը: Նման երևույթներ նկատվում են նաև ոչ վարակիչ բնույթի երկարատև փորլուծության, ստամոքսային հիպոտրոֆիայի, խրոնիկական գաստրիտի, այրվածքների, վնասվածքների և այլ հիվանդությունների դեպքում: Նման վիճակներում անհրաժեշտ է օրգանիզմը ներմուծել ամինաթթուներ, որոնք նվազեցնում են սպիտակուցների կորստի բացասական ազդեցությունն օրգանիզմի վրա: Դրանք անհրաժեշտ են ֆերմենտների, վիտամինների, հորմոնների, իմունոգլոբուլինների և օրգանիզմի համար կարևոր այլ կենսապոլիմերների սինթեզի համար: Ամինաթթուները հատկապես կարևոր են սպիտակուցային անբավարարվածության պատճառով խանգարված ֆունկցիաներով երեխաների նորմալ աճի, մարզիկների մկանային համակարգի ամրապնդման և ակտիվացման համար: Աղյուսակ 1-ում բերված է կարևոր ամինաթթուների նկատմամբ մարդու նվազագույն պահանջարկը մարմնի միավոր քաշի հաշվարկով:

Օրթոմոլեկուլային բժշկության բնագավառում ամինաթթուները կիրառվում են ոչ միայն օրգանիզմում նրանց պակասը լրացնելու համար, այլև ակտիվ դեղաբանական ազդեցության նպատակով որպես նյութափոխանակային ֆարմակոթերապիայի միջոցներ: Օրինակ՝ մեթիոնինը օգտագործվում է լյարդի ճարպակալման վերացման համար, մեթիոնինի և ցիստեինի խառնուրդը՝ տարբեր միացություններով թունավորված մարդկանց թունազրկման համար, գլիցինի և գլուտամինի խառնուրդը՝ ստամոքսի և աղիքային խոցի բուժման համար, գլիցինի և գլուտամինաթթվի խառնուրդը՝ ստամոքսահյութի թթվայնության կարգավորման համար և այլն: Գլուտամինը, շնորհիվ ակտիվ ամիդային խմբի, մասնակցում է մարտդական օրգանների թաղանթների վերականգնմանը և համարվում է աղեստամոքսային խոցերի առաջացումը կանխող և թերապևտիկ ազդակ, իսկ ացետիլցիստեինը կիրառվում է թոքերի և շնչառական ուղիների հիվանդությունների բուժման նպատակով, օրինակ՝ տրախեոբրոնխիալ արտազատման կարգավորման համար և այլն:

Ամինաթթուների նկատմամբ մարդու նվազագույն պահանջարկը  
(մգ/կգ քաշ/1 օր)

Ամինաթթու	Նվազագույն պահանջը		
	երեխաներ	տղամարդիկ	կանայք
Վալին	93	10.8	9.2
Լեյցին	59	9.8	14.1
Իզոլեյցին	90	14.4	8.2
Լիզին	90	12.8	8.3
Մեթիոնին	85	13.2	5.2
Թրեոնին	87	7.5	3.5
Տրիպտոֆան	30	4.0	4.0
Ֆենիլալանին	90	14.3	8.1
Թիրոզին	45	15.9	15.6
Արգինին	90	1.8	1.8
Հիստիդին	78	0.9	0.9

Ստորև ներկայացված են ամինաթթուների կենսաբանական և դեղաբանական ազդեցության վերաբերյալ որոշ տեղեկություններ:

**Ալանին:** Նպաստում է գլյուկոզի նյութափոխանակությանը, մասնակցում է արյան մեջ շաքարի պարունակության կարգավորմանը, խթանում է ինսուլինի արտադրությունը ենթաստամոքսային β-բջջիչների կողմից, ինչի շնորհիվ այն օգտագործվում է որպես հիպոգլիկեմիկ միջոց շաքարախտի բուժման ժամանակ, օգտագործվում է որպես ուղեղի մկանային բջջիչների էներգիայի աղբյուր, նպաստում է վնասվածքներից հետո հյուսվածքների վերականգնմանը, մասնակցում է հակամարմինների սինթեզին:

**Ասպարազինաթթու:** Օրգանիզմում մասնակցում է պուրինային և պիրիմիդինային նուկլեոտիդների, միզանյութի, β-ալանինի և մի շարք այլ միացությունների կենսասինթեզին: Դրական ազդեցություն է թողնում լյարդի հիվանդությունների, երիկամային անբավարարության, ինչպես նաև մտավոր հոգնածության ժամանակ օգտագործելիս: Ապացուցված է, որ ասպարազինաթթուն խթանում է իմունային համակարգի ակտիվությունը: Նրա կալիումական և մագնեզիումական աղերը (ասպարկամ և պանանգին) կիրառվում են սիրտանո-

թային հիվանդությունների, արյան շրջանառության խանգարման, ինչպես նաև շաքարախտի բուժման ժամանակ:

**Ասպարազին:** Խթանում է իմունոգլոբուլինների կենսասինթեզը և բարձրացնում է օրգանիզմի դիմադրողականությունը: Արդյունավետ միջոց է ներոզների բուժման ժամանակ:

**Գլուտամինաթթու:** Բջջներում կապում է ամոնիակին և վերածվում է գլուտամինի՝ չեզոքացնելով նրա թունավոր ազդեցությունը: Որոշիչ տեղ է զբաղեցնում ամինաթթվային փոխանակության պրոցեսներում, մասնակցում է գրեթե բոլոր ամինաթթուների տրանսամինացման և դեզամինացման պրոցեսներին: Գլուտամինաթթվի դեկարբօքսիլացման արդյունքում առաջանում է  $\gamma$ -ամինակարագաթթու, որն արգելակիչ սինապսների ակտիվ նեյրոմեդիատոր է: Այն մտնում է գլուտատինոնի, ֆոլեաթթվի և մի շարք այլ կարևոր կենսապատրաստուկների կառուցվածքի մեջ: Բարենպաստ ազդեցություն է թողնում հոգնածության վերացման, մկանային համակարգի ամրապնդման, աճի հորմոնի արտադրության խթանման, արյան մեջ շաքարի մակարդակի բարձրացման գործընթացներում: Գլուտամինաթթուն ակտիվ նեյրոմեդիատոր է և օժտված է նյարդային համակարգի գրգռիչ ազդեցությամբ: Կիրառվում է էպիլեպսիայի, մկանային դիստրոֆիայի, խոցային հիվանդությունների, ինչպես նաև ներոլոգիական թերապևտիկ և վիրաբուժական կլինիկաներում տարբեր պաթոլոգիական խախտումների բուժման ժամանակ:

**Գլիցին:** Մասնակցում է կրեատինի, պորֆիրինների, սերինի, լեղաթթուների աղերի կենսասինթեզի և այլ կարևոր փոխանակային պրոցեսներին: Այն արգելակիչ սինապսների ակտիվ նեյրոմեդիատոր է, մասնակցում է իմունոգլոբուլինների կենսասինթեզին, խթանում ոսկրային հյուսվածքի աճը, բարելավում է մկանային կծկումները: Գլիցինը բարենպաստ ազդեցություն է թողնում ստամոքսահյութի թթվայնության բարձրացման, շագանակագեղձի հիպերտրոֆիայի, միաստենիայի, մկանային դիստրոֆիայի, խրոնիկական ակոհոլիզմի և քնի խախտման ժամանակ օգտագործելիս: Ապացուցված է, որ այն արյան ճնշումը կարգավորող դրական միջոց է:



**Գլուտամին:** Օրգանիզմում գլուտամինը սինթեզվում է գլուտամինաթթվից և ամոնիակից՝ վնասագերծելով վերջինս՝ որպես ցիտուլլազմատիկ թույն: Լինելով ջրալուծ միացություն՝ այն արյան միջոցով տարածվում է դեպի օրգանիզմի բոլոր հյուսվածքներն ու օրգանները, որտեղ անհրաժեշտության դեպքում կարող է տրոհվել գլուտամինաթթվի ու ամոնիակի: Այն մասնակցում է օրգանիզմի համար մի շարք կարևոր միացությունների (նուկլեինաթթուների, հեքսոզամինների, հիատիդինի և այլն) կենսասինթեզի պրոցեսներին: Գլուտամինը դրական ազդեցություն է թողնում մկանային դիստրոֆիաների, չարորակ ուռուցքների, ՉԻԱՀ-ի, արտրիտների, աղեստամոքսային տրակտի խանգարումների, պոլիոմիելիտի, սկլերոդերմիայի, էպիլեպսիայի, շիզոֆրենիայի և մի շարք այլ ախտաբանական պրոցեսների դեպքում օգտագործելիս:

**Օրնիթին:** Օրգանիզմում առաջանում է արգինինից, մասնակցում է ամոնիակի չեզոքացման այսպես կոչված օրնիթինային ցիկլին, որի էությունը կայանում է լյարդում ամոնիակի ներգրավմանը միզանյութի կենսասինթեզի գործընթացների մեջ: Այդ ընթացքում օրնիթինից նախ սինթեզվում է ցիտրուլին, որն այնուհետև վերածվում է արգինինի, իսկ վերջինս հիդրոլիզվում է օրնիթինի և միզանյութի: Օրնիթինից առաջանում են նաև պրոլին, գլուտամինաթթու և պոլիսամիններ: Այն բարենպաստ ազդեցություն է թողնում ազոտեմիայի ժամանակ կիրառելիս, խթանում է աճի հորմոնի արտադրությունը: Օրնիթինը կիրառվում է նաև շիզոֆրենիայի, մկանային հոգնածության և այլ պաթոլոգիաների բուժման ժամանակ, զգալիորեն ակտիվացնում է իմունային համակարգը:

**Պրոլին:** Բջջջներում առաջանում է արգինինից և գլուտամինաթթվից: Այն բարելավում է մաշկի կառուցվածքը, խթանում է կոլագենի արտադրությունը, վիտամին C-ի առկայությամբ նպաստում է վերքերի բուժմանը, մասնակցում է էներգիայի արտադրման պրոցեսներին: Համարվելով կոլագենի հիմնական կառուցվածքային բաղադրամաս՝ պրոլինը նպաստում է կռճիկների բուժմանը, հողային միացությունների և կապանների ամրացմանը:

**Սերին:** Մասնակցում է պուրինային և պիրիմիդինային նուկլեոտիդների, ինչպես նաև գլիցինի և ցիտեինի կենսասինթեզին: Անհրաժեշտ է ճարպերի և ճարպաթթուների լիարժեք փոխանակման և առողջ իմունային համակարգի պահպանման համար, մասնակցում է հակամարմինների և իմունոգլոբուլինների արտադրության պրոցեսներին: Սերինը մտնում է որոշ ֆոսֆոլիպիդների կազմի մեջ, որոնք բջջային թաղանթների կարևոր բաղադրամասեր են: Այն անհրաժեշտ է մկանային աճի և կրեատինի առաջացման համար, մասնակցում է բջջային էներգիայի, ացետիլխոլինի և գլիկոգենի արտադրության գործընթացներին: Սերինը մտնում է մի շարք կոսմետիկական պատրաստուկների բաղադրության մեջ:

**Ֆենիլալանին և քիրոզին:** Ֆենիլալանինը անփոխարինելի ամինաթթու է, որը, օրգանիզմում ենթարկվելով հիդրօքսիլման, վերածվում է թիրոզինի: Թիրոզինից սինթեզվում են վահանաձև գեղձի հորմոնները (թիրոքսին), կատեխոլամինները (դոֆամին, նորադրենալին, ադրենալին) և մելանինը (օրգանիզմի հիմնական պիգմենտը): Կատեխոլամինները նեյրոտրանսմիտորներ են: Ֆենիլալանինի թիրոզինի անբավարար քանակությունը սննդում բերում է վերոհիշյալ հորմոնները, նեյրոտրանսմիտորները և պիգմենտները սինթեզող օրգանների (վահանաձև գեղձ, մակերիկամ) ֆունկցիաների խախտման: Դրանք կիրառվում են դեպրեսիաների, անքնության, գլխացավի, Պարկինսոնի հիվանդության, նարկոլեպսիայի, մենինգիտի, շիզոֆրենիայի, հիշողության և աշխատունակության անկման և մի շարք այլ ախտաբանական վիճակների դեպքում: Ֆենիլկետոնուրիայի ժամանակ հիվանդները պետք է ընդունեն մեծ քանակությամբ թիրոզին:

**Ցիտրեին և ցիտրին:** Դրանք ծծումբ պարունակող ամինաթթուներ են, որոնք կարևոր դեր են խաղում օրգանիզմի թունազրկման ժամանակ: Ցիտրինը մազերի, եղունգների և մաշկի սպիտակուցների կարևոր բաղադրամասերից է: Այն ամրապնդում է իմունային համակարգը, արագացնում է վերքերի բուժումը, նպաստում է գլխուղեղի աշխատանքին, կիրառվում է ռևմատոիդային արտրիտի ժամանակ: Օրգանիզմում ցիտեինը սինթեզվում է մեթիոնինից առաջացած հո-

մոցիստեինից և սերինից վիտամին B<sub>6</sub>-ի ներկայությամբ: Ցիստեինից գոյանում է տաուրին, որը մասնակցում է լեղաքթոնների աղերի առաջացման գործընթացներին: Ցիստեինի օքսիդացման և դեկարբօքսիլացման արդյունքում կարող են առաջանալ որոշ թունավոր նյութեր (ֆենոլ, կրեզոլ, ինդոլ, սկատոլ և այլն): Ցիստեինը ունի հակաօքսիդանտային ազդեցություն, այն պաշտպանում է լյարդը ճարպակալումից, նպաստում է իմունային համակարգի ակտիվացմանը և վերքերի լավացմանը, կիրառվում է տարբեր թոքային հիվանդությունների (բրոնխիտ, էմֆիզեմա, տուբերկուլյոզ) բուժման ժամանակ: Ցիստեինը մտնում է ինսուլինի բաղադրության մեջ, որը բաղկացած է երկու պոլիպեպտիդային շղթաներից (20 և 31 ամինաթթվային մնացորդներով), որոնք միացած են երկու դիսուլֆիդային կապերով (-S-S-): Այդ կապերը գոյանում են տարածապես իրարմոտ բաշխված ցիստեինի երկու մնացորդների դեհիդրոգենացման արդյունքում, ինչը բերում է ցիստինի առաջացման: Ցիստեինը կապում է մետաղների իոններին, ակտիվացնում է լեյկոցիտներին, կարգավորում շաքարի մակարդակը արյան մեջ, բարձրացնում է իմունային համակարգի ակտիվությունը:

Ցիստեինը կիրառվում է նաև բազմաթիվ այլ հիվանդությունների բուժման և հետբուժական շրջանում: Մասնավորապես այն բարենպաստ ազդեցություն է թողնում չարորակ ուռուցքների քիմիաթերապիայի և ճառագայթային թերապիայի անցկացման շրջանում, այրվածքների բուժման և այլ ախտաբանական պրոցեսների ժամանակ:

**Վալին:** Բարձր կոնցենտրացիայով պարունակվում է մկանային հյուսվածքներում և անհրաժեշտ է մկանների նորմալ մետաբոլիզմի համար: Վալինը մասնակցում է գլիկոգենի առաջացմանը և պահեստավորմանը, կարևոր դեր է կատարում մկանային բջիջների վերականգնման և մկանային հյուսվածքներում ազոտի հաշվեկշռի պահպանման գործընթացներում, մկանային հյուսվածքների կողմից օգտագործվում է որպես էներգիայի աղբյուր: Այն կիրառվում է թնրամոլների, ակլոնոլիզմով տառապողների բուժման և Սենկեսի համախտանիշի (վալինիլեյցինուրիա) ժամանակ, խթանում է մտավոր գործունեությունը և ակտիվությունը:

**Իզոլեյցիան:** Մեծ քանակությամբ պարունակվում է մկանային հյուսվածքներում, նպաստում է հեմոգլոբինի սինթեզին, կարգավորում է շաքարի պարունակությունը արյան մեջ, հանդիսանում է մկանային հյուսվածքների էներգիայի հիմնական աղբյուրներից մեկը: Սննդում իզոլեյցինի անբավարարությունը կարող է բերել հիպոգլիկեմիայի և ազոտային բացասական բալանսի:

**Լեյցին:** Բարձր կոնցենտրացիայով պարունակվում է մկանային հյուսվածքներում, մասնակցում է ազոտային բալանսի պահպանմանը, կետոգենիկ է, ակտիվացնում է էնդոկրինային համակարգը և նպաստում է աճի հորմոնի արտադրմանը: Կիրառվում է լյարդի հիվանդությունների, անեմիայի, ներհտի, մկանային դիստրոֆիայի, պոլիոմիլիտի և որոշ թունավորումների դեպքում:

**Լիզին:** Մասնակցում է ազոտի նորմալ հաշվեկշռի պահպանմանը, նրա պակասը երեխաների և անչափահասների օրգանիզմում բերում է աճի և սպիտակուցների սինթեզի դանդաղեցմանը: Լիզինի անբավարարության դեպքում նկատվում են ոսկորների և մկանների աճի դանդաղեցում, գլխացավ, նանիզմ, սրտխառնոց, լսողության թուլացում: Լիզինը մեծացնում է աշխատունակությունը և հիվանդությունների նկատմամբ օրգանիզմի դիմադրողականությունը, մասնակցում է հակամարմինների, հորմոնների և ֆերմենտների սինթեզին, նպաստում է հյուսվածքների վերականգնմանը: Սննդում նրա անբավարար քանակության դեպքում մարդկանց մոտ նկատվում են ախորժակի անկում, աղմուկի նկատմամբ զգայունության բարձրացում և տարբեր այլ ֆունկցիաների խախտում: Լիզինը նվազեցնում է տրիգլիցերիդների մակարդակը արյան մեջ, ուժեղացնում է վիրուսային հիվանդությունների, հատկապես հերպեսի վիրուսի նկատմամբ իմունիտետը:

**Մեթիոնին:** Անփոխարինելի ամինաթթու է, օրգանիզմում մեթիոնինը վերածվում է S-ադենոզիլմեթիոնինի, որը հանդես է գալիս որպես մեթիլ խմբի դոնոր մի շարք կարևոր միացությունների կենսասինթեզի ժամանակ (ադրենալինի, կրեատինի, լեցիտինի, մեթիլացված պոլիմուկլեոտիդների, մելատոնինի և այլն): Այն անհրաժեշտ է երիտասարդ օրգանիզմի նորմալ զարգացման և օրգանիզմի ազոտի

բալանսի պահպանման համար, նրա անբավարար պարունակությունը սննդում կարող է բերել ճարպակալման, նպաստել լյարդի չարորակ ուռուցքների, անեմիայի, արյունահոսության, մկանային ատրոֆիայի զարգացմանը: Մեթիոնինը մագերին տալիս է փայլ, լավացնում է հիշողությունը, կարգավորում է վահանաձև գեղձի աշխատանքը, նպաստում է հեմոգլոբոլինի սինթեզին: Նրա կիրառումն արդյունավետ ազդեցություն է թողնում աթերոսկլերոզի, լյարդի չարորակ ուռուցքի, գաստրիտի, ստամոքսի և 12-մատնյա աղիքի խոցի, արյունահոսության և մկանային ատրոֆիայի բուժման ժամանակ: Դրական արդյունքներ են արձանագրվել քիմիական նյութերի նկատմամբ ալերգիայի, ռևմատիկ հիվանդությունների և թունավոր հղիության դեպքերում մեթիոնինի կիրառման ժամանակ: Համարվում է հզոր դետոքսիկացնող և հակաօքսիդանտ միջոց: Մեթիոնինը փոքրացնում է հիստամինի քանակը օրգանիզմում, ինչը հնարավորություն է տալիս այն կիրառելու շիզոֆրենիայի, ինչպես նաև օրգանիզմը իոնիզացնող ճառագայթման ենթարկվելու դեպքում:

**Տրիպտոֆան:** Անփոխարինելի ամինաթթու է, օրգանիզմում տրիպտոֆանից սինթեզվում են սերատոնին և մելատոնին: Սերատոնինը մասնակցում է վարքի ձևավորման, ցավի ընկալման, քնի, օրգանիզմի ջերմաստիճանի և արյան ճնշման կարգավորման պրոցեսներին: Օրգանիզմում տրիպտոֆանից կարող է սինթեզվել նաև ՆԱԳ (նիկոտինամիդադենիմոնուկլեոտիդ), որը մի շարք օքսիդավերականգնման ռեակցիաներ կատալիզող ֆերմենտների կոֆերմենտ է: Տրիպտոֆանի քանակության անբավարարությունն օրգանիզմում արտահայտվում է անեմիայով, մագաթափությանը, աչքերի տեսքի յուրահատուկ փոփոխությամբ: Այն արդյունավետ է սթրեսների վերացման, միգրենի և ճարպակալման բուժման ժամանակ, բետաինի և B<sub>1</sub> ու B<sub>6</sub> վիտամինների ներկայությամբ նպաստում է օրգանիզմի վերականգնմանը և քնի բարելավմանը, օգտագործվում է նաև որպես հակադեպրեսանտ: Տրիպտոֆանը նպաստում է մաշկի և մազերի աճին, բարելավում է մարտողությունը, նպաստում է B խմբի վիտամինների ներթափանցմանն աղիներում, բարձրացնում է դիմադրողականությունը սթրեսների նկատմամբ, խթանում է աճի հորմոնի

անջատումը, իջեցնում է արյան մեջ խոլեստերինով հարուստ լիպոպրոտեինների քանակությունը: Տրիպտոֆանը օժտված է անոթները լայնացնող հիպոտենզիվ ակտիվությամբ, նպաստում է մարմնի քաշի կարգավորմանը:

**Արգինին:** Սինթեզվում է մարդու լյարդում ամֆաթբու գազից, ամոնիակից և օրնիթինից՝ չորս ֆերմենտների մասնակցությամբ: Երեխաների և հղի կանանց մոտ սինթեզված արգինինը չի բավարարում օրգանիզմի պահանջները և անհրաժեշտ է սննդի հետ ընդունել այդ ամինաթթվի լրացուցիչ քանակներ: Արգինինից օրգանիզմում սինթեզվում են պրոլին, գլուտամինաթբու, պոլիամիններ, գուանիդինային միացություններ (այդ թվում՝ կրեատին), հիստոններ և NO (նյութափոխանակության կարևոր կարգավորիչ): Այն հանդիսանում է ամոնիակի չեզոքացման հիմնական մեխանիզմի՝ օրնիթինային (միզանյութային) ցիկլի միջանկյալ միացություններից մեկը: Արգինինը խթանում է ինսուլինի արտադրությունը, կարգավորում է արյան մեջ խոլեստերինի և մնացորդային ազոտի մակարդակը, իջեցնում է արյան ճարպերի քանակությունը, կանխում է լյարդի ճարպակալումը, խթանում է աճի հորմոնի արտադրությունը, կարգավորում է օրգանիզմի նորմալ աճը, նպաստում է քոլագենի կենսասինթեզին: Այն օգտագործվում է վերքերի բուժումը խթանելու, սիրտանոթային հիվանդությունների ժամանակ սրտամկանի ֆունկցիոնալ կարողությունները բարելավելու նպատակով: Քանի որ արգինինը խթանում է նաև T-լիմֆոցիտների պրոլիֆերացումը և ընդհանրապես ակտիվացնում է իմունիտետը, այն կարող է կիրառվել նաև այլ ծանր պաթոլոգիական վիճակների ժամանակ:

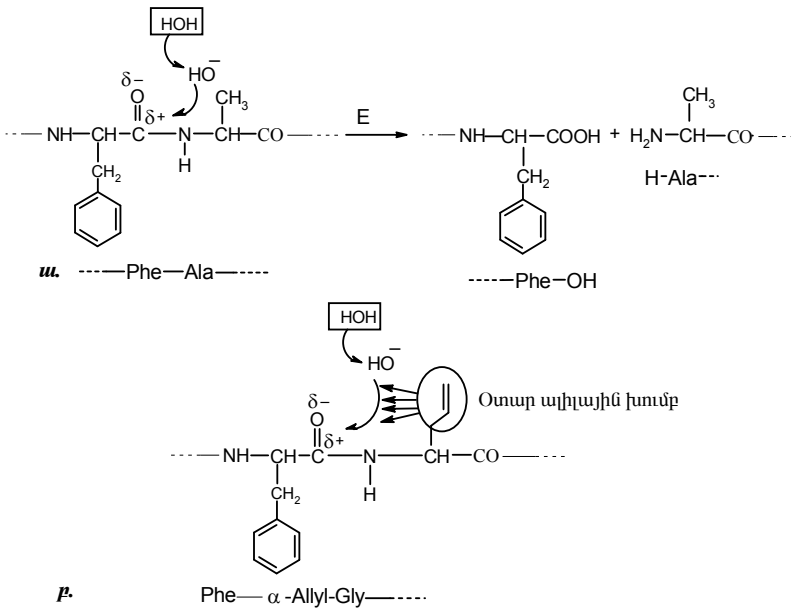
**Հիստիդին:** Անփոխարինելի ամինաթբու է, հիստիդինից օրգանիզմում գոյանում է հիստամին, որն անոթալայնիչ և բրոնխները նեղացող միացություն է: Այն խթանում է ստամոքսում աղաթթվի սեկրեցիան: Ալերգիկ ռեակցիաների ժամանակ գերբջջները արտադրում են հիստամին. գլխուղեղում կան բազմաթիվ հիստամինային ռեցեպտորներ: Հիստիդինը կարգավորում է նուկլեինաթբուների, հեմոգլոբինի և ֆոլաթթվի սինթեզը, կարևոր դեր է խաղում հյուսվածքների աճի և վերականգման պրոցեսներում, անհրաժեշտ է էրիթրոցիտներ

րի և լեյկոցիտների արտադրության համար, ընդունակ է պաշտպանելու օրգանիզմը ճառագայթման, ծանր մետաղների և այլ վնասակար ազդեցություններից, կարող է օգտակար լինել սկզբնական էտապում ՁԻԱՀ-ի կանխման գործընթացներում, նպաստում է լսողական նյարդի նորմալ ֆունկցիային, մասնակցում է սեռական գրգռմանը: Այն  $B_3$  և  $B_4$  վիտամինների հետ համակցած մեխանիզմով կարող է նպաստել սեռական ֆունկցիաների բարելավմանը, արդյունավետ է անեմիայի, արյան շրջանառության հիվանդությունների բուժման ժամանակ, անոթալայնացնող հիպոթենզիվ ազդեցություն է գործում, մտնում է բազմաթիվ հակամանրէային ազդեցության պեպտիդների և այլ դեղերի բաղադրության մեջ, կիրառվում է ատամնաբուժության բնագավառում, օգտագործվում է հիպերտոնիայի ժամանակ պերորալ կամ պարենտերալ ներարկման ճանապարհով:

Ամինաթթուները համարվում են նաև կենսաբանական և դեղաբանական ակտիվ պեպտիդների և այլ դեղապատրաստուկների կարևոր բաղադրամասերը: Բժշկական պրակտիկայում լայն կիրառություն ստացած բազմաթիվ դեղապատրաստուկներ որպես դեղաբանական ակտիվ ազդիկոն (բաղադրամաս) պարունակում են օպտիկապես ակտիվ որևէ ամինաթթու: Այս տեսակետից առավել կարևորություն են ներկայացնում ոչ սպիտակուցային  $\alpha$ -ամինաթթուները և D-ամինաթթուները: Մասնավորապես հայտնի է, որ պեպտիդային բնույթի դեղապատրաստուկի բաղադրության մեջ սպիտակուցային ամինաթթվի փոխարինումը նրա ոչ սպիտակուցային նմանակով բերում է դեղի ազդեցության պրոլոնգացմանը (երկարաձգմանը) և արդյունավետության մեծացմանը: Ըստ լատվիացի կենսաքիմիկոս Չիպենսի տվյալների՝ դեղապատրաստուկի պեպտիդային շղթայում նույնիսկ մեկ ամինաթթվի փոխարինումը նրա ոչ սպիտակուցային նմանակով կարող է բերել մինչև  $10^3$  անգամ դեղամիջոցի ազդեցության երկարաձգմանը: Դա պայմանավորված է նրանով, որ դեղն ընդունելուց հետո, որպես օրգանիզմի համար օտար միացություն, այն անմիջապես ենթարկվում է օրգանիզմի պաշտպանական ֆունկցիաներն ապահովող ֆերմենտային համակարգի դեստրուկտիվ ազդեցությանը: Պեպտիդային կառուցվածքի դեղապատրաստուկների

դեպքում նման ֆունկցիաները մասնավորապես իրականացնում են պրոտեոլիտիկ ֆերմենտները:

Ոչ սպիտակուցային ամինաթթու պարունակող դեղապատրաստուկն օրգանիզմ ներմուծելու դեպքում, շնորհիվ նրա կառուցվածքում առկա ոչ սովորական (օտար) ռադիկալի, դժվարությամբ է ենթարկվում ֆերմենտային համակարգի քայքայիչ ազդեցությանը, ինչը երկարաձգում է օրգանիզմում դեղի գոյատևման և ազդեցության ժամկետը: Նկար 1-ում ներկայացված է պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների ազդեցությամբ ալանինի և ոչ սպիտակուցային ամինաթթու  $\alpha$ -ալիլգլիցինի պարունակությամբ դեղապատրաստուկների պրոտեոլիզի սխեման:



**Նկար 1.** Օրգանիզմում պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների ազդեցությամբ պեպտիդային կառուցվածքի դեղապատրաստուկի պրոտեոլիզի սխեման.  
*ա.* միայն սպիրակուցային ամինաթթուներ պարունակող պեպտիդային շղթա, *բ.* ոչ սպիրակուցային  $\alpha$ -ալիլգլիցին պարունակող պեպտիդային շղթա



Առաջին դեպքում (*ա*) դեղապատրաստուկն օրգանիզմն ներմուծելիս պեպտիդազ ֆերմենտներն անմիջապես գրոհում և ճեղքում են նրա պեպտիդային կապը, իսկ երկրորդ դեպքում (*բ*) ֆերմենտների պեպտիդազային ակտիվությունը ճնշվում է շղթայում օրգանիզմի համար օտար բնույթի ալիլային ռադիկալի առկայության պատճառով, ինչը բերում է պատրաստուկի ազդեցության երկարաձգմանը:

Շնորհիվ նման հատկության՝ այսօր ոչ սպիտակուցային ամինաթթուները հաջողությամբ կիրառվում են հակաքաղցկեղային, հակահիպերտենզիվային և այլ ազդեցության դեղամիջոցների արտադրություններում: Օրինակ՝ *L*- $\alpha$ -մեթիլ-3,4-դիօքսիֆենիլալանինի ներմուծումը *DOPA* դեղապատրաստուկի կազմի մեջ բացառում է Պարկինսոնի հիվանդության բուժման ժամանակ ոչ ցանկալի երկրորդային երևույթները,  $\alpha$ -մեթիլ-*L*-ֆիրոզինը,  $\alpha$ -մեթիլ-*L*-ֆենիլալանինը և  $\alpha$ -մեթիլ-*L*-տրիպտոֆանն օժտված են վառ արտահայտված հակահիպերտոնային ակտիվությամբ,  $\beta$ -ֆտոր-*D*-ալանինը կիրառվում է դաշտային վիրաբուժությունում արյունահոսության արագ կանխման համար, *L*-2-մեթիլ-3,4,5-տրիհիդրօքսիֆենիլալանինը օժտված է ուժեղ հակաքաղցկեղային ակտիվությամբ և այլն:

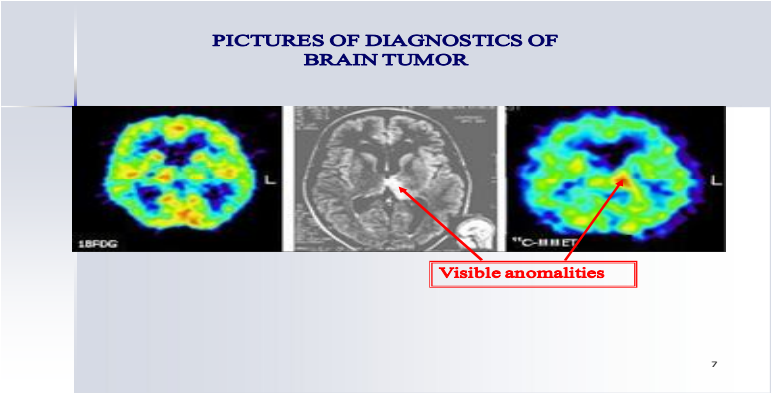
Ոչ սպիտակուցային ամինաթթուները, որպես դեղաբանորեն ակտիվ ազիլոններ, մտնում են նաև զանազան կարևոր դեղապատրաստուկների կառուցվածքի մեջ: Օրինակ՝ հակաքաղցկեղային հակաբիոտիկ *Լեուցինուրային A*-ն պարունակում է *L*- $\alpha$ -դիամինապրոպիոնաթթվի երեք մնացորդ,  $\beta$ -N-ամինատեղակալված  $\alpha$ -ամինաթթուները մտնում են *Տուրետակոլինոմիցին*, *Բլեոմիցին*, *Էդեին*, *Կասպրեոմիցին* և *A-19003* հակաբիոտիկների կառուցվածքի մեջ, *D*-allo-իզոլեյցինի ներմուծումը *Դակլոնոմիցին-D* հակաբիոտիկի կառուցվածքի մեջ վերջինիս հաղորդում է ուժեղ հակաքաղցկեղային ակտիվություն, սինպատոմիմետիկ դեղապատրաստուկ N-կարբօքսիֆենիլպրովիլիզինը համարվում է *Լիզինուրիլ* հակահիպերտոնային դեղամիջոցի կարևոր բաղադրամասը, լիզինի, օքսիպրովինի և *D*-ֆենիլալանինի ածանցյալները մտնում են *Լեուպրոլիդ*, *Օկրոնտեյիդ* և *Թուֆսին* հակաքաղցկեղային պատրաստուկների բաղադ-

րության մեջ, (2L,4L)-4-ֆտորգլուտամինաթթուն հանդիսանում է *Մեթոյրիեքսատ* հակաքաղցկեղային դեղապատրաստուկի դեղաբանորեն ակտիվ ազդիկունը և այլն:

Ոչ սպիտակուցային ամինաթթուները հաջողությամբ կիրառվում են նաև մանրէաբանության մեջ՝ որպես սպիտակուցային ամինաթթուների նմանակներ, վերջիններիս գերբարձր ակտիվությամբ շտամ-արտադրիչների սելեկցման գործընթացներում: Օրինակ՝ S-(2-ամինոտեթիլ)-L-ցիստեինը՝ լիզինի, O-մեթիլ-L-սերինը՝ մեթիոնինի, L-հիդրօքսիլեյցինը՝ լեյցինի և թրեոնինի արդյունավետ նմանակներ են:

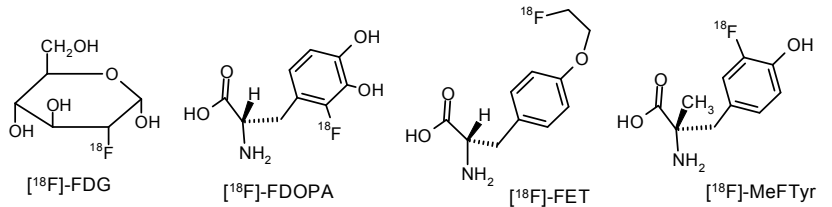
Վերջերս պոզիտրոն ճառագայթող իզոտոպներով նիշադրված ամինաթթուները, որպես ռադիոդեղապատրաստուկներ, մեծ հետաքրքրություն են առաջացրել պոզիտրոնային էմիսիոնային տոմոգրաֆիայում (ՊԷՏ) տարբեր հիվանդությունների, ներառյալ գարգացման վաղաժամ էտապում գտնվող քաղցկեղային բջիջների, արագ և արդյունավետ ախտորոշման համար: Գիտնականներին հաջողվել է պարզել, որ  $^{11}\text{C}$  և  $^{18}\text{F}$  իզոտոպներ կրող օպտիկապես ակտիվ ամինաթթուները, որպես ռադիոտրեյսերներ (ռադիոտեղափոխիչներ), առավել արդյունավետ են որոշ հիվանդությունների ՊԷՏ-ախտորոշման գործընթացներում, քան մինչ այդ ՊԷՏ-ում լայն կիրառություն ստացած  $^{18}\text{F}$  նիշակիր ֆտորդեօքսիգլյուկոզը (FDG), օրինակ՝ գլխուղեղի քաղցկեղի, սրտային և այլ հիվանդությունների ախտորոշման ժամանակ: Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ ռադիոնիշակիր ամինաթթուներն առավել արագ և քանակապես են ներդրվում հիվանդ և վնասված պատերով քաղցկեղային բջիջների մեջ, քան սովորական առողջ բջիջների մեջ: Սակայն ներդրվելով բջջի մեջ՝ նրանք չեն մասնակցում սպիտակուցի հետագա սինթեզին և առաջացնում են պոզիտրոնային կուտակումներ քաղցկեղային բջիջներում, ինչն արձանագրվում է ՊԷՏ-սկանների (պոզիտրոն արձանագրող սարքի) կողմից՝ հստակ բացահայտելով քաղցկեղային նորագոյացումների (կամ բջջային կուտակումների) դիրքը և նրանց տարածվածության աստիճանը: Նկար 2-ում բերված են գլխուղեղի

քաղցկեղային նորագոյացման ՀՏ (համակարգչային տոմոգրաֆիա) և ՊԷՏ պատկերներ:



**Նկար 2.** Գլխուղեղի չարորակ նորագոյացման ՀՏ (կենտրոնում) և ՊԷՏ պատկերները (ձախից՝ որպես ռադիոպատրաստուկ  $^{18}\text{F}$ -FDG, աջից՝  $^{11}\text{C}$ -Met)

Այսօր ստացված են մի շարք  $^{18}\text{F}$  նիշակիր ամինաթթուներ, որոնք, որպես ռադիոդեղապատրաստուկներ, հաջողությամբ կիրառվում են տարբեր հիվանդությունների ՊԷՏ-ախտորոշման գործընթացներում: Դրանցից են  $^{18}\text{F}$  նիշակիր (S)-ֆտորդիօբսիֆենիլալանինը ( $^{18}\text{F}$ -FDOPA), (S)-ֆտորեթիլթիրոզինը ( $^{18}\text{F}$ -FET), (S)-3-ֆտոր- $\alpha$ -մեթիլթիրոզինը ( $^{18}\text{F}$ -MeTyr) և այլն:



Անհրաժեշտ է նշել, որ գրեթե բոլոր նշված բնագավառներում (բժշկություն, դեղագործություն, ՊԷՏ-ախտորոշում և այլն) ամինա-

թթուները պիտանի են կիրառության համար միայն էնանտիոմերապես մաքուր իզոմերների տեսքով: Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ դեղաբանորեն ակտիվ ամինաթթվի օպտիկական անտիպոդը, որպես կանոն, ցուցաբերում է բացասական դեղաբանական ազդեցություն կամ լավագույն դեպքում մնում է չեզոք: Հետևաբար, ամինաթթուների արտադրության համար այսօր հրատապ է այնպիսի մեթոդների ստեղծումը, որոնք կարող են ապահովել վերջնական արգասիքների բարձր օպտիկական մաքրությունը:

Սպիտակուցային ամինաթթուների համար այս խնդիրը վաղուց լուծված է, աշխարհի տարբեր երկրներում իրականացվում են դրանց բազմատոննաժ արտադրությունները՝ հիմնված մանրէաբանական և էնզիմատիկ մեթոդների վրա: Սակայն ոչ սպիտակուցային ամինաթթուների դեպքում խնդիրը դեռևս մնում է հրատապ, քանի որ սուբստրատների ոչ բնական կառուցվածքի պատճառով ամինաթթուների սինթեզի ավանդական մանրէաբանական և էնզիմատիկ մեթոդները արդյունավետ չեն դրանց ստացման համար: Նման կարգի միացությունների արտադրության համար, սկսած 1980-ական թվականներից, աշխարհում բուռն զարգացում է ապրում ասիմետրիկ սինթեզի ուղղությունը (տե՛ս գլուխ 2.5.):

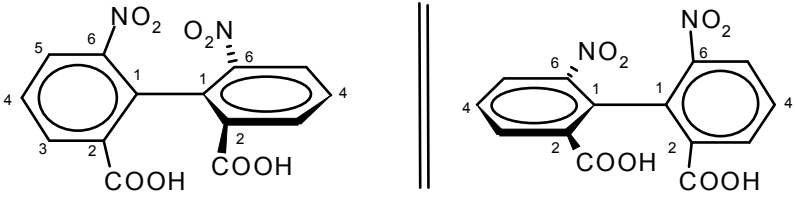
**1.3. Ամինաթթուների ստերեոքիմիան**  
**1.3.1. Բացարձակ կոնֆիգուրացիան**

Ամինաթթուները հիմնականում հանդիսանում են օպտիկապես ակտիվ միացություններ՝ շնորհիվ նրանց կառուցվածքում քիրալային ածխածնի ատոմի առկայության: Բացառությամբ գլիցինի՝ բոլոր սպիտակուցային ամինաթթուները օպտիկապես ակտիվ քիրալային մոլեկուլներ են:

Սակայն քիրալությունը ոչ բոլոր դեպքերում է պայմանավորված մոլեկուլում ասիմետրիկ ատոմի առկայությամբ: Ընդհանուր առմամբ քիրալային են կոչվում այն միացությունները, որոնք չունեն սիմետրիայի հարթություն և, հետևաբար, անհամադրելի են իրենց հայելային արտապատկերման հետ: «Քիրալություն» ասելով հասկացվում

են երկու առարկաներ, որոնցից մեկը մյուսի նկատմամբ գտնվում են այնպես, ինչպես, օրինակ, ձախ և աջ ձեռքերը: Քիրալային միացության լուծույթով բևեռացված լույսի ճառագայթներն անցկացնելիս, կախված մոլեկուլի տարածական կառուցվածքից, լույսի բևեռացման հարթությունը շեղվում է իր ելային դիրքից աջ (ժամացույցի սլաքի ուղղությամբ) կամ ձախ (հակառակ ուղղությամբ): Այստեղից արվել է եզրակացություն, որ քիրալային մոլեկուլները լինում են օպտիկապես ակտիվ իզոմերների տեսքով:

Իրականում քիրալությունը կարող է պայմանավորված լինել ինչպես մոլեկուլում քիրալային կենտրոնների (ասիմետրիկ ատոմների) առկայությամբ, այնպես էլ մոլեկուլի տարածական կառուցվածքով: Օրինակ՝ 6,6'-դինիտրոդիֆենաթթուն չունի քիրալային ատոմ, սակայն նրա տարածական կառուցվածքը այնպիսին է, որ նրա մոլեկուլը կարող է գտնվել երկու իրար անհամադրելի հայելային պատկերների տեսքով (նկար 3):



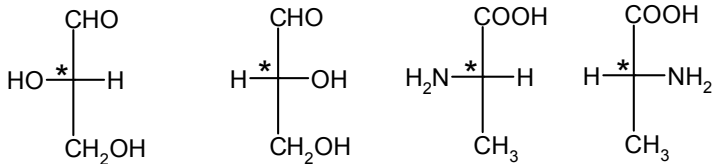
**Նկար 3.** 6,6'-դինիտրոդիֆենաթթվի քիրալային իզոմերների կառուցվածքը

Ամինաթթուների դեպքում քիրալությունը պայմանավորված է մոլեկուլում ասիմետրիկ ածխածնի ատոմների առկայությամբ: Սկզբնական շրջանում ենթադրվել է, որ բևեռացված լույսի հարթության պտտման ուղղությունը բնորոշում է ամինաթթուների բացարձակ կոնֆիգուրացիան, և ձախ պտտող իզոմերներն անվանվել են l(-), իսկ աջ պտտողները՝ d(+): Սակայն հետագայում պարզվել է, որ օպտիկական պտույտի ուղղությունը չի կարելի հիմք ընդունել բացարձակ կոնֆիգուրացիայի բնութագրման համար: Օրինակ՝ կենդա-

նի սպիտակուցների թթվային հիդրոլիզատներից անջատվել են ինչպես աջ պտտող (օրինակ՝ ալանինը), այնպես էլ ձախ պտտող (օրինակ՝ պրովինը) ամինաթթուներ: Սակայն այդ ժամանակ արդեն հստակ ապացուցված էր, որ կենդանի սպիտակուցների բաղադրության մեջ մտնում են միայն  $L$ -բացարձակ կոնֆիգուրացիայով ամինաթթուներ: Բացի դրանից՝ փորձնական եղանակով պարզվել էր, որ քիրալային միացությունների օպտիկական պտույտի նշանը կարող է փոփոխվել՝ կախված լուծիչի բնույթից: Օրինակ՝ սպիտակուցներից անջատված  $L$ -սերինը ջրային լուծույթում ձախ պտտող է, իսկ թթվային միջավայրում՝ աջ պտտող: Նման փորձնական տվյալների հիման վրա հերքվել է նախնական վարկածը, և հաստատվել է, որ օպտիկական պտույտի նշանը չի կարող որոշիչ գործոն հանդիսանալ ամինաթթուների բացարձակ կոնֆիգուրացիայի որոշման համար:

Ամինաթթուների կոնֆիգուրացիան որոշվում է մոլեկուլում քիրալային ածխածնի ատոմի շուրջը տեղակալիչների տարածական բաշխմամբ, որը բնութագրում է քիրալային ածխածնի ատոմի բացարձակ կոնֆիգուրացիան, և այն արտահայտվում է  $L, D$  կամ  $(S, R)$  սիմվոլներով: Օպտիկական ստերեոիզոմերների թիվը որոշվում է  $2^n$  բանաձևով, որտեղ  $n$ -ը տվյալ մոլեկուլում քիրալային ածխածնի ատոմների թիվն է: Կախված  $n$ -ի արժեքից՝ ամինաթթվի օպտիկական իզոմերները կարող են լինել էնանտիոմերներ կամ դիաստերեոմերներ:

Համաձայն  $L, D$  համակարգի կամ Ֆիշերի պրոյեկցիոն բանաձևի՝ քիրալային ածխածնի ատոմ պարունակող ամինաթթվի մոլեկուլի բացարձակ կոնֆիգուրացիան արտահայտվում է ածխածնային շղթայի նկատմամբ  $NH_2$  և  $H$  խմբերի տարածական դիրքով. ընդ որում՝ ամինաթթուների ստերեոիզոմերների բացարձակ կոնֆիգուրացիայի արտահայտման համար այն համեմատվել է գլիցերալդեհիդի իզոմերների հետ, որոնց բացարձակ կոնֆիգուրացիան որոշված էր քիմիական և ֆերմենտային մեթոդներով: Ստորև բերված են գլիցերալդեհիդի և ալանինի  $L$  և  $D$  ստերեոիզոմերների կոնֆիգուրացիաները (նկար 4):

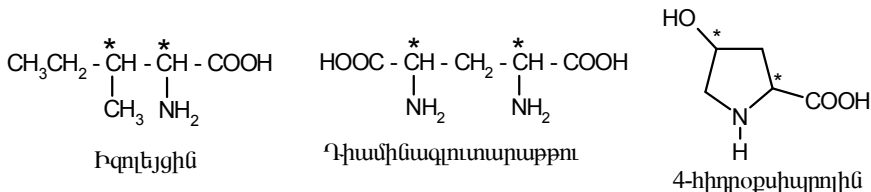


*L* -Գլիցերալդեհիդ    *D* -Գլիցերալդեհիդ    *L* -Ալանին    *D* -Ալանին

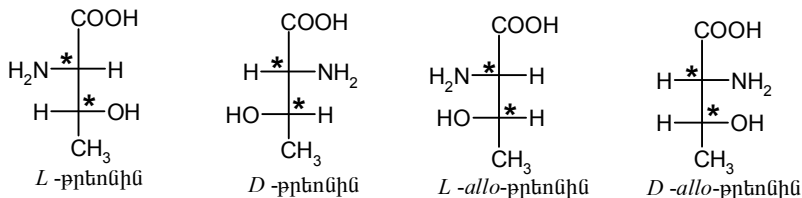
**Նկար 4.** Գլիցերալդեհիդի և ալանինի հնարավոր ստերեոիզոմերները

Բնական սպիտակուցներից անջատված բոլոր ամինաթթուները պատկանում են *L* շարքին, քանի որ նրանց մոլեկուլներում քիրալային ածխածնի ատոմի շուրջը խմբերի տարածական բաշխումը համապատասխանում է *L*-գլիցերալդեհիդի կոնֆիգուրացիային:

Որոշ սպիտակուցային ամինաթթուներ (թրեոնին, իզոլեյցին և օքսիպրովին), ինչպես նաև բազմաթիվ ոչ սպիտակուցային ամինաթթուներ (հիդրօքսիլեյցին, իզովալին, դիամինոգլուտարաթթու և այլն) իրենց կառուցվածքում պարունակում են երկու և ավելի քիրալային ածխածնի ատոմներ: Երկու ասիմետրիկ ածխածնի ատոմ պարունակող ամինաթթուները կոչվում են դիաստերեոտոպ ամինաթթուներ:

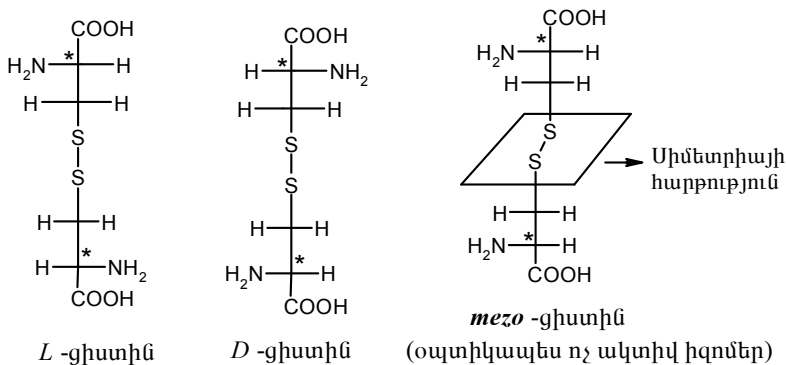


Եթե սինթետիկ եղանակով հնարավոր է սինթեզել դիաստերեոտոպ ամինաթթուների բոլոր չորս ստերեոիզոմերները, ապա օրգանիզմում ֆերմենտների ազդեցությամբ դրանցից ընտրողաբար սինթեզվում է միայն մեկը, օրինակ՝ թրեոնինի դեպքում *L*-*treo* իզոմերը կամ *L*-թրեոնինը: Թրեոնինի օպտիկական անտիպոդը համարվում է *D*-*treo* իզոմերը կամ *D*-թրեոնինը, իսկ մյուս երկու իզոմերներին բնորոշ է *allo*-կոնֆիգուրացիան՝ *L*-*allo*-թրեոնին և *D*-*allo*-թրեոնին (նկար 5):



**Նկար 5.** Թրեոնինի ստերեոիզոմերների կառուցվածքը

Բնական ցիստին ամինաթթուն, որն իրենից ներկայացնում է ցիստեինի օքսիդացված դիմեր ձևը, բացի օպտիկապես ակտիվ *L*- և *D*-ստերեոիզոմերներից, ներկայացվում է նաև օպտիկապես ոչ ակտիվ *mezo* իզոմերի տեսքով (նկար 6):



**Նկար 6.** Ցիստինի ստերեոիզոմերների կառուցվածքը

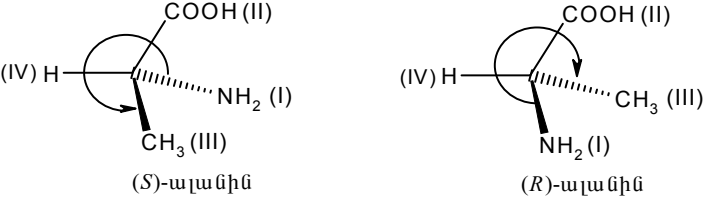
Ինչպես արդեն նշվեց, սպիտակուցային մոլեկուլներում *D*-ամինաթթուներ հայտնաբերված չեն, սակայն նրանք լայն տարածված են բնության մեջ: Օրինակ՝ տարբեր մանրէների բջջային թաղանթներում հայտնաբերված են *D*-գլուտամինաթթու, *D*-ալանին, *D*-ֆենիլալանին, *D*-լեյցին և այլ *D*-ամինաթթուներ: Բացի դրանից՝ *D*-ամինաթթուները համարվում են որոշ հակաբիոտիկների կարևոր բաղադրիչները՝ ակտինոմիցինների, բացիտրացինի, տիրոցիդինի, գրամիցիդինի և այլն:

Ավելի բարդ և բազմաքիրալային միացությունների բացարձակ կոնֆիգուրացիաների արտահայտման համար որոշակի դժվարու-



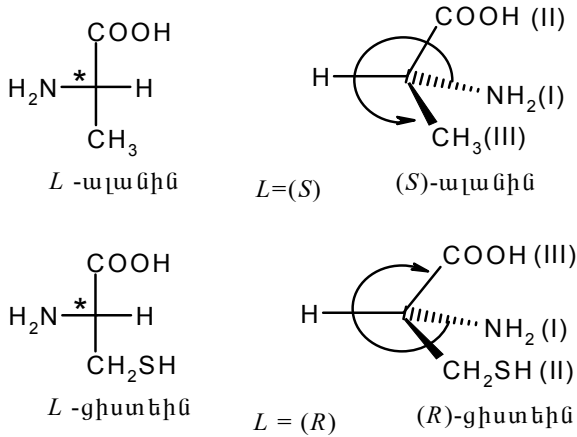
թյուններ են ծագում  $L$ ,  $D$  համակարգի կիրառման դեպքում: Այդ կապակցությամբ Կանի, Ինգոլդի և Պրեյլոգի կողմից մշակվել է օպտիկապես ակտիվ միացությունների բացարձակ կոնֆիգուրացիաների արտահայտման ( $R, S$ ) համակարգը, որը հիմնված է քիրալային ածխածնի ատոմի շուրջը տեղակալիչների՝ ըստ ավագության բաշխման կարգի վրա:

Համաձայն այդ համակարգի՝ եթե ամենափոքր տեղակալիչի (ամինաթթուների դեպքում ջրածնի ատոմի) և քիրալային ածխածնի ատոմի միջև կապի հակառակ դիրքից դիտելու դեպքում մյուս երեք տեղակալիչների ավագությունը նվազում է ժամացույցի սլաքի շարժման ուղղությամբ, ապա տեղակալիչների նման դասավորվածությունը համապատասխանում է ասիմետրիկ ածխածնի ատոմի ( $R$ )-բացարձակ կոնֆիգուրացիային: Իսկ եթե տեղակալիչների ավագության նվազումը տեղի է ունենում ժամացույցի սլաքի շարժման հակառակ ուղղությամբ, ապա նման մոլեկուլներում ասիմետրիկ ածխածնի ատոմին բնորոշ է ( $S$ )-բացարձակ կոնֆիգուրացիան: Ընդ որում՝ տեղակալիչների ավագությունը որոշվում է քիրալային ածխածնի ատոմի հետ միացած ատոմի կարգաթվով: Եթե անմիջապես քիրալային ածխածնի ատոմին միացած երկու կամ ավելի խմբերի առաջին տարրը նույնն է, ապա ավագության որոշման համար հաշվի է առնվում հաջորդ տարրի կարգաթիվը: Օրինակ՝ ալանին ամինաթթվի դեպքում ասիմետրիկ ածխածնի ատոմի շուրջը տեղակալիչներն ըստ ավագության բաշխվում են հետևյալ շարքով. I տեղակալիչը՝  $\text{NH}_2$ , II-ը՝  $\text{COOH}$ , III-ը՝  $\text{CH}_3$ , IV-ը՝  $\text{H}$ : Ստորև բերված են ալանինի ստերեոիզոմերների բացարձակ կոնֆիգուրացիաները (նկար 7):



**Նկար 7.** Ալանինի ( $S$ )- և ( $R$ )-ստերեոիզոմերների կառուցվածքը

*D*, *L* և (*R*, *S*) համակարգերի համեմատությունից հետևում է, որ բոլոր ամինաթթուների դեպքում *L*-կոնֆիգուրացիան համարժեք է (*S*)-կոնֆիգուրացիային, իսկ *D*-կոնֆիգուրացիան՝ (*R*)-կոնֆիգուրացիային: Բացառություն են կազմում միայն ցիստեին ամինաթթուն և նրա *S*-տեղակալված ածանցյալները, որոնց դեպքում (*S*)-բացարձակ կոնֆիգուրացիան համապատասխանում է *D*-ին, իսկ (*R*)-ը՝ *L*-ին (նկար 8):



**Նկար 8.** Ալանինի և ցիստեինի կոնֆիգուրացիաները ըստ *L, D* և (*R, S*) համակարգերի

Դա պայմանավորված է ցիստեին ամինաթթվի դեպքում ասիմետրիկ ածխածնի ատոմի շուրջը բաշխված տեղակալիչների ավագության կարգի փոփոխմամբ: Ցիստեինի դեպքում տեղակալիչների ավագությունը համապատասխանում է հետևյալ շարքին. I-ը՝  $\text{NH}_2$ , II-ը՝  $\text{R}(\text{CH}_2\text{SH})$ , III-ը՝  $\text{COOH}$ , IV-ը՝  $\text{H}$  (ի տարբերություն մյուս ամինաթթուների, որոնց դեպքում՝ I-ը՝  $\text{NH}_2$ , II-ը՝  $\text{COOH}$ , III-ը՝  $\text{R}$  (ալանինի դեպքում՝  $\text{CH}_3$ ), IV-ը՝  $\text{H}$ ):

Բոլոր ամինաթթուները, անկախ ծագումից, կենսաբանորեն և դեղաբանորեն ակտիվ են միայն օպտիկապես ակտիվ որևէ մեկ իզոմերի տեսքով:

### 1.3.2. Ամփնաթթուների բացարձակ կոնֆիգուրացիայի և օպտիկական մաքրության որոշման մեթոդները

**Հայրնի ամփնաթթուների** մուշների բացարձակ կոնֆիգուրացիան և օպտիկական մաքրության աստիճանը կարելի է որոշել պոլյարիմետրիկ չափումների միջոցով՝ տեսակարար օպտիկական պտույտի արժեքի և օպտիկական պտույտի դիսպերսիայի կորերի միջոցով:

Տեսակարար օպտիկական պտույտի արժեքը որոշվում է հետևյալ բանաձևով.

$$[\alpha]_D^{25} = \frac{\alpha_{\text{չափված}} \cdot 100\%}{c \cdot l},$$

որտեղ  $[\alpha]_D^{25}$ -ը՝ տեսակարար օպտիկական պտույտի արժեքը (D-ն՝ նատրիումական զիծ կամ 589 նմ ալիքի երկարություն, 25-ը՝ չափման ջերմաստիճանը),

$\alpha_{\text{չափված}}$ -ը՝ պոլյարիմետր սարքի միջոցով չափված պտույտի արժեքը,

c-ն՝ լուծույթի կոնցենտրացիան, գ/100 մլ լուծիչում,

l-ը՝ սարքի կյուվետի հաստությունը, դմ:

Գրականության մեջ հայտնի նյութի անհայտ մուշի տեսակարար պտույտի արժեքը որոշելուց հետո այն համեմատվում է գրականական տվյալների հետ, ընդ որում՝ չափման պայմանները (կոնցենտրացիան, լուծիչը և ջերմաստիճանը) պետք է համապատասխանեն գրականական տվյալներում բերված չափման պայմաններին: Հակառակ դեպքում չափման արդյունքում արձանագրված տվյալները չեն արտացոլի հետազոտվող նյութի օպտիկական պտույտի իրական արժեքը, քանի որ պայմանները որոշիչ ազդեցություն են թողնում պտույտի արժեքի վրա: Օրինակ՝ L-պրոլինի տեսակարար օպտիկական պտույտի արժեքը թորած ջրում կազմում է  $-(82-84)^\circ$ , իսկ 6N HCl-ի ջրային լուծույթում՝  $-(45-46)^\circ$ : Աղյուսակ 2-ում բերված են սպիտակուցային ամփնաթթուների տեսակարար օպտիկական պտույտի գրականական արժեքները:

L-ամինաթթուների տեսակարար օպտիկական պտույտի արժեքները

No	Ամինաթթու	$[\alpha]_D^{25}$ (լուծույթի կոնցենտրացիան, լուծիչ)
1.	L-ալանին	+ (14 - 15) <sup>o</sup> (c=5, 1N HCl)
2.	L-վալին	+ (24.5 - 25.5) <sup>o</sup> (c=5, 1N HCl)
3.	L-լեյցին	+ (12 - 14) <sup>o</sup> (c=2.5, 1N HCl)
4.	L-իզոլեյցին	+ (39 - 41) <sup>o</sup> (c=5, 6N HCl)
5.	L-սերին	+ (12.6-13.6) <sup>o</sup> (c=5, 5N HCl)
6.	L-թրեոնին	- (28 - 29) <sup>o</sup> (c=5, H <sub>2</sub> O)
7.	L-ֆենիլալանին	- (8.8 - 10) <sup>o</sup> (c=5, 5N HCl)
8.	L-պրովին	- (48.5-52.5) <sup>o</sup> (c=2.5, 1N HCl)
9.	L-մեթիոնին	+ (23.2 - 24.2) <sup>o</sup> (c=5, 5N HCl)
10.	L-տրիպտոֆան	- (31 - 34) <sup>o</sup> (c=2.4, H <sub>2</sub> O)
11.	L-գլուտամինաթթու	+ (30.5 - 31.5) <sup>o</sup> (c=5, 5N HCl)
12.	L-ասպարազինաթթու	+ (23.1 - 26.1) <sup>o</sup> (c=2.1, 1N HCl)
13.	L-գլուտամին	+ (32 - 34) <sup>o</sup> (c=5, 5N HCl)
14.	L-ասպարազին	+ (30.0 - 32.0) <sup>o</sup> (c=5, 5N HCl)
15.	L-ցիստեին x HClxH <sub>2</sub> O	+ (5.2 - 5.8) <sup>o</sup> (c=5, 5N HCl)
16.	L-ցիստին	- (218 - 220) <sup>o</sup> (c=1, 1N HCl)
17.	L-թիրոզին	- (10.5 - 11.5) <sup>o</sup> (c=4, 1N HCl)
18.	L-արգինին	+ (21 - 22) <sup>o</sup> (c=5, 1N HCl)
19.	L-լիզին	- (19 - 21) <sup>o</sup> (c=5, 1N HCl)

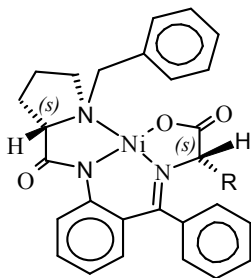
Չափումը կատարելուց առաջ նախ անհրաժեշտ է օգտագործվող մաքուր լուծիչի միջոցով սարքի օպտիկական պտույտի արժեքը բերել գրոյական դիրքի, իսկ այնուհետև չափել հետազոտվող լուծույթի նմուշի պտտման արժեքը ( $\alpha_{\text{չափված}}$ ) 589 նմ ալիքի երկարության տակ: Չափման ընթացքում կյուվետում լցված լուծույթը չպետք է պարունակի օդի պղպջակներ: Այնուհետև վերը նշված բանաձևով որոշվում է տեսակարար օպտիկական պտույտի արժեքը:

Եթե հետազոտվող նմուշի որոշված տեսակարար օպտիկական պտույտի արժեքը և՛ պտտման նշանով, և՛ բացարձակ արժեքով միանշանակ համապատասխանում է աղյուսակում բերված գրականական տվյալներին, ապա դա վկայում է նրանց միևնույն բացար-

ձակ կոնֆիգուրացիայի և բարձր օպտիկական մաքրության մասին: Իսկ եթե որոշված տեսակարար պտույտի արժեքը բացարձակ արժեքով համապատասխանում է գրականական տվյալին, սակայն ունի հակառակ պտտման նշան, դա նշանակում է՝ նմուշն իրենից ներկայացնում է համեմատվող ամինաթթվի օպտիկական անտիպոդը և օժտված է բարձր օպտիկական մաքրությամբ: Որոշված տեսակարար օպտիկական պտույտի արժեքի անհամապատասխանությունը գրականական տվյալներին (ինչպես բացարձակ արժեքով, այնպես էլ պտտման նշանով) նշանակում է, որ հետազոտվող նմուշը օպտիկայես մաքուր չէ:

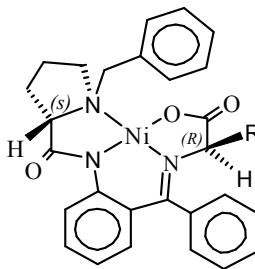
Որոշ դեպքերում բացարձակ կոնֆիգուրացիայի որոշման համար ստանում են հետազոտվող նմուշի օպտիկական պտույտի դիսպերսիայի (ՕՊԴ) կորերը սպեկտրապոլյարիմետր սարքի միջոցով և դրանք համեմատում հայտնի բացարձակ կոնֆիգուրացիայով ամինաթթվի ՕՊԴ կորերի հետ: Օպտիկական պտույտի դիսպերսիան բնութագրում է օպտիկական պտույտի արժեքի կախվածությունը ալիքի երկարությունից՝ 300-700 նմ մարզում: Այս եղանակը հատկապես օգտագործվում է ամինաթթուների դիաստերեոմերային ածանցյալների բացարձակ կոնֆիգուրացիաների որոշման համար, որոնց շարքում մեկ քիրալային կենտրոնը մնում է ստերեոքիմիապես իներտ, և քիմիական փոխարկումների ժամանակ փոփոխության է ենթարկվում միայն մյուս քիրալային կենտրոնը: Օրինակ՝ (S)- և (R)-ամինաթթուների և (S)-պրովինի քիրալային օժանդակ ռեագենտի (BPB) Շիֆի հիմքերի Ni<sup>II</sup> հարթ քառակուսային կոմպլեքսներում ամինաթթվային մնացորդի փոխարկումների ժամանակ (S)-պրովինի մնացորդի բացարձակ կոնֆիգուրացիան փոփոխության չի ենթարկվում: Դա հնարավորություն է տալիս ՕՊԴ-ի կորերի միջոցով որոշել կոմպլեքսների քիմիական փոխարկումների արդյունքում առաջացած նոր ամինաթթուների բացարձակ կոնֆիգուրացիան:

Նկար 9-ում ներկայացված են նշված քիրալային ամինաթթվային կոմպլեքսների (S,S)- և (S,R)-դիաստերեոմերների կառուցվածքը (*u*, *p*) և նրանց օպտիկական պտույտի դիսպերսիայի (ՕՊԴ) կորերը (*q*):



Ni<sup>II</sup>-(S)-BPB-(S)-AA

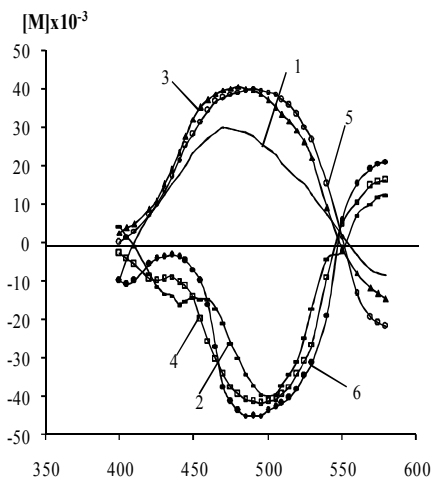
**u**



Ni<sup>II</sup>-(S)-BPB-(R)-AA

**p**

\*AA - amino acid (ամինաթթու)



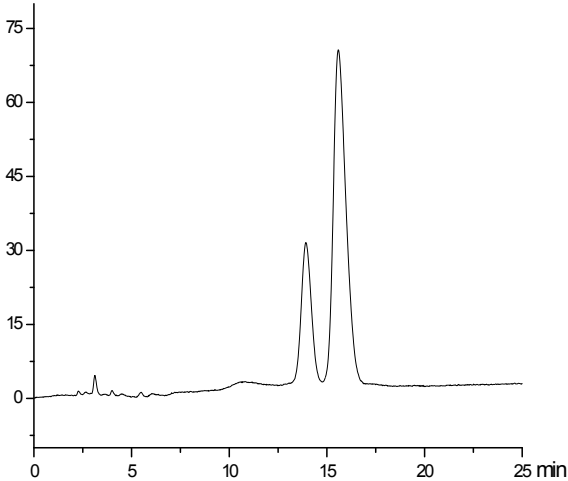
**q**

**Նկար 9.** (S)- և (R)-ամինաթթուների և (S)-BPB քիրալային ռեզոնանսի Շիֆի հիմքերի Ni<sup>II</sup> կոմպլեքսների կառուցվածքը (**u**, **p**) և ՕՊԴ-կորերը (**q**). 1-ը և 2-ը՝ (R)- և (S)-ալանինի (R=CH<sub>3</sub>), 3-ը և 4-ը՝ (R)- և (S)-β-ֆենիլալանինի (R=CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 5-ը և 6-ը՝ (R)- և (S)-վալինի [R=CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] կոմպլեքսներ:

ՕՊՂ-ի կորերը օգտագործվում են նշված կոմպլեքսների միջոցով պարզ սպիտակուցային ամինաթթուներից ավելի բարդ ոչ սպիտակուցային ամինաթթուների ասիմետրիկ սինթեզի արդյունքում մակաձված մոր քիրալային կենտրոնների բացարձակ կոնֆիգուրացիայի որոշման նպատակով: Դրա համար նախ ստանում են հայտնի բացարձակ կոնֆիգուրացիայով (*S*)- և (*R*)-ամինաթթուների դիաստերեոմեր կոմպլեքսների ՕՊՂ- կորերը, այնուհետև՝ փոխարկումների արդյունքում առաջացած մոր ամինաթթվի դիաստերեոմեր կոմպլեքսների ՕՊՂ- կորերը: Դրանք համեմատելով իրար հետ՝ որոշում են վերջինիս բացարձակ կոնֆիգուրացիան 450-550 *nm* ալիքի մարզում՝ օպտիկական պտույտի արժեքի նշանով: Օրինակ՝ նկար 9-ում բերված են ռենտգենկառուցվածքային անալիզի մեթոդով հաստատված (*R*)- և (*S*)-բացարձակ կոնֆիգուրացիայով ալանինի ( $R=CH_3$ ) (*S,S*)- և (*S,R*)-դիաստերեոմեր կոմպլեքսների ՕՊՂ- կորերը (նկար 9, *գ*, կորեր 1, 2) և անհայտ բացարձակ կոնֆիգուրացիայով ֆենիլալանինի ( $R=CH_2C_6H_5$ ) և վալինի [ $R=CH(CH_3)_2$ ] դիաստերեոմեր կոմպլեքսների ՕՊՂ- կորերը (նկար 9, *գ*, կորեր 3, 4 և 5, 6): Համեմատությունից հետևում է, որ 4 և 6 կորերը համապատասխանում են նշված կոմպլեքսների (*S,S*)-դիաստերեոմերին՝ (*S*)-ամինաթթվի պարունակությամբ, իսկ 3 և 5 կորերը՝ (*R*)-ամինաթթու պարունակող (*S,R*)-դիաստերեոմերներին:

**Անհայտ ամինաթթուների** բացարձակ կոնֆիգուրացիայի որոշման համար օգտագործում են քիրալային քրոմատոգրաֆիական անալիզի մեթոդներ՝ գազ-հեղուկային և հեղուկային: Մեթոդը հիմնված է քիրալային սորբենտների (օրինակ՝ *Chirasil Val*, *Chromnpack*) կիրառման վրա, որոնք տարբեր խնամակցություն են ցուցաբերում օպտիկական իզոմերների նկատմամբ: Նման սորբենտներով լցված աշտարակներով ամինաթթվի ստերեոիզոմերների խառնուրդի լուծույթը անցկացնելու ժամանակ սորբենտի շերտում տեղի է ունենում օպտիկական իզոմերների բաժանում, որոնք անհատական ձևով տարբեր ժամանակահատվածներում են դուրս գալիս աշտարակից: Դա համապատասխան դեղեկտորի միջոցով արձանագրվում և գրանցվում է անալոգային և թվային ազդանշանների ձևով: Նկար

10-ում բերված է S-տեղակայված L- և D-ցիստեինների քիրալային բարձր արդյունավետության հեղուկային քրոմատոգրաֆիական (ԲԱՀՔ) անալիզի քրոմատագիրը:

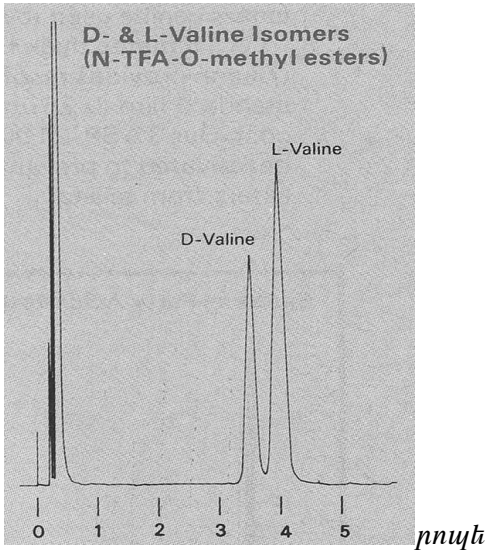


**Նկար 10.** L- և D-S-ֆենիլցիստեինների քիրալային ԲԱՀՔ անալիզի քրոմատագիրը (քիրալային սորբենտ՝ Crownpak CR (+), էլյուենտ՝ HClO<sub>4</sub> (pH 2), էլյուենտի շարժման արագությունը՝ 0,4 մլ/րոպե, ջերմաստիճանը՝ 5°C)

Հեղուկային քրոմատոգրաֆիական անալիզի մեթոդի դեպքում ազատ ամինաթթվի ստերեոիզոմերների խառնուրդի լուծույթն է անցնում քիրալային սորբենտ պարունակող աշտարակով: Իսկ քիրալային գազ-հեղուկային քրոմատոգրաֆիական (ԳՀՔ) մեթոդի դեպքում նախօրոք ամինաթթվի ստերեոիզոմերների խառնուրդը վերածվում է հեշտ ցնդող ածանցյալի, օրինակ՝ N-տրիֆտորացետիլային էսթերի, որից հետո տաքացման պայմաններում խառնուրդի գոլորշիները անցկացվում են քիրալային սորբենտի շերտով:

Նկար 11-ում բերված է N-եռֆտորացետիլվալինի մեթիլ էսթերի L- և D-իզոմերների խառնուրդի քիրալային ԳՀՔ անալիզի քրոմատագիրը:



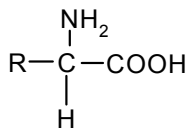


**Նկար 11.** Վալինի *L*- և *D*-իզոմերների քիրալային Գ-ՀՔ անալիզի քրոմատագրորը (ամինաթթուն՝ N-TFA-OMe էսթերի տեսքով, կրող-գազ՝ He, ապակյա աշտարակ՝ 25 ս x 0.28 մմ, քիրալային ֆազ՝ պոլիսիլօքսանային դիամիդ, ջերմաստիճանը՝ 80-200°C)

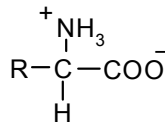
Որոշ դեպքերում, երբ վերոհիշյալ մեթոդների կիրառմամբ հնարավոր չէ անհայտ կառուցվածքով ամինաթթվի մնուշի խառնուրդից առանձնացնել էնանտիոմերները և որոշել նրանց բացարձակ կոնֆիգուրացիան ու օպտիկական մաքրությունը, օգտագործում են ռենտգենկառուցվածքային անալիզի մեթոդը: Համաձայն այդ մեթոդի՝ որոշվում են մոլեկուլի կազմում առկա կապերի տեսակները (երկարությունները) և նրանց միջև վալենտային անկյունները, որից հետո կառուցվում է նյութի բանաձևը, և Կան-Ինգոլդ-Պրելոգի մեթոդով որոշվում է քիրալային ածխածնի ատոմի բացարձակ կոնֆիգուրացիան: Այս մեթոդի թերությունը կայանում է նրանում, որ ռենտգենկառուցվածքային անալիզի համար պետք է օգտագործել հետազոտվող նյութի լավ կազմավորված բյուրեղներ, ինչը ոչ բոլոր ամինաթթուների դեպքում է հաջողվում ստանալ:

## 1.4. Ամինաթթուների ֆիզիկաքիմիական հատկությունները

Ամինաթթուների ֆիզիկաքիմիական հատկությունների իմացությունը կարևոր նշանակություն ունի ինչպես սպիտակուցների հատկությունների պարզաբանման, այնպես էլ նրանց նույնականացման, քանակական անալիզի և քրոմատոգրաֆացման համար: Բյուրեղական ամինաթթուները հալվում կամ քայքայվում են համեմատաբար բարձր ջերմաստիճանում (սովորաբար  $200^{\circ}\text{C}$ -ից բարձր): Բացի դրանից՝ նրանք ավելի լավ են լուծվում ջրում, քան ոչ բևեռային լուծիչներում: Նման հատկությունները վկայում են, որ ամինաթթուների մոլեկուլների բյուրեղական ցանցը կայունանում է հակառակ լիցքավորված խմբերի միջև էլեկտրաստատիկ փոխազդեցությունների հաշվին, ինչը նկատվում է, օրինակ,  $\text{NaCl}$ -ի բյուրեղական ցանցի մոտ: Եթե ամինաթթուները բյուրեղանան ոչ իոնական ձևով, ապա նրանց բյուրեղական ցանցը կկայունանա ավելի թույլ վանդերվալսյան ուժերի հաշվին, և նրանք կունենան ավելի ցածր հալման ջերմաստիճան: Հետևաբար, ամինաթթուները չեզոք ջրային լուծույթներից բյուրեղանում են ոչ թե չդիսոցված մասնիկների ձևով, այլ դիպոլյար կամ ցվիտերիոնների տեսքով:



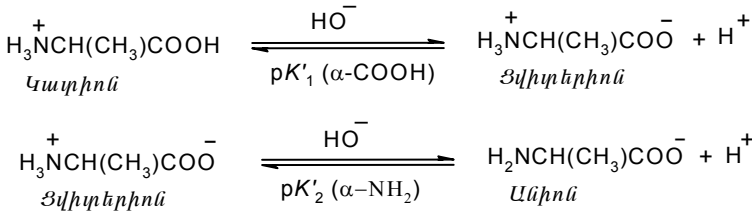
*Չդիսոցված*



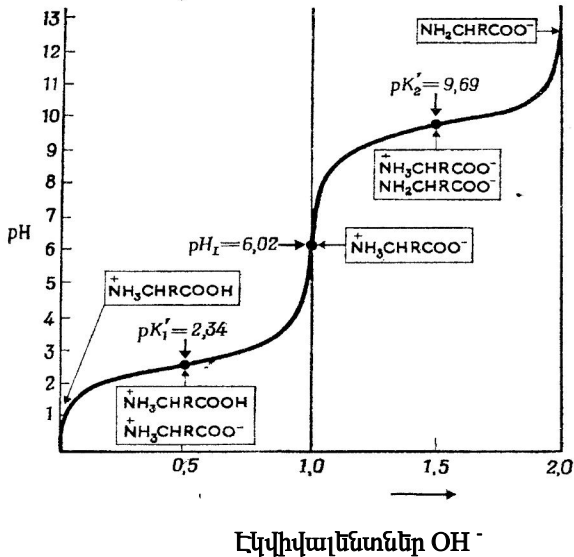
*Երկբևեռ իոն  
կամ ցվիտերիոն*

Ամինաթթուների երկբևեռ կամ ցվիտերիոնային կառուցվածքի մասին են վկայում նաև նրանց մոլեկուլների դիէլեկտրիկ թափանցելիության հաստատունների բարձր արժեքները, որոնք վկայում են այն մասին, որ երկբևեռ մոլեկուլի ներսում դրական և բացասական լիցքերը ամբողջությամբ բաժանված են: Ամինաթթուների թթվահիմնային հատկությունները կարելի է մեկնաբանել Բրենստեդ-Լոուրի տեսությամբ: Պարզագույն մոնոամինոմոնոկարբոնաթթուները լրիվ

սրտոնացված վիճակում համարվում են երկհիմն թթուներ և հիմքով տիտրման ժամանակ կարող են տալ 2 սրտոն:



Նկար 12-ում ներկայացված է ալանինի երկփուլանի տիտրման կորը: Դիտցման երկու փուլերի  $pK$ -ների արժեքները բավականին տարբերվում են իրարից, ինչի շնորհիվ կորը կազմված է երկու իրարից լավ բաժանված թևերից: Ամեն մի թևում առկա է միջինացված կետ, որում  $\text{OH}^-$  իոնների ավելացման դեպքում  $\text{pH}$ -ի փոփոխությունը նվազագույն է:



Նկար 12. Ալանինի տիտրման կորը (ուղղանկյունների մեջ բերված են իոնները, որոնք գերակշռում են կորի շրջանակներում)

Այդ կետերը համապատասխանում են  $pK'_1=2,34$  և  $pK'_2=9,69$  արժեքներին:  $pH=2,34$  արժեքի դեպքում, որը համապատասխանում է տիտրման առաջին փուլի միջինացված արժեքին, առկա են էկվիմոլային քանակությամբ երկու տեսակի իոններ՝ պրոտոնի դոնոր ( ${}^+H_3NCHRCOOH$ ) և պրոտոնի ակցեպտոր ( ${}^+H_3NCHRCOO^-$ ):  $pH=9,69$  արժեքի դեպքում, որը համապատասխանում է տիտրման երկրորդ փուլի միջին արժեքին, էկվիմոլային քանակությամբ պարունակվում են  ${}^+H_3NCHRCOO^-$  և  $H_2NCHRCOO^-$  մասնիկները:

Ալանինի տիտրման կորի երկու թևերի միջև անցման կետը համապատասխանում է  $pH=6,02$  արժեքին, որի դեպքում մոլեկուլը չի կրում գումարային էլեկտրական լիցք և չի տեղափոխվում էլեկտրական դաշտում:  $pH$ -ի այդ արժեքը կոչվում է իզոէլեկտրիկ կետ, որը նշանակվում է  $pI$  կամ  $pH_I$  նշաններով, և այն համարժեք է  $pK'_1$  և  $pK'_2$  հաստատունների արժեքների միջին թվաբանականին.

$$pI=1/2 (pK'_1 + pK'_2):$$

Բոլոր մոնոամինոմոնոկարբոնաթթուները ենթարկվում են այդ օրինաչափությանը: Մոնոամինոմոնոկարբոնաթթուների մոտ կարբօքսիլային խումբը օժտված է ավելի ուժեղ արտահայտված թթվայնությամբ, քան սովորական կարբոնաթթուների մոտ, օրինակ՝ քացախաթթվի  $pK'=4,76$ , կամ կաթնաթթվի  $pK'=3,86$ : Հավանաբար դա պայմանավորված է  $\alpha$ -կարբօքսիլային խմբի հարևանությամբ գտնվող դրական լիցքավորված ամինո խմբի պրոտոն վանելու հատկությամբ, ինչը նպաստում է կարբօքսիլային խմբի դիսոցմանը: Բացի դրանից՝ մոնոամինոմոնոկարբոնաթթուների դեպքում  $\alpha$ - $NH_2$  խումբը օժտված է ավելի ուժեղ արտահայտված թթվայնությամբ (կամ թույլ արտահայտված հիմնայնությամբ), քան համապատասխան ալիֆատիկ ամինների  $NH_2$  խումբը: Այդ պատճառով էլ բոլոր մոնոամինամոնոկարբոնաթթուները, որոնք չեն պարունակում լիցքավորված R-խմբեր,  $pK'_1$  և  $pK'_2$  արժեքներով իրար բավականին մոտ են:

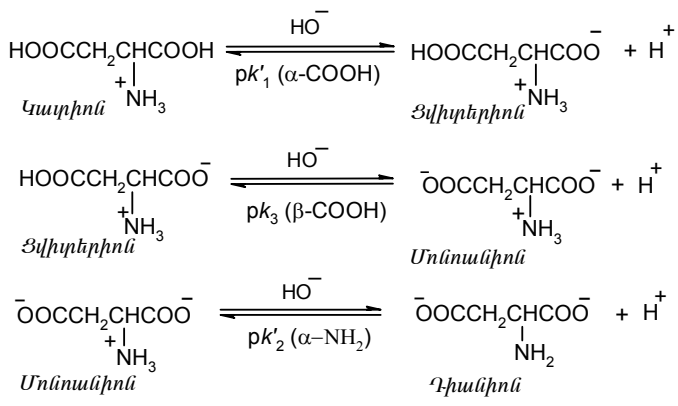
Չնայած ասպարազինաթթվի  $\beta$ - $COOH$  և գլուտամինաթթվի  $\gamma$ - $COOH$  խմբերը  $pH=7$  արժեքի տակ լրիվությամբ իոնացված են, դրանց դիսոցման հաստատունների արժեքները ( $pK'_R$ ) բավականին

բարձր են, քան  $\alpha$ -կարբօքսիլային խմբի դիսոցման հաստատունի արժեքները ( $pK'_1$ ) և բավականին մոտ են սովորական կարբոնաթթուների  $\alpha$ -կարբօքսիլային խմբի դիսոցման հաստատունների արժեքներին, օրինակ՝ քացախաթթվի  $pK'$ -ի արժեքին:

Ցիստեինի սուլֆիդրիլային (SH) և թիրոզինի OH խմբերը օժտված են բավականին թույլ արտահայտված թթվային հատկություններով:  $pH=7$ -ի դեպքում SH խումբը իոնացված է ընդամենը 8%-ով, իսկ թիրոզինի OH խումբը՝ 0,01%-ով: Իսկ լիզինի  $\varepsilon-NH_2$  և արգինինի գուանիդինային խմբերը, ընդհակառակը, օժտված են վառ արտահայտված հիմնայնությամբ և տալիս են իրենց պրոտոնները միայն  $pH$ -ի շատ բարձր արժեքների դեպքում.  $pH=7$ -ի տակ այդ ամինաթթուները կրում են գումարային դրական լիցք:

Իոնացված R խմբերով ամինաթթուների տիտրման կորերն ունեն ավելի բարդ տեսք, քանի որ դրանք պայմանավորված են ինչպես  $\alpha-COOH$  և  $\alpha-NH_2$ , այնպես էլ ռադիկալի ֆունկցիոնալ խմբերի դիսոցման ռեակցիաներով:

*Ասպարազինաթթվի տիտրման ռեակցիաները*



Նմանատիպ տեսք ունեն նաև գլուտամինաթթվի տիտրման հավասարումները: Թթվային ամինաթթուների համար իզոէլեկտրիկ կետը որոշվում է հետևյալ հավասարումով.

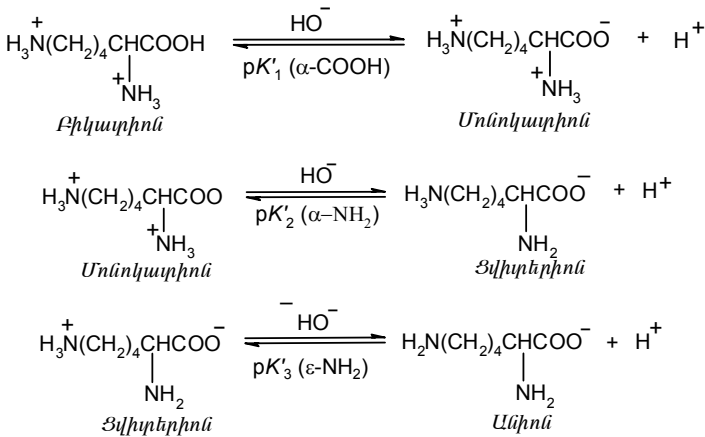
$$pI=1/2(pK'_1 + pK'_3):$$

44

Հավասարումից հետևում է, որ ասպարազինաթթվի և գլուտամինաթթվի իզոլեւկտրիկ կետերը համապատասխանում են թթվային pH-ի արժեքին, ինչի շնորհիվ նշված ամինաթթուները բյուրեղանում են թթվային միջավայրից:

Հիմնային ամինաթթուների տիտրման ռեակցիաները նույնպես ընթանում են երեք փուլով: Առաջին փուլով տիտրվում է  $\alpha$ -COOH խումբը, այնուհետև՝  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> խումբը, իսկ վերջում՝ ռադիկալի հիմնային խումբը:

*Լիզինի տիտրման ռեակցիաները*



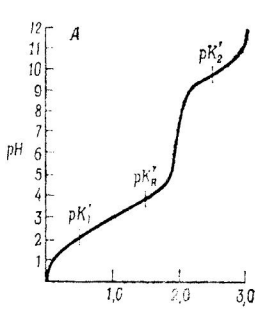
Հիմնային ամինաթթուների համար իզոլեւկտրիկ կետի արժեքը որոշվում է հետևյալ բանաձևով.

$$pI = 1/2(pK'_2 + pK'_3),$$

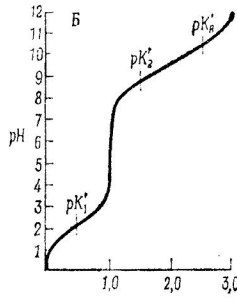
որտեղ pK'<sub>3</sub>-ը ռադիկալի հիմնային խմբի դիսոցման հաստատունն է:

Նշված ամինաթթուները բյուրեղանում են հիմնային միջավայրերից, քանի որ նրանց իզոլեւկտրիկ կետի արժեքները համապատասխանում են pH-ի հիմնային մարզին, որտեղ նրանց լուծելիությունը նվազագույն է:

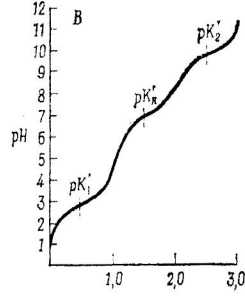
Նկար 13-ում բերված են գլուտամինաթթվի, լիզինի և հիստիդինի տիտրման կորերը:



համարժեք  $\text{OH}^-$   
 $\omega$



համարժեք  $\text{OH}^-$   
 $\rho$



համարժեք  $\text{OH}^-$   
 $q$

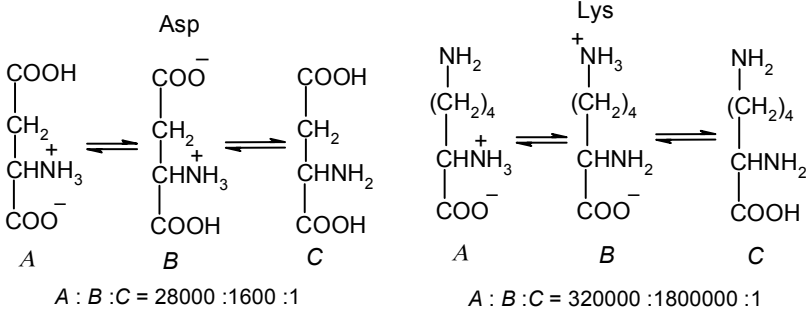
**Նկար 13.** Գլուտամինաթթվի ( $\omega$ ), լիզինի ( $\rho$ ) և հիստիդինի ( $q$ ) տիտրման կորերը ( $pK'_R$ -ով նշանակված է ռադիկալի խմբի դիսոցման հաստատունը  $pK'_3$ -ը)

Աղյուսակ 3-ում բերված են որոշ ամինաթթուների ֆունկցիոնալ խմբերի դիսոցման հաստատունների և իզոէլեկտրիկ կետերի արժեքները:

Աղյուսակ 3

No	Ամինաթթու	$pK'_1$	$pK'_2$	$pK'_3$	$pI$
		( $\alpha$ -COOH)	( $\alpha$ - $\text{NH}_3^+$ )	(R-խումբ)	
1.	L-ալանին	2,34	9,69		6,0
2.	L-գլիցին	2,34	9,6		5,97
3.	L-լեյցին	2,36	9,6		5,98
4.	L-սերին	2,21	9,15		5,68
5.	L-թրեոնին	2,63	10,43		6,16
6.	L-գլուտամինաթթու	2,19	9,67	4,25	3,22
7.	L-ասպարագինաթթու	2,09	9,82	3,86	2,77
8.	L-հիստիդին	1,82	9,17	6,0	7,59
9.	L-գլուտամին	2,17	9,13		5,65
10.	L-ցիստեին	1,71	10,78	8,33	5,07
11.	L-ֆիրոզին	2,20	9,11	10,07	5,66
12.	L-արգինին	2,17	9,04	12,48	10,76
13.	L-լիզին	2,18	8,95	10,53	9,74

Գլիկարբոնային ամինաթթուները և դիամինոկարբոնաթթուները ջրում կարող են գոյություն ունենալ տարբեր աստիճանի լիցքավորված մասնիկների խառնուրդի տեսքով, օրինակ՝ ասպարազինաթթուն և լիզինը:



Ամինաթթուների ֆիզիկաքիմիական հատկությունները որոշիչ դեր են խաղում նրանց բյուրեղացման, բաժանման և անալիզի մեթոդների մշակման ժամանակ: Մոլորաբար ամինաթթուները բյուրեղանում են իզոէլեկտրական կետին համարժեք pH-ի արժեքի տակ, քանի որ հենց այդ կետում է նրանց միմիմալ լուծելիությունը ջրում:

### 1.5. Ամինաթթուների անալիզի մեթոդները

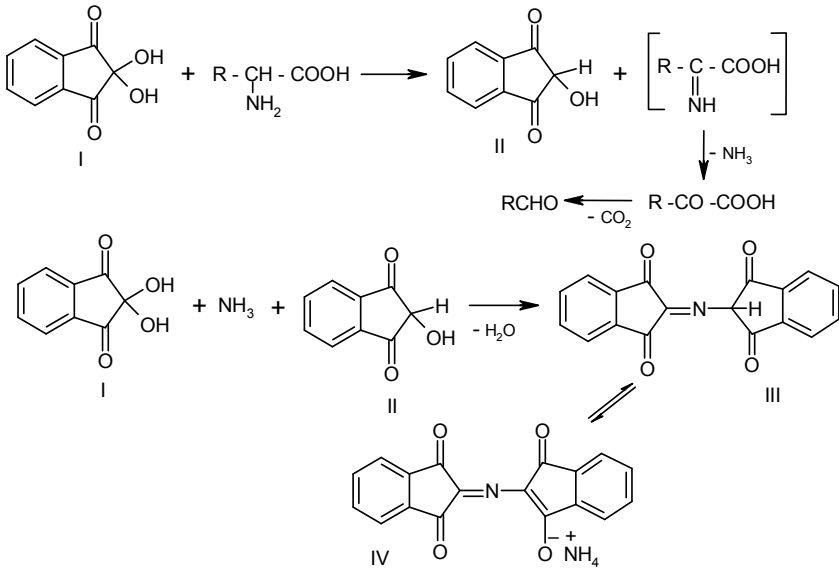
Ամինաթթուների անալիզի մեթոդները հիմնականում հիմնված են նինհիդրինի հետ նրանց փոխազդեցության ռեակցիայի վրա, որը առաջարկել է Ռուեմանը 1911 թ.-ին (սխեմա 1):

Նինհիդրինը կամ տրիկետոհիդրինդենհիդրատը (I), փոխազդելով ամինաթթվի հետ, վերականգնվում է մինչև դիկետոօքսիհիդրինդենի (II), իսկ ամինաթթուն դեգամինման արդյունքում միջանկյալ իմինաթթվի առաջացմամբ վերածվում է α-կետոթթվի և ամոնիակի: Կետոթթուն իր հերթին դեկարբօքսիլվում է՝ առաջացնելով ալդեհիդ՝ ելային ամինաթթվի համեմատությամբ մեկ ամիաժնի ատոմի պակաս պարունակությամբ:



Առաջացած II միացությունը փոխազդում է անջատված ամոնիակի և նիմհիդրինի 2-րդ մոլեկուլի հետ՝ առաջացնելով III միացությունը, որի ենթալային ձևի ամոնիումային աղին (IV) բնորոշ է մամուշակազույն գունավորվածությունը, որն այլ կերպ կոչվում է «Ռուէմանի մանուշակազույն» (տե՛ս սխեմա 1):

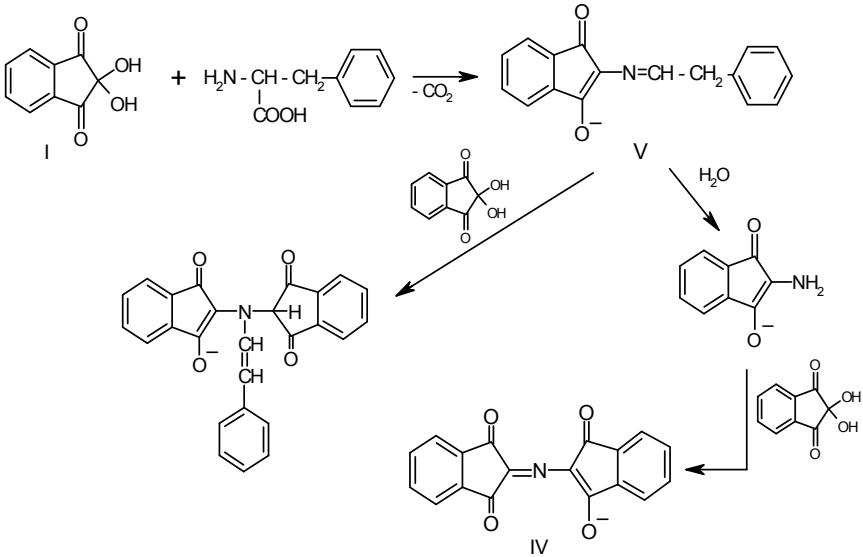
### Սխեմա 1



Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ կախված լուծիչի բնույթից՝ առաջացած արգասիքը կարող է ունենալ ինչպես «Ռուէմանի մանուշակազույն» գունավորում, այնպես էլ երկնագույն գունավորում:

Այդ ռեակցիայի մեխանիզմը հետազոտվել է ֆենիլալանինի և նիմհիդրինի փոխազդեցության օրինակի վրա (սխեմա 2):

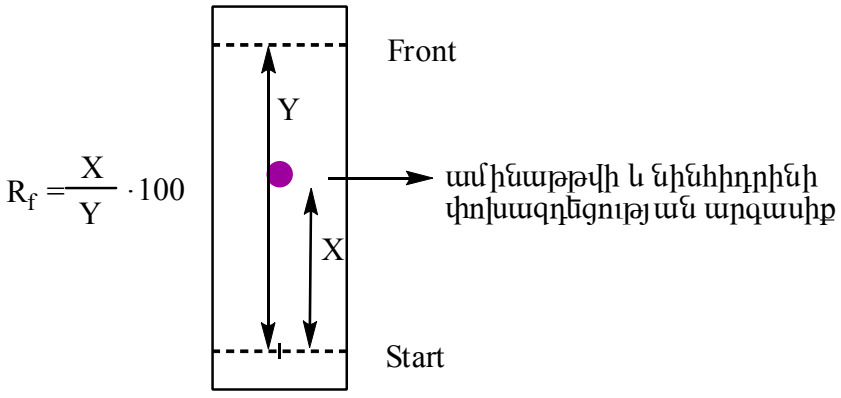
## Սխեմա 2



**Նրբաշերտ քրոմատոգրաֆիայի մեթոդ:** Ամինաթթուների խառնուրդում առանձին ամինաթթուների անալիզի ամենապարզ և մատչելի մեթոդը համարվում է նրբաշերտ քրոմատոգրաֆիայի մեթոդը (ՆՇՔ): Այն հիմնված է  $\text{SiO}_2$ -ի կամ ցելյուլոզի շերտով պատված ալյումինե կամ ապակյա թիթեղների միջոցով ամինաթթուների բաժանման սկզբունքի վրա: Դրա համար ամինաթթվային խառնուրդի ջրային լուծույթից միկրոներարկիչների միջոցով  $\sim 1-10$  մկմ կաթեցնում են թիթեղի ստորին մասից 1 սմ բարձրության վրա (**start**), որից հետո թիթեղը տեղադրում համապատասխան բուֆերային լուծույթ (էլյուենտ) պարունակող հերմետիկ փակվող տարողությունում (խցիկում): Էլյուենտը, մազանոթային ուժերի հաշվին թիթեղի մակերևույթով շարժվելով դեպի վեր, տեղափոխում է ամինաթթվային խառնուրդը, որը, անցնելով  $\text{SiO}_2$ -ի կամ ցելյուլոզի շերտով, բաժանվում է առանձին ամինաթթուների: Երբ լուծույթը հասնում է թիթեղի վերին մասից 1 սմ ցածր դիրքի (**front**), թիթեղը հանում են, չորացնում, ներկում նինհիդրինի լուծույթով և տաքացնում  $80^\circ\text{C}$ -ից բարձր ջերմաստիճանի տակ՝ 5 րոպե տևողությամբ: Այդ ընթացքում առանձին ամին-

նաթթուները, փոխազդելով նիհիդրինի հետ, առաջացնում են մանուշակագույն գույնով ներկված կետեր: Որպես արդյունավետ էլյուենտ, որի ներկայությամբ բաժանվում են գրեթե բոլոր սպիտակուցային ամինաթթուները, համարվում է էթանոլ-բութանոլ-ացետոն-ամոնիակ-ջուր (2:2:4:3:1) խառնուրդը, իսկ որպես նիհիդրինի լուծույթ օգտագործվում է նիհիդրին (0,5 գ), ացետոն (95 մլ), քացախաթթու (1 մլ) և ջուր (4 մլ) խառնուրդը:

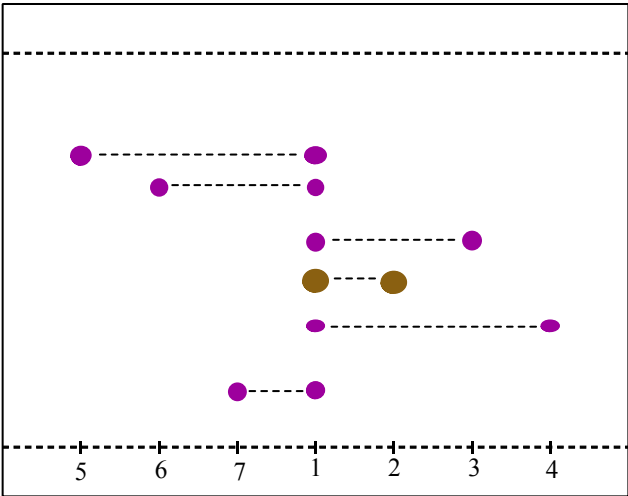
Նրբաշերտ քրոմատոգրաֆիայի մեթոդով ամինաթթուների անալիզի բնորոշ ցուցանիշը համարվում է  $R_f$ -ի արժեքը, որը բնութագրում է սորբենտի շերտում ամինաթթվի շարժունակությունը (նկար 14): Յուրաքանչյուր ամինաթթվին բնորոշ է  $R_f$ -ի որոշակի արժեք, որը կարող է փոփոխվել՝ կախված բուֆերի, սորբենտի և քրոմատոգրաֆիական քիթեղի բաղադրությունից, սորբենտի շերտի հաստությունից, ինչպես նաև անալիզի իրականացման պայմաններից:



**Նկար 14.** Առանձին ամինաթթվի ՆՇԸ-ն

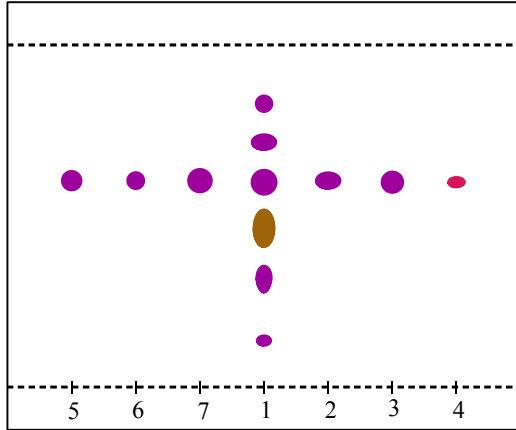
Խառնուրդում առանձին ամինաթթուների որակական անալիզի համար պատրաստում են բոլոր հնարավոր սպասվող ամինաթթուների ստանդարտ լուծույթներ, ՆՇԸ քիթեղի start-ի կենտրոնական մասում տեղադրում են հետազոտվող մնուշը, իսկ նրա աջ և ձախ կողմերում՝ ստանդարտ լուծույթները: Թիթեղը քրոմատոգրաֆացումից և նիհիդրինի լուծույթով մշակելուց հետո ըստ  $R_f$ -ի արժեքի որոշում

Են խառնուրդում պարունակվող ամփնաթթուների իսկությունը: Նկար 15-ում բերված է ամփնաթթվային խառնուրդի ՆՇԶ-ն:



**Նկար 15.** Ամփնաթթվային խառնուրդի ՆՇԶ-ն. խառնուրդի նմուշ (1), պրոլինի (2), ալանինի (3), գլուտամփնաթթվի (4), լեյցինի (5), վալինի (6) և լիզինի (7) ստանդարտ նմուշները

Չնայած սխալի բարձր տոկոսին (մինչև 5%), հաշվի առնելով մեթոդի պարզությունը, ՆՇԶ-ն հաճախ օգտագործվում է նաև ամփնաթթուների քանակական անալիզի համար: Դրա համար նախ որոշվում է խառնուրդի ամփնաթթվային կազմը (որակական անալիզ), որից հետո առանձին ամփնաթթուների կոնցենտրացիան (քանակական անալիզ): Հետագոտվող նմուշում առանձին ամփնաթթվի քանակության որոշման համար այն համեմատվում է նույն ամփնաթթվի մի շարք հայտնի կոնցենտրացիաներով ստանդարտ նմուշների հետ (օրինակ՝ 0.5, 1, 1.5 և 2 գ/լ), որոնք նույն ծավալով կաթեցվում են ՆՇԶ ֆիթեղի վրա հետագոտվող ամփնաթթվի նմուշի կետի աջ և ձախ կողմերում (նկար 16):



**Նկար 16.** ՆՇԶ մեթոդով խառնուրդում ալանիմի քանակության որոշումը.  
 խառնուրդի մմուշ (1), ալանիմի ստանդարտ մմուշներ՝ 0,5գ/լ (2),  
 1,5 գ/լ (3), 0,2 գ/լ (4), 1 գ/լ (5), 0,75 գ/լ (6), 2 գ/լ (7)  
*(ինչպես երևում է նկարից, խառնուրդում  $C_{Ala} \sim 2q/l$ )*

Անհրաժեշտության դեպքում հետազոտվող մմուշը համապատասխան չափով նոսրացվում է թորած ջրով: ՆՇԶ անալիզը նշված ձևով իրականացնելուց հետո համեմատվում են թիթեղի վրա ստացված գունավոր կետերն ըստ մեծության և գույնի ինտենսիվության, ինչպես տեսողական, այնպես էլ սպեկտրալուսաչափական եղանակով: Վերջինիս դեպքում թիթեղից առանձնացվում են առանձին ամինաթթուների գունավորված հետքերը, լցնում են առանձին սրվակների մեջ,  $SiO_2$ -ի շերտից լուծիչով հանում են մանուշակագույնը և որոշում ստացված գունավորված լուծույթների սպեկտրալուսաչափական կլանման գործակիցները ալիքի երկարությունների տեսանելի մարզում:

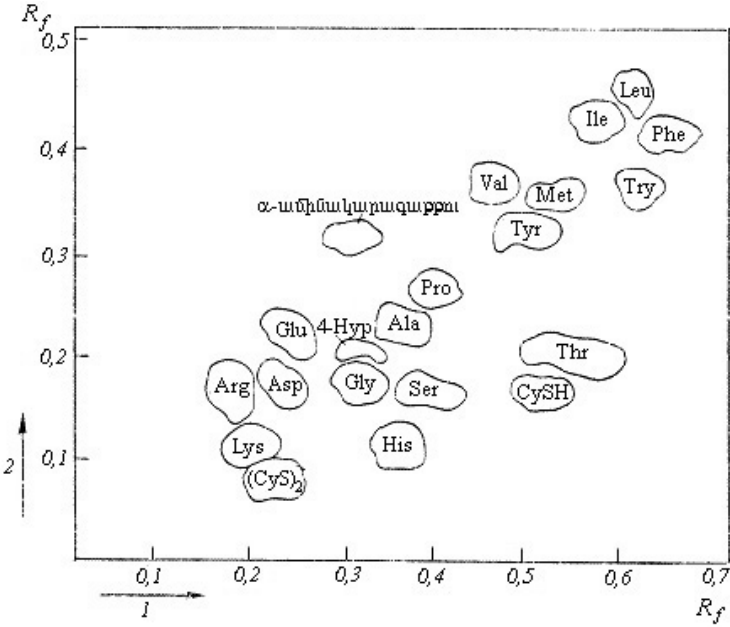
Համեմատելով հետազոտվող ամինաթթվի մմուշի լուծույթի օպտիկական կլանման գործակցի արժեքը նույն ամինաթթվի հայտնի կոնցենտրացիաներով ստանդարտ մմուշների կլանման գործակիցների հետ՝ աստիճանավորման կորերի միջոցով որոշվում են առանձին ամինաթթուների քանակությունները: Դրա համար նախօրոք պետք է առանձին ամինաթթուների համար հայտնի ստանդարտ

կոնցենտրացիաներով լուծույթների օգտագործմամբ ստանալ աստիճանավորման կորեր նույն պայմաններում, նույն քրոմատոգրաֆիական թիթեղների և խցիկների, ամինաթթվային բուֆերի և մին-հիդրինի լուծույթի կիրառմամբ:

**Թղթային քրոմատոգրաֆիայի մեթոդ:** Ամինաթթուների անալիզի այս մեթոդը էությանը նման է նրբաշերտ քրոմատոգրաֆիական անալիզի մեթոդին, այն տարբերությամբ, որ  $\text{SiO}_2$  կամ ցելյուլոզ կրող թիթեղների փոխարեն օգտագործվում է քրոմատոգրաֆիական թուղթ: Հերմետիկ խցիկում հորիզոնական դիրքով տեղադրում են քրոմատոգրաֆիական թուղթը՝ նախապես կաթեցված հետազոտվող ամինաթթվային խառնուրդի և ստանդարտ ամինաթթուների նմուշների լուծույթներով (ինչպես դա արվում է ՆՇԲ թիթեղների դեպքում): Ամինաթթուների խառնուրդը, բուֆերային լուծույթի ազդեցությամբ շարժվելով թղթի մակերևույթով, բաժանվում է առանձին ամինաթթուների, որոնք հետագա չորացման և տաքացման պայմաններում մին-հիդրինի լուծույթով մշակման արդյունքում թղթի վրա առաջացնում են գունավորված հետքեր: Թղթի գունավորված մարզերը (հետքերը) կտրելով առանձնացնում են առանձին սրվակների մեջ, համապատասխան լուծիչների միջոցով թղթից լվանում են գունավոր նյութը և ստացված գունավորված լուծույթների ծավալը չափելուց հետո սպեկտրալուսաչափական եղանակով որոշում են նրանց օպտիկական խտության արժեքները ալիքի երկարության տեսանելի մարզում: Այս մեթոդով խառնուրդում առանձին ամինաթթուների քանակական անալիզի համար նույնպես անհրաժեշտ է օգտագործել հայտնի կոնցենտրացիաներով ամինաթթուների ստանդարտ լուծույթներ: Ավելի հաճախ թղթային քրոմատոգրաֆիայի ժամանակ որպես բուֆերային լուծույթ օգտագործում են ջուր-ֆենոլ-ամոնիակ, ջուր-բուրանոլ-քացախաթթու և այլ լուծիչների խառնուրդները:

Թղթային քրոմատոգրաֆիայի դեպքում ամինաթթվային խառնուրդի անալիզը կարելի է իրականացնել ինչպես միչափանի, այնպես էլ երկչափանի քրոմատոգրաֆիայի տարբերակով: Վերջինս ապահովում է ամինաթթուների առավել արդյունավետ բաժանումը (հատկապես դժվար բաժանվող ամինաթթուների, օրինակ՝ Leu, Ile և

Val դեպքում), քանի որ այս դեպքում հետազոտվող ամինաթթվային խառնուրդը կրող քրոմատոգրաֆիական թղթով լուծահանիչը (մինույն կամ տարբեր) անցկացվում է երկու անգամ տարբեր ուղղություններով: Առաջին անգամ խցիկում լուծահանիչը front-ին հասնելուց հետո թողթը հանվում է, չորացվում և տեղադրվում հաջորդ խցիկում (նույն կամ այլ լուծահանիչ պարունակող), սակայն 90°-ով շրջված վիճակով (տես նկար 17):



**Նկար 17.** Ամինաթթուների խառնուրդի երկչափանի թղթային քրոմատոգրիք Բուֆերներ. 1-ը՝ իզոբութանոլ/տ-բութանոլ/բութանոն-2/ջուր (4/4/8/5) և 0,5% դիէթիլամին, 2-ը՝ n-բութանոլ/քացախաթթու/ջուր (4/1/5)

Այս մեթոդով հնարավոր է ամբողջությամբ բաժանել և նույնականացնել սպիտակուցային հիդրոլիզատների մեջ պարունակվող գրեթե բոլոր ամինաթթուները:

Թղթային քրոմատոգրաֆիայի մեթոդով ամինաթթուների անալիզի ճշգրտության աստիճանը ավելի բարձր է, քան ՆՇՔ մեթոդի

դեպքում: Դա պայմանավորված է ամինաթթուների առավել արդյունավետ բաժանմամբ և քրոմատոգրաֆիական թղթից գունավոր արգասիքների հետքերի ավելի հեշտ և քանակական լվացման հնարավորությամբ:

Թղթային քրոմատոգրաֆիայի մեթոդով ամինաթթուների քանակական անալիզի արդյունավետության բարձրացման նպատակով այն հաճախ համակցում են էլեկտրաֆորեզի մեթոդի հետ, որը այլ կերպ կոչվում է «թղթային էլեկտրաֆորեզ»: Այս դեպքում ամինաթթուների բաժանումը տեղի է ունենում ինչպես քրոմատոգրաֆիական թղթի վրա նրանց տարբեր շարժունակության (R<sub>f</sub>), այնպես էլ իոնացվածության տարբեր աստիճանի շնորհիվ: Այս մեթոդը հատկապես օգտագործվում է ավելի բարդ և բազմաբաղադրիչ ամինաթթվային խառնուրդների քանակական և որակական անալիզի համար:

**Ավտոմատ ամինաթթվային անալիզի մեթոդ:** Ամինաթթուների քանակական անալիզի կատարելագործված տարբերակներից է ավտոմատ սկզբունքով սպեկտրալ սարքավորումների միջոցով անալիզը, որը հիմնված է հեղուկային քրոմատոգրաֆիական անալիզի օրինաչափությունների վրա: Առավել լայն կիրառություն է ստացել AAA-339 տեսակի ամինաթթվային անալիզատորը, որի աշխատանքի սկզբունքը հիմնված է ամինաթթուների խառնուրդի բաժանման և առանձին ամինաթթուների քանակական բնութագրման վրա: Անալիզը կարելի է իրականացնել սպիտակուցների հիդրոլիզատներում, ֆիզիոլոգիական լուծույթներում, կենսասինթեզի արդյունքում առաջացած կուլտուրալ հեղուկներում և այլն: Օրինակ՝ սպիտակուցների հիդրոլիզատներում կարելի է որոշել բոլոր 20 ամինաթթուները, իսկ ֆիզիոլոգիական լուծույթներում մինչև 60 տեսակի նյութեր՝ ազատ ամինաթթուներ, նրանց ածանցյալները և որոշ պեպտիդներ: Ամինաթթվային անալիզատորը կարելի է կիրառել կենսաքիմիական լաբորատորիաներում, առողջապահության, սննդարդյունաբերության և այլ գիտահետազոտական լաբորատորիաներում: Այս մեթոդի դեպքում ամինաթթուների բաժանման հիմքում ընկած է իոնափոխանակային քրոմատոգրաֆիայի սկզբունքը: Կոնկրետ AAA-339 ամին-



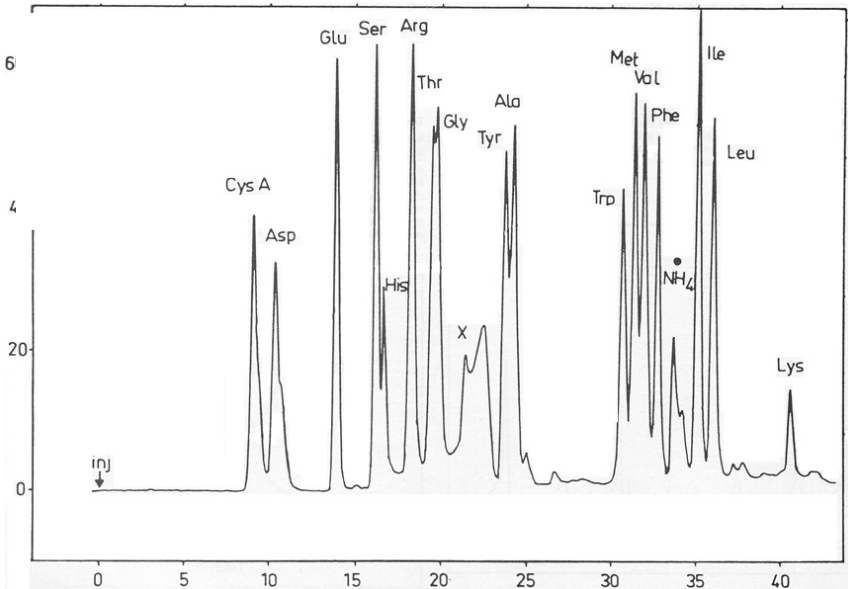
նաթթվային անալիզատորի դեպքում օգտագործվում են Ostion LGANB տեսակի ուժեղ թթվային սուլֆոկատիոնիտով (հատիկների չափսերը՝ ~20-40 մկմ) լցված քրոմատոգրաֆիական աշտարակներ: Ամինաթթվային խառնուրդը նատրիումի կամ լիթիումի կիտրոնաթթվային լուծույթում անց է կացվում աշտարակով, որի ժամանակ խառնուրդը բաժանվում է առանձին բաղադրիչների, որոնք, բարձր ջերմաստիճանի պայմաններում շփվելով նիսիդրիցի լուծույթի հետ, առաջացնում են բնորոշ գունավորումներ: Գունավորման ինտենսիվությունն ուղիղ համեմատական է ամինաթթվի քանակին, այն գրանցվում է ինքնագիր սարքի կողմից և բնութագրում է լուծույթում տվյալ ամինաթթվի կոնցենտրացիան:

AAA-339 ամինաթթվային անալիզատորը կառուցվել է՝ օգտագործելով նախորդ սերունդների ամինաթթվային անալիզատորների արտադրության փորձը, այն օժտված է բարձր զգայունությամբ, խնայողականությամբ, սպասարկման մինիմալ պահանջներով և այլն: Սարքը կազմված է մի քանի համակարգերից՝ նմուշների չափաբաժանման, հիդրավլիկ, հայտածման, ջերմաստիճանի կարգավորման, ծրագրավորման, սնուցման, գրանցման և գնահատման:

Ամինաթթվային անալիզատորն աշխատում է երկու ռեժիմով. հիդրոլիզատների ռեժիմով, որն ավելի կարճ ժամանակ և քիչ քանակով բուֆերներ է պահանջում, և ֆիզիոլոգիական հեղուկների ռեժիմով, որի դեպքում անալիզի ժամանակը երկարաձգվում է, իսկ օգտագործվող բուֆերների քանակը՝ շատանում:

Ներկայումս ամինաթթուների քանակական անալիզի համար օգտագործվում է ժամանակակից բարձր արդյունավետության հեղուկային քրոմատոգրաֆիայի (ԲԱՀՔ) մեթոդը: Սպիտակուցային հիդրոլիզատներում առանձին ամինաթթուների բաժանման ԲԱՀՔ քրոմատոգրիը պատկերված է նկար 18-ում:

Այս մեթոդը այսօր լայնորեն կիրառվում է տարբեր կենսաբանական օբյեկտներում ամինաթթուների և նրանց ածանցյալների որակական և քանակական անալիզի համար:



ժամանակը, րոպե

**Նկար 18.** Պեպտիդային հիդրոլիզատում ամինաթթուների ԲԱՀՔ քրոմատոգրաֆի (o-ֆտալալդեհիդային ածանցյալների տեսքով)

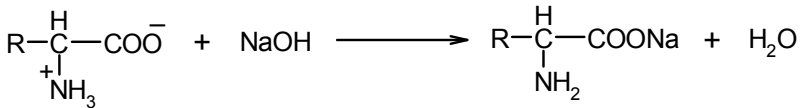
### 1.6. Ամինաթթուների քիմիական հատկությունները

Ամինաթթուների քիմիական հատկություններն առաջին հերթին բնորոշվում են միևնույն ածխածնի ատոմի մոտ գտնվող հիմնային  $\text{NH}_2$  և թթվային  $\text{COOH}$  խմբերի առկայությամբ: Կողքային ռադիկալի խմբերը (արոմատիկ և հետերոցիկլիկ օղակներ,  $\text{SH}$ ,  $\text{OH}$ , լրացուցիչ  $\text{NH}_2$  և  $\text{COOH}$ ) որոշում են ամինաթթուների հատկությունների տարբերությունը և առանձին ամինաթթուներին բնորոշ յուրահատուկ ռեակցիաների իրականացման հնարավորությունը: Սույն գլխում ներկայացվում են ամինաթթուների ընդհանուր ռեակցիաների տեսակները:

### 1.6.1. $\alpha$ -COOH խմբի ռեակցիաները

**Աղերի առաջացում:** Իզոլէկտրիկ կետից բարձր pH-ի արժեքների դեպքում ամինաթթուները հիմքերի հետ առաջացնում են ջրում լավ լուծվող աղեր (սխեմա 3):

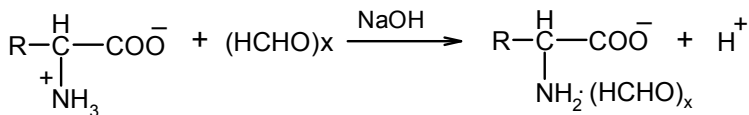
#### Սխեմա 3



Հիմքերի հետ որոշ ամինաթթուներ կարող են առաջացնել բուֆերային լուծույթներ: Գրանցից որոշները, օրինակ՝ նատրիումի կարբոնատի հետ գլիցինի և հիստիդինի առաջացրած բուֆերային լուծույթները, լայն կիրառություն են գտել կենսաքիմիայում:

**Կարբօսիլային խմբով տիտրում (ֆորմոլային տիտրում):** Ամինաթթուների ֆորմոլային տիտրումը ջրում համարվում է մեծ ճշտության մեթոդ: Ամինաթթուն հիմնային միջավայրում նախօրոք մշակում են ֆորմալինով, ինչի արդյունքում առաջանում է ածանցյալ, որի հիմնայնությունը թուլացված է, իսկ դա նշանակում է՝ կարբօսիլային խումբը կարելի է տիտրել հիմքով պոտենցիոմետրիկ եղանակով կամ pH 9 արժեքին մոտ գույնի փոփոխման մարգով ինդիկատորի ներկայությամբ (ֆենոֆտալեին, տիմոֆտալեին): Գրինշտեյնը և Վինիցը գտնում են, որ հավանաբար ֆորմալդեհիդը ռեակցում է  $\text{NH}_2$  խմբի իոնական ձևի հետ (սխեմա 4):

#### Սխեմա 4

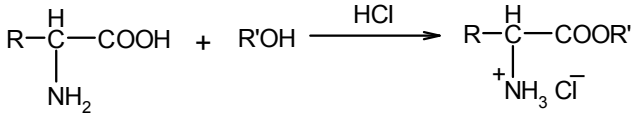


Ֆորմոլային տիտրումը կիրառվում է ազատ ամինաթթուների հայտնաբերման, նրանց խառնուրդների հետազոտման, ինչպես նաև

սպիտակուցային հիդրոլիզատներից ամինաթթուների անջատման գործընթացները հսկելու համար:

**Էսթերների առաջացում:** Ամինաթթուների մեթիլ կամ էթիլ էսթերները ստանում են բացարձակ մեթանոլում կամ էթանոլում ամինաթթվի կախույթահեղուկով չոր քլորաջրածին անցկացնելով (սխեմա 5):

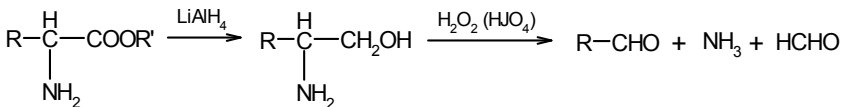
### Սխեմա 5



Ամինաթթուների մեթիլ և էթիլ էսթերները հեշտությամբ անջատվում են հիմքերի ազդեցությամբ: Ամինաթթուները էսթերների տեսքով ավելի ռեակցիոնունակ են, քան ազատ վիճակում: Դրանք կիրառվում են որպես միջանկյալ միացություններ սպիրտների, ամիդների, հիդրազիդների, ազիդների և այլ ածանցյալների ստացման գործընթացներում: Ամինաթթուների բենզիլային, p-նիտրոֆենիլային և թիոֆենիլային էսթերները լայնորեն կիրառվում են պեպտիդային սինթեզում՝ որպես պաշտպանող և ակտիվացնող խմբեր:

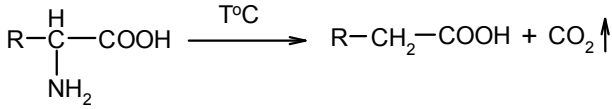
**Կարբոքսիլային խմբի վերականգնումը:** Ամինաթթուները  $\text{LiAlH}_4$ -ի կամ  $\text{LiBH}_4$ -ի ներկայությամբ վերականգնվում են՝ առաջացնելով ամինասպիրտներ: Ընդ որում՝ ամինաթթուների էսթերները ավելի հեշտ են վերականգնվում, քան ազատ ամինաթթուները: Առաջացած ամինասպիրտի օքսիդացման արդյունքում առաջանում են համապատասխան ալդեհիդ, ամոնիակ և ֆորմալդեհիդ (սխեմա 6):

### Սխեմա 6



**Ռեկարբոքսիլում:** Ամինաթթուները պինդ վիճակում բարձր եռման ջերմաստիճանով լուծիչների հետ տաքացնելու դեպքում ենթարկվում են դեկարբոքսիլման (սխեմա 7):

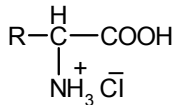
### Սխեմա 7



Այս ռեակցիան ընթանում է նաև ֆերմենտատիվ եղանակով դեկարբօքսիլազ ֆերմենտների ազդեցությամբ, որը կիրառություն է գտել արտադրական պրակտիկայում, օրինակ՝ *L*-ասպարագինաթթվից *L*-ալանին ստանալու համար:

#### 1.6.2. $\text{NH}_2$ խմբի ռեակցիաները

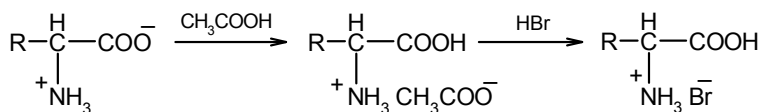
**Աղերի առաջացումը:** Հանքային թթուների (աղաթթվի և ծծմբական թթվի) հետ ամինաթթուների առաջացրած աղերը ավելի լավ են լուծվում ջրում, քան ազատ ամինաթթուները: Ավելի տարածված են ամինաթթուների աղաթթվային աղերը, որոնք կոչվում են հիդրոքլորիդներ կամ քլորհիդրատներ: Օքսիդացման նկատմամբ քիչ կայուն ամինաթթուները արտադրվում և պահպանվում են հիդրոքլորիդների տեսքով (օրինակ՝ ցիստեինը,  $\beta$ -N-ամինոտեղակալված  $\alpha$ -ամինաթթուները և այլն):



Ամինաթթուների աղերը օրգանական թթուների (պիկրինաթթվի, պիկրոլոնաթթվի) հետ, ընդհակառակը, ջրում վատ լուծվող են, ինչի պատճառով դրանք օգտագործվում են ամինաթթուների բաժանման և նույնականացման գործընթացներում:

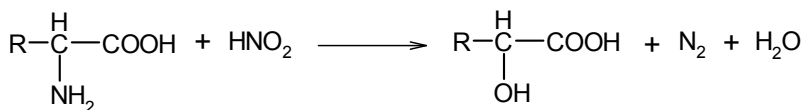
**Ամինային խմբով տիտրում:**  $\text{NH}_2$  խմբի տիտրումը աղաթթվով, ծծմբական թթվով կամ բրոմաջրածնական թթվով իրականացվում է սառցային քացախաթթվի միջավայրում, որտեղ ամինաթթուն կարբօքսիլային խմբի դիսոցման ճնշման հետևանքով դառնում է ուժեղ հիմնային (սխեմա 8):

### Սխեմա 8



**Ազոտային թթվի հետ ռեակցիան:** Առաջնային ամինային խումբ ( $\text{NH}_2$ ) պարունակող ամինաթթուները, փոխազդելով ազոտային թթվի հետ, վերածվում են համապատասխան օքսիթթուների (սխեմա 9):

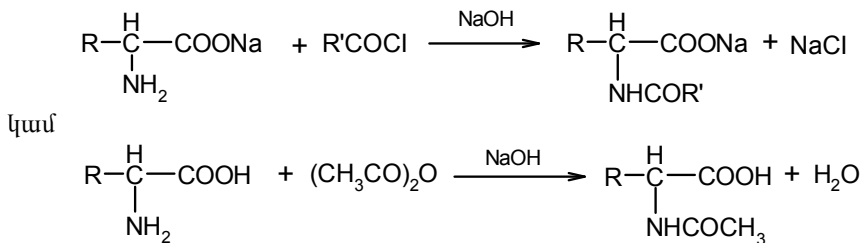
### Սխեմա 9



Այդ ռեակցիան ընկած է ազոտի որոշման Վան Սլայկի մեթոդի հիմքում, որի դեպքում գազաչափական եղանակով չափվում է անջատված գազի ծավալը: Դեգամինացման ռեակցիան կիրառություն է գտել նաև *L*-պրովինի մանրէաբանական սինթեզի արդյունքում առաջացած կուլտուրալ հեղուկից նպատակային ամինաթթվի անջատման տեխնոլոգիայում:

**N-ացիլում:** Ամինաթթուների  $\text{NH}_2$  խումբը կարբոնաթթուների անհիդրիդների կամ քլորանհիդրիդների ազդեցությամբ հիմնային միջավայրում հեշտությամբ ենթարկվում է N-ացիլման (Շոթեն Բաումանի ռեակցիա) (սխեմա 10):

### Սխեմա 10

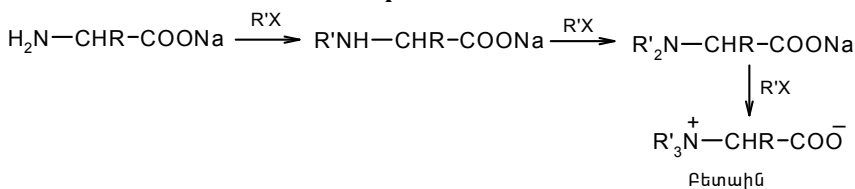


Ամինաթթուների N-ացիլված ածանցյալները (ֆորմիլային, ֆտալիլային, տոզիլային, նիտրոֆենիլսուլֆոնիլային, դանսիլա-

յին, կարբոքենգօքսիլային, *տրեպ*-բութիլօքսիկարբոնիլային և այլն) լայնորեն կիրառվում են պեպտիդային սինթեզում՝ որպես NH<sub>2</sub> խմբի պաշտպանման միջոց:

**N-ալկիլում:** Ամինաթթուները ալկիլիալոզենիդների ազդեցությամբ առաջացնում են մոնո-, դի- և տրիալկիլ տեղակալված ածանցյալներ: Ամինաթթուների տրիալկիլային ածանցյալներն իրենցից ներկայացնում են չորրորդային ամոնիումային աղեր, որոնց ներքին աղերը կոչվում են բետաիններ (սխեմա 11):

### Սխեմա 11



Գրանցից տրիտիլային (տրիֆենիլմեթիլային), դինիտրոֆենիլային և այլ N-ալկիլված ամինաթթուները լայնորեն կիրառվում են պեպտիդների սինթեզում և սպիտակուցների առաջնային կառուցվածքի որոշման գործընթացներում:

**Շիֆի հիմքերի առաջացում:** Ամինաթթուները, որպես առաջնային ամիններ, փոխազդում են ալդեհիդների հետ՝ առաջացնելով Շիֆի հիմքեր (սխեմա 12):

### Սխեմա 12



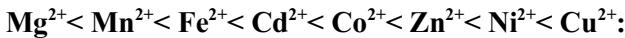
Այս ռեակցիայի հիման վրա մշակվել են որոշ ամինաթթուների նույնականացման մեթոդներ: Ռեակցիան իրականացվում է սառցային քացախաթթվում, և հետագուտվում է առաջացած արգասիքի կլանումը ուլտրամանուշակագույն մարզում: Օրինակ՝ բազմաթիվ ամինաթթուներ, փոխազդելով ֆուրֆուրոլի հետ, առաջացնում են կլանման մաքսիմում 360-380 մկմ ալիքի մարզում, իսկ լիզին և օրնի-

թին դիամինաթթուները այդ նույն պայմաններում տալիս են երկրորդ կլանման մասսիմումը՝ 515-530 մկմ ալիքի մարզում և այլն: Այս մեթոդը թույլ է տալիս քանակապես որոշել լիզինի, օրնիթինի և օքսիպրովինի կոնցենտրացիաները ինչպես ինդիվիդուալ մաքուր լուծույթներում, այնպես էլ սպիտակուցային հիդրոլիզատներում:

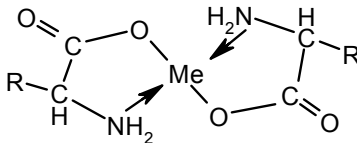
Շիֆի հիմքերի առաջացման ռեակցիաները կիրառություն են ստացել նաև մանրէաբանական սինթեզի կուլտուրալ հեղուկներից և այլ ամինաթթվային խառնուրդներից *L*-պրովինի անջատման տեխնոլոգիաներում:

### 1.6.3. COOH և NH<sub>2</sub> խմբերի համապեղ ռեակցիաները

**Մետաղակոմպլեքսների առաջացում:** Գրեթե բոլոր ամինաթթուները երկվալենտ մետաղների իոնների հետ առաջացնում են կոմպլեքսային միացություններ: Կոմպլեքսների կայունությունը աճում է մետաղի իոնների հետևյալ շարքով.



Մետաղակոմպլեքսներն իրենցից ներկայացնում են խելատային միացություններ:



Դրանց ջրային լուծույթները օժտված են ցածր էլեկտրահաղորդականությամբ:

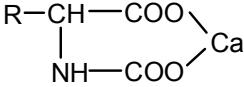
Պղնձի ամինաթթվային կոմպլեքսներն օգտագործում են անալիտիկական նպատակներով: Ամինաթթուն և պղնձի աղը լուծում են թույլ հիմնային լուծույթներում և յոդոմետրիկ կամ կալորիամետրիկ եղանակով որոշում են պղնձի իոնի կոնցենտրացիան:

Կոորդինացիոն կապերի և վալենտային անկյունների ոչ բավարար ամրության պատճառով այս կոմպլեքսները, որպես ելային ամին-



նաթթվային սինտոններ, կիրառություն չեն գտել ամինաթթուների սինթեզի ռեակցիաներում: Բարձր կայունությամբ են օժտված այն մետաղակոմպլեքսները, որոնց կառուցվածքում ամինաթթվային մնացորդը կապված է մետաղի իոնի կոորդինացիոն թաղանթին որևէ կարբոնիլային միացության հետ առաջացրած Շիֆի հիմքի համակարգով: Նման կոմպլեքսները լայնորեն կիրառվում են պարզ ամինաթթուներից ավելի բարդ ամինաթթուների սինթեզի գործընթացներում:

**Փոխազդեցությունը ածխաթթու գազի հետ:** Ամինաթթուները, հիմնային միջավայրում ռեակցելով ածխաթթու գազի հետ, փոխարկվում են N-կարբօքսիամինաթթուների, որոնք լուծույթից նստեցվում են աղերի տեսքով (օրինակ՝ կալցիումական աղի):

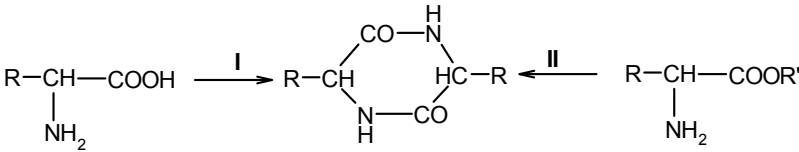


Այդ աղերից որոշներն ունեն ցածր լուծելիություն ջրում և օգտագործվում են ամինաթթուների անջատման համար: Ջրային լուծույթների եռման ժամանակ N-կարբօքսիամինաթթուները քայքայվում են:

**Նինհիդրինի հետ ռեակցիան:** Այդ ռեակցիան բավականին լայն կիրառություն է ստացել և մանրամասն ներկայացված է անալիզի բաժնում (տե՛ս գլուխ 1.5.):

**Գիկետոպիպերազինների առաջացումը:** α-ամինաթթուները և նրանց էսթերները տաքացման ժամանակ ցիկլվում են՝ առաջացնելով վեցանդամանի ցիկլիկ 2,5-դիկետոպիպերազիններ կամ ցիկլիկ դիպեպտիդներ (սխեմա 13):

**Սխեմա 13**



Ամենապարզ դիկետոպիպերազինը՝ գլիցինի անհիդրիդը, մինչև 62% քիմիական ելքով սինթեզվել է գլիցինից էթիլենգլիկոլի միջավայրում մինչև 174-176°C տաքացման պայմաններում: Առաջացած դիկետոպիպերազինի թթվային քայքայումը բերում է Gly-Gly դիպեպտիդի առաջացմանը: Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ ազատ ամինաթթուներից դիկետոպիպերազինները ստացվում են բավականին ցածր ելքերով, ինչի պատճառով այդ նպատակի համար հիմնականում օգտագործում են ամինաթթուների էսթերներ (II ուղի): Օրինակ՝ գլիցինի մեթիլ կամ էթիլ էսթերները վերածվում են դիկետոպիպերազինի նույնիսկ ջրային լուծույթում սենյակային ջերմաստիճանի (20-25°C) պայմաններում:

## **Գլուխ 2. Ամինաթթուների ստացման մեթոդները**

Ամինաթթուների արտադրության արդյունավետ տեխնոլոգիաների մշակումը հանդիսանում է քիմիական և կենսաբանական գիտությունների գերակա խնդիրներից մեկը: Ամինաթթուների ստացման մեթոդների նկատմամբ նման բարձր հետաքրքրությունը պայմանավորված է ժողովրդական տնտեսության տարբեր բնագավառներում նրանց տարեցտարի աճող կիրառական նշանակությամբ: Իսկ դա բացատրվում է օրգանիզմում և օրգանիզմ ներմուծվող սննդում սպիտակուցների պակասով, ինչը առաջ է բերում անցանկալի երևույթներ մարդկանց և հատկապես երեխաների մոտ: Դա հատկապես վերաբերում է անփոխարինելի ամինաթթուներին, որոնք չեն սինթեզվում օրգանիզմում և ներմուծվում են դրսից սննդի հետ:

20-րդ դարի սկզբում ամինաթթուների ստացման հիմնական եղանակը համարվում էր սպիտակուցային հիդրոլիզատներից նրանց անջատումը: Ներկայումս այդ եղանակը կիրառվում է միայն այն ամինաթթուների դեպքում, որոնց արտադրության համար դեռևս բարձրակտիվ շտամ-արտադրիչներ (մանրէաբանական սինթեզ) և էնզիմներ (կենսակատալիտիկ սինթեզ) ստացված չեն: Այդպիսի ամինաթթուներից է, օրինակ, ցիստինը, որն անջատվում է խոշոր եղջերավոր անասունների սմբակներից և եղջյուրներից, իսկ որի էլեկտրաքիմիական վերականգնմամբ ստանում են ցիստեին ամինաթթուն:

Այսօր ամինաթթուների արտադրության հիմնական եղանակը հանդիսանում է կենսատեխնոլոգիական (մանրէաբանական սինթեզ, կենսատրանսֆորմացիա, խառը քիմիա էնզիմատիկ սինթեզ) եղանակը, իսկ ոչ սպիտակուցային ամինաթթուների դեպքում՝ ասիմետրիկ քիմիական սինթեզը:

### **2.1. Մանրէաբանական սինթեզ**

Ամինաթթուների մանրէաբանական սինթեզը հիմնված է ակտիվ շտամ-արտադրիչների կիրառման վրա: Ներկայումս բացի մեթիոնինից և ցիստեինից՝ մնացած բոլոր ամինաթթուների համար ստաց-

ված են ակտիվ շտամ-արտադրիչներ, և մշակված են նրանց արտադրական կենսատեխնոլոգիաները: *L*-մեթիոնինի արտադրությունը իրականացվում է խառը քիմիաէնզիմատիկ եղանակով, իսկ ցիստեինը ստանում են ցիստինի էլեկտրաքիմիական վերականգնմամբ: Վերջինս անջատվում է խոշոր եղջերավոր անասունների եղջյուրներից և սմբակներից: Բացի մանրէաբանական սինթեզից՝ որոշ ամինաթթուների արտադրության գործընթացներում կիրառություն է ստացել կենսատրանսֆորմացիայի եղանակը, օրինակ՝ *L*-ասպարագինաթթվի և *L*-ալանինի համար:

Ամինաթթուների մանրէաբանական սինթեզը պայմանականորեն կարելի է ստորաբաժանել երեք հիմնական էտապների: Դրանք են՝

- շտամ-արտադրիչի ստացում,
- կենսասինթեզ շտամ-արտադրիչի կիրառմամբ,
- կենսասինթեզի արգասիք կուլտուրալ հեղուկից նպատակային ամինաթթվի անջատում և մաքրում:

Ամինաթթուների մանրէաբանական սինթեզի հիմնական առանձնահատկությունը կայանում է նրանում, որ նպատակային նյութի մոլեկուլի կմախքը կազմավորվում է կենսասինթեզի փուլում, իսկ կենսատրանսֆորմացիայի դեպքում նյութի կմախքը պատրաստի տրվում է պրոցես, և տեղի է ունենում խմբերի փոխանակում:

Մանրէաբանական եղանակով ամինաթթուների արտադրության համար անհրաժեշտ են հատուկ շտամ-արտադրիչներ, քանի որ միկրոօրգանիզմները ցանկացած ամինաթթու սինթեզում են որոշակի քանակությամբ՝ սահմանափակելով դրանց գերարտադրությունը:

Ամինաթթուների կենսասինթեզը հստակ համաձայնեցված է դրանց պահանջարկի հետ բարդ կարգավորիչ մեխանիզմով ինչպես գենների, այնպես էլ նրանց արգասիքների՝ ֆերմենտների կենսասինթեզի մակարդակով: Ֆերմենտների մակարդակով կենսասինթեզի կարգավորումը կատարվում է բջջում գտնվող ֆերմենտների ակտիվության արգելակման ճանապարհով: Արգելակումը տեղի է ունենում ամինաթթուների ավելցուկի դեպքում, ընդ որում՝ որպես կանոն՝ վերջնանյութով, այսինքն՝ ամինաթթվով հետադարձ արգելակման (ռետ-

րոհնհիբիցման) է ենթարկվում տվյալ ամինաթթվի կենսասինթետիկ ուղու առաջին էտապի ֆերմենտը:

Ամինաթթուներ ընդունակ են արտադրել միայն կենսասինթեզի կարգավորման մեխանիզմի գենետիկական փոփոխություններով միկրոօրգանիզմների մուտանտ շտամները: Այդպիսի շտամներ ստանալու համար օգտագործում են բազմաթիվ գենետիկական և սելեկցիոն մեթոդներ, որոնք բերում են նպատակային ամինաթթվի կենսասինթեզի ապակարգավորմանը և որպես հետևանք՝ նպատակային ամինաթթվի արտադրությանը: Սակայն բոլոր դեպքերում հատուկ սելեկցիոն մեթոդներով անջատվում են մուտանտներ, որոնք ձեռք են բերում որևիցե ամինաթթու գերսինթեզելու հատկություն, կամ որոնց մոտ այդ հատկությունն էլ առավել է դրսևորվում:

Արդյունաբերությունում օգտագործվող բարձրակտիվ շտամ-արտադրիչները, որպես կանոն, ստացվում են տարբեր մուտագենների ազդեցությամբ բազմափուլ սելեկցիայի արդյունքում և համատեղում են գենետիկական մուտացիաներ, որոնք բերում են կարգավորման մեխանիզմների տարբեր խախտումների: Կարևոր նշանակություն ունի նաև ելային շտամի ընտրությունը: *Corynebacteriaceae* ցեղին պատկանող (կորինեֆորմ) մանրէները, որոնք ի սկզբանե անջատվել են բնական աղբյուրներից, որպես գլուտամինաթթու արտադրող շտամներ, այսօր իրենց տեխնոլոգիական հատկություններով համարվում են արդյունաբերության պահանջներին առավելապես համապատասխանող մանրէներ և լայնորեն կիրառվում են տարբեր ամինաթթուների բազմատոննաժ արտադրություններում: Օրինակ՝ *L*-պրովինի բարձրակտիվ շտամ-արտադրիչները ստացվել են *Brevibacterium flavum* 14067 վայրի տեսակի շտամի հիման վրա, քանի որ այն *L*-գլուտամինաթթվի բնական արտադրիչ է, իսկ վերջինս հանդիսանում է *L*-պրովինի կենսասինթեզի անմիջական նախորդը: Բազմապատիկ մուտագենեզի ճանապարհով ստացվել են մեծ քանակությամբ մուտանտներ, որոնց տեխնոլոգիական հատկությունների ուսումնասիրության արդյունքում ընտրվել են շտամներ, որոնք ցուցաբերում են մինչև 100 գ/լ կոնցենտրացիայով *L*-պրովին արտադրելու ակտիվություն:

Վերջին տարիներին ամինաթթուների շտամ-արտադրիչների ստացման բնագավառում լայն կիրառություն են գտել գենային ինժեներիայի մեթոդները, որոնց հիմնական նպատակն է ավելացնել ամինաթթուների սինթեզը պայմանավորող գեների քանակը (չափաբաժինը) բջջի բնական քրոմոսոմային ԴՆԹ-ում: Գենային ինժեներիայի կիրառումը չափազանց մեծ դեր է խաղում ամինաթթուների բարձր ակտիվությամբ շտամ-արտադրիչներ ստանալու գործընթացում: Եթե մինչև 1980-ական թվականները ամինաթթուների լայնածավալ արտադրություններում օգտագործվող շտամները ստացվել էին դասական գենետիկական մեթոդներով (մուտագենեզ և սելեկցիա), ապա այսօր գերադրյունավետ շտամ-արտադրիչներ ստանալու գործընթացներում որոշիչ է գենային ինժեներիայի մեթոդների կիրառումը: Դրանց շնորհիվ հնարավոր է դարձել ոչ միայն բարձրացնել շտամի կենսասինթետիկ ակտիվությունը և ստանալ գերարտադրիչներ, այլ նաև բարելավել նրանց տեխնոլոգիական ցուցանիշները, մասնավորապես ապահովել պարզ և էժան հումքի օգտագործումը, շաքարի արագ յուրացումը, ֆերմենտացիայի տևողության կրճատումը, կուլտուրալ հեղուկում նպատակային ամինաթթվի առավելագույն և ուղեկցող ամինաթթուների նվազագույն պարունակությունը և այլն:

Շտամ-արտադրիչների ստացման գործընթացներում գենետիկայի, սելեկցիայի և գենային ինժեներիայի ժամանակակից մեթոդների համակցումը նոր հնարավորություններ է բացում տարբեր բնույթի և նշանակության ամինաթթուների նոր և կատարելագործված գերարտադրիչ շտամների ստեղծման և նրանց հենքի վրա արդյունավետ արտադրական տեխնոլոգիաների մշակման համար:

Շտամ-արտադրիչների ստացման փուլին հաջորդում է նրանց կիրառմամբ նպատակային ամինաթթվի կենսասինթեզի փուլը, որտեղ արտադրական կենսառեակտորներում իրացվում է շտամ-արտադրիչի ակտիվությունը, և արդյունքում արտադրվում են նպատակային և ուղեկցող ամինաթթուներ:

Կենսասինթեզը իրականացվում է մի քանի ենթափուլերով: Սկզբում լաբորատոր կուլբաներում, իսկ այնուհետև ցանքսային

ապարատներում (կամ լաբորատոր ֆերմենտատորում) բազմացնում են շտամ-արտադրիչը և ստանում են ցանքսանյութ, որն այնուհետև տեղափոխվում է կենսառեակտոր, որտեղ իրականացվում է նպատակային ամինաթթվի կենսասինթեզը: Ցանքսանյութի ստացման ենթափուլում, ինչպես նաև կենսասինթեզի տրոֆոֆագում (առաջին 24 ժամ) կուտակվում է կենսազանգված, և սինթեզվում են անհրաժեշտ առաջնային մետաբոլիտները (սպիտակուցներ, ֆերմենտներ և այլն), իսկ կենսասինթեզի հիմնական փուլում (իդիոֆագում) սկսվում է ամինաթթուների սինթեզը, և կուլտուրալ հեղուկում, բացի նպատակային ամինաթթվից, կուտակվում են նաև ուղեկցող ամինաթթուները:

Կախված կենսասինթեզի իրականացման տեխնոլոգիայից՝ կենսառեակտորները (ֆերմենտատորները) լինում են պարբերական, կիսասանրնդիատ և անրնդիատ: Ամինաթթուների արտադրության ժամանակ հիմնականում օգտագործվում են պարբերական, իսկ որոշ դեպքերում՝ կիսասանրնդիատ ռեժիմով աշխատող կենսառեակտորներ: Ամինաթթուների կենսասինթեզը իրականացվում է ստերիլ և աէրոբ պայմաններում:

Կենսասինթեզի համար անհրաժեշտ է նպատակային միացության մոլեկուլի կազմում գտնվող բոլոր էլեմենտների աղբյուրների առկայությունը սննդամիջավայրում: Ամինաթթուների կենսասինթեզի սննդամիջավայրերում որպես ածխածնի և ջրածնի աղբյուր օգտագործում են շաքար (կամ շաքարի արտադրության թափոն մելասա) կամ ալյուր (ցորենի, եգիպտացորենի կամ սոյայի), որպես ազոտի աղբյուր՝ տարբեր ազոտային աղեր, օրինակ՝ ամոնիումի նիտրատ, որպես թթվածնի աղբյուր՝ ստերիլ օդ և այլն:

Ամինաթթուների կենսասինթեզի արդյունավետությունը կախված է մի շարք գործոններից, առաջին հերթին՝ շտամ-արտադրիչների ակտիվությունից: Ներկայումս ամինաթթուների մանրէաբանական արտադրության բնագավառում կիրառություն են գտել գենետիկական սելեկցիայի և գենային ինժեներիայի եղանակներով ստացված բազմաթիվ շտամ-արտադրիչներ: Օրինակ՝ *L*-պրոլինի (95 գ/լ), *L*-վալինի (70 գ/լ), *L*-լեյցինի (35 գ/լ), *L*-իզոլեյցինի (27 գ/լ), *L*-արգինինի (35 գ/լ), *L*-հիստիդինի (19 գ/լ), *L*-սերինի (25 գ/լ), *L*-թրեոնինի (130

գ/լ), *L*-տրիպտոֆանի (17 գ/լ), *L*-օրնիթինի (58 գ/լ), *L*-գլուտամինաթթվի (110 գ/լ), *L*-լիզինի (120 գ/լ) և այլ շտամներ, որոնք այսօր կիրառություն են ստացել արդյունաբերական մասշտաբներով:

Ամինաթթուների կենսասինթեզի ժամանակ կարևորագույն տեխնոլոգիական գործոններից է թթվածնի մատակարարումը, որն անհրաժեշտ է աճող և սինթեզող շտամ-արտադրիչին: Աերոբ կուլտուրաների համար թթվածինը համարվում է ոչ միայն էլեկտրոնների ակցեպտոր, այլև կարգավորում է շնչառական շղթայի ողջ ֆերմենտային համակարգի գործունեությունը:

Ջրածնի իոնների կոնցենտրացիան (pH) ազդում է ինչպես էկզոգեն (արտաքին), այնպես էլ էնդոգեն (ներքին) ֆերմենտային համակարգերի վրա: Այդ իսկ պատճառով pH-ի արժեքի տիրույթի ճիշտ ընտրությունը խիստ կարևոր է կենսասինթեզի ընթացքում ամինաթթվի բարձր ակտիվության ապահովման համար:

Ջերմաստիճանը նույնպես ազդում է բջիջներում ընթացող ռեակցիաների արագության վրա: Ընդ որում՝ բարձր և ցածր ջերմաստիճանները միանշանակ չեն ազդում միկրոօրգանիզմների վրա: Բարձր ջերմաստիճանը բերում է սպիտակուցային շղթայի դենատուրացիայի՝ խախտելով գործող ֆերմենտների ակտիվությունը, որն էլ իր հերթին բերում է բջիջների կենսագործունեության ճնշմանը: Ցածր ջերմաստիճանը կենսասինթեզի ընթացքում չի ինակտիվացնում ֆերմենտներին, սակայն նվազեցնում է ֆերմենտատիվ ռեակցիաների արագությունը, որն էլ բացասական ազդեցություն է ունենում կենսասինթեզի ընթացքի վրա:

Ելնելով վերը շարադրվածից՝ մանրէաբանական եղանակով ամինաթթուների ստացման ժամանակ անհրաժեշտ է ուսումնասիրել և օպտիմալացնել տեխնոլոգիական պարամետրերը, որոնք կարող են փոփոխվել կենսասինթեզի ընթացքում՝ կախված կուլտուրայի աճման դինամիկայից: Ամինաթթուների ստացման տեխնոլոգիական պարամետրերի ուսումնասիրությունը և նրանց օպտիմալացումը կատարվում են լաբորատոր ֆերմենտատորներում, որոնք այնուհետև վերարտադրվում են կիսարտադրական և արտադրական ֆերմենտատորներում:



Տեխնոլոգիական պարամետրերի ճիշտ գնահատման դեպքում պրոցեսը կարելի է ուղղորդել նպատակային ամինաթթվի գերսինթեզի ուղղությամբ՝ կրճատելով ֆերմենտացիայի տևողությունը և ուղեկցող ամինաթթուների քանակը:

Կենսասինթեզի արդյունքում առաջացած կուլտուրալ հեղուկներից (ֆերմենտացման լուծույթներ) բժշկական նշանակության մաքրությամբ նպատակային ամինաթթուների անջատման և մաքրման տեխնոլոգիան կազմված է հետևյալ հիմնական փուլերից.

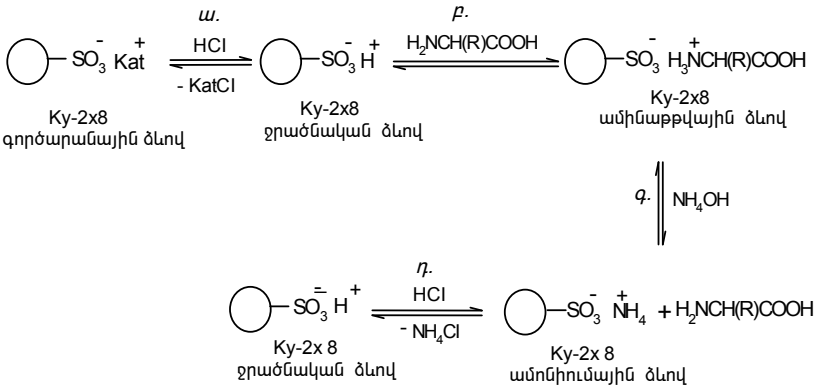
- կուլտուրալ հեղուկի նախնական մաքրում, ամինաթթվային խառնուրդի ստացում,
- ամինաթթվային խառնուրդից նպատակային ամինաթթվի անջատում,
- նպատակային ամինաթթվի գերմաքրում:

Կուլտուրալ հեղուկի նախնական մշակման փուլում իրականացվում է կենսասինթեզի ընթացքում չյուրացված շաքարի, առաջացած կենսազանգվածի, ամինաշաքարների, որոշ անօրգանական աղերի և այլ բալաստային (ոչ պետքական) միացությունների հեռացում տեխնիկական արգասիքի առաջացմամբ: Տեխնիկական խառնուրդն իրենից ներկայացնում է կենսասինթեզի արդյունքում առաջացած ամինաթթվային խառնուրդը որոշ անօրգանական և օրգանական աղերի և գունավորված պիգմենտների պարունակությամբ: Լաբորատոր պայմաններում դա իրականացվում է ցեմտրիֆուգմամբ, իսկ արտադրական պայմաններում՝ սեպարացմամբ և դեկանտմամբ: Ընդ որում՝ մինչև ցեմտրիֆուգումը կուլտուրալ հեղուկը թթվեցվում է ծծմբական թթվով (մինչև  $pH=2$ ), ինչը նպաստում է հեղուկից որոշ բալաստային միացությունների քանակական նստեցմանը: Օրինակ՝  $Ca^{2+}$  իոնը, որն ավելի մեծ քանակությամբ է պարունակվում սնուցող միջավայրում կավճի տեսքով, ծծմբական թթվի ազդեցությամբ վերածվում է  $CaSO_4$ -ի և նստվածքի ձևով հեշտությամբ հեռացվում: Ծծմբական թթվի ազդեցությամբ ֆերմենտներն ու այլ սպիտակուցային բնույթի բարձրամոլեկուլային միացությունները ենթարկվում են

դենատուրացման և նստվածքագոյացման, ինչը բավականին հեշտացնում է նրանց հեռացման պրոցեսը:

Կախված ցենտրիֆուգումից հետո առաջացած լուծույթի մաքրության աստիճանից՝ հաճախ այն լրացուցիչ ենթարկվում է իոնափոխանակային մաքրման: Դրա համար իրականացվում են ամփնաթթուների իոնափոխանակային սորբցիա և դեսորբցիա կատիոնափոխանակային խեժերի կիրառմամբ: Օրինակ՝ այդ նպատակների համար ավելի հաճախ օգտագործվում են սուլֆոկատիոնափոխանակային Dowex-50x8 (ԱՄՆ) և Ky-2x8 (ՌԴ) տեսակի խեժերը՝ *Հ*<sup>+</sup> կամ *ՆH<sub>4</sub><sup>+</sup>* ձևերով: Մխենա 14-ում բերված են Ky-2x8 խեժի մակերևույթին ընթացող իոնափոխանակային ռեակցիաները՝ *ս*. ջրածնական (*Հ*<sup>+</sup>) ձևի ստացում, *բ*. ամփնաթթվային ձևի ստացում, *գ*. ամոնիումային ձևի ստացում, *դ*. ելային ջրածնական (*Հ*<sup>+</sup>) ձևի վերականգնում (ռեգեներացում):

### Մխենա 14



Խեժը ջրածնական ձևի տեղափոխելու համար իոնափոխանակային խեժով լցված աշտարակով անցկացվում է 3 ծավալաբաժին 5% HCl ջրային լուծույթ, որից հետո խեժը թորած ջրով լվացվում է մինչև աշտարակից դուրս եկած հեղուկի pH-ի չեզոք արժեքը: Ամփնաթթուների սորբցիայի և դեսորբցիայի համար *Հ*<sup>+</sup> ձևի Ky-2x8 կամ Dowex-50x8 տեսակի խեժով բեռնված աշտարակով անցկացվում է

կուլտուրալ հեղուկի ցենտրիֆուգման արդյունքում առաջացած սուպերնանտը:

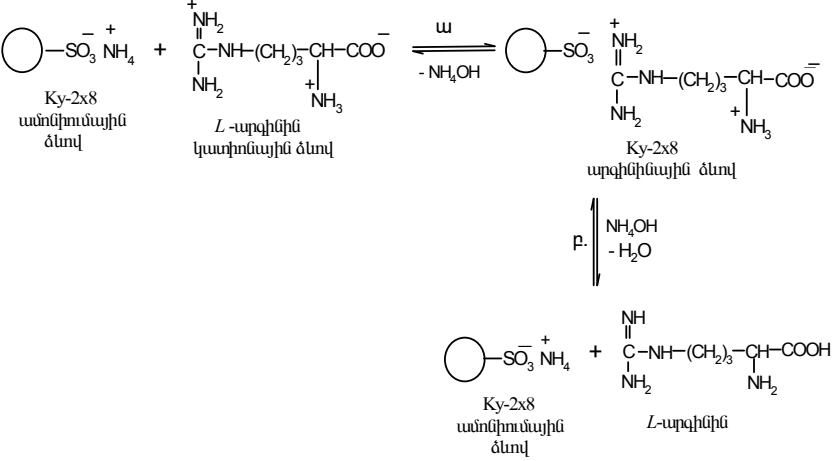
Սորբցիայի պրոցեսը հարմար է հսկել նրբաշերտ քրոմատոգրաֆիայի մեթոդով աշտարակից դուրս եկող լուծույթում ամինաթթուների քանակության որոշմամբ: Ամինաթթուների հետքերի հայտնաբերման դեպքում սորբցիայի պրոցեսը դադարեցվում է, և աշտարակը լվացվում թորած ջրով մինչև  $pH=6-7$ : Այնուհետև իրականացվում է ամինաթթուների դեսորբցիան 8% ամոնիակի ջրային լուծույթով: Ղեսորբցիայից հետո խեժը լվացվում է թորած ջրով և ենթարկվում ռեգեներացման (ելային  $H^+$  ձևի վերականգնում) 5% HCl լուծույթով: Հավաքված ամոնիակային էլյուատը (աշտարակից դեսորբցված լուծույթը) խտացվում է վակուում գոլորշիացմամբ, և ստացված տեխնիկական արգասիքը ուղարկվում է նպատակային ամինաթթվի անջատման և մաքրման փուլ:

Ամինաթթվային խառնուրդից նպատակային ամինաթթվի անջատման փուլը համարվում է համեմատաբար դժվար իրականացվող և պատասխանատու փուլը, քանի որ կենսասինթեզի ընթացքում բացի նպատակային ամինաթթվից սովորաբար առաջանում են նաև նրան ուղեկցող կառուցվածքային նման ամինաթթուներ: Բնականաբար, նման խառնուրդից նպատակային ամինաթթվի անջատման մատչելիությունը կախված է ուղեկցող ամինաթթուների ֆիզիկաքիմիական պարամետրերից (իզոէլեկտրիկ կետ, լուծելիություն և այլն) և կոնցենտրացիայից: Համեմատաբար ավելի դժվար են բաժանվում իրար մոտ ֆիզիկաքիմիական հատկություններով հիդրոֆոբ ամինաթթուները, իսկ ավելի հեշտ են առանձնացվում հիմնային և թթվային ամինաթթուները: Ամինաթթուների բաժանման համար օգտագործվող հայտնի մեթոդները հիմնականում հիմնված են նրանց ֆիզիկաքիմիական հատկությունների տարբերության վրա: Կախված ուղեկցող ամինաթթուների բնույթից՝ նպատակային ամինաթթվի անջատման համար օգտագործում են իոնափոխանակային քրոմատոգրաֆիայի, բյուրեղացման, էքստրակտման, էլեկտրոֆորեզի և այլ մեթոդներ:

L-վալինի կենսասինթեզի կուլտուրալ հեղուկից անջատված ամինաթթվային խառնուրդից նպատակային արգասիքը հիդրոքլորիդի տեսքով մինչև 40% ելքով առանձնացվում է եռակի անգամ աղաթթվի 10-15% ջրային լուծույթից բյուրեղացմամբ, քանի որ ուղեկցող ամինաթթուներից ալանինը, լեյցինը, իզոլեյցինը և գլիցինը իզոլեկտրիկ կետի և լուծելիության արժեքով չնչին են տարբերվում նպատակային ամինաթթվից:

Ամինաթթվային խառնուրդից հիմնային ամինաթթուների անջատման համար հիմնականում օգտագործում են իոնափոխանակային քրոմատոգրաֆիայի եղանակը՝ հիմք ընդունելով նրանց համեմատաբար բարձր իզոլեկտրիկ կետի արժեքները: Օրինակ՝ արգինինի դեպքում, որի կենսասինթեզի կուլտուրալ հեղուկից անջատված ամինաթթվային խառնուրդը, բացի նպատակային ամինաթթվից, պարունակում է նաև չեզոք (ալանին, իզոլեյցին), թթվային (գլուտամինաթթու) և հիմնային (լիզին) բնույթի ուղեկցող ամինաթթուներ, օգտագործվում է  $\text{NH}_4^+$  ձևի Ky-2x8 կատիոնափոխանակային խեժով լցված իոնափոխանակային աշտարակ: Մխենա 15-ում ներկայացված են այդ խեժի մակերևույթին արգինինի սորբցիայի (*ս*) և դե-սորբցիայի (*ք*) իոնափոխանակային ռեակցիաները:

**Մխենա 15**



Ամոնիումային ձևով կատիոնափոխանակային խեժի մակերևույթով ամինաթթվային խառնուրդը անցկացնելու ժամանակ իոնափոխանակային ռեակցիաների արդյունքում անջատվում է ամոնիակ, որն ապահովում է աշտարակում խեժի միջգոնիկային տարածությունում pH-ի բարձր արժեք՝  $pH > 11$ : pH-ի այդպիսի մարզում բոլոր ուղեկցող ամինաթթուներն անցնում են անիոնային վիճակի և չեն կլանվում խեժի կողմից, իսկ արգիմինը, որի իզոէլեկտրիկ կետի արժեքը բավականին բարձր է և մոտ է pH-ի նշած մարզին, ցվիտերիոնային մասնիկների ձևով սորբվում է խեժի մակերևույթին: Համաձայն ՆՇԶ տվյալների՝ սկզբնական փուլում խեժի մակերևույթին սորբվում է նաև ուղեկցող լիզին ամինաթթուն, սակայն արգիմինը, որն ավելի ուժեղ հիմնայնությամբ է օժտված, խեժից աստիճանաբար դուրս է մղում լիզինը: Ամինաթթվային խառնուրդը աշտարակով անցկացնելուց և խեժը ջրով լվանալուց հետո նպատակային ամինաթթուն դետորբվում է խեժի մակերևույթից 5%  $NH_4OH$ -ի ջրային լուծույթով: Այդ ընթացքում միաժամանակ վերականգնվում է խեժի ելային  $NH_4^+$  ձևը, և այն, առանց լրացուցիչ ռեգեներացման, կարելի է օգտագործել հաջորդ տեխնոլոգիական ցիկլերում:

Թթվային ամինաթթուների անջատման դեպքում օգտագործում են անիոնափոխանակային խեժեր, քանի որ pH-ի չեզոք արժեքների տակ միայն թթվային ամինաթթուներն են գտնվում անիոնային ձևով: Ամինաթթվային խառնուրդը անիոնափոխանակային խեժով լցված աշտարակով անցկացնելու ժամանակ թթվային ամինաթթուները սորբվում և մնում են խեժի մակերևույթին, իսկ ուղեկցող չեզոք և հիմնային ամինաթթուները դուրս են գալիս աշտարակից: Խեժը լվանալուց հետո նպատակային ամինաթթուն դետորբում են  $NaCl$  ջրային լուծույթով: Որոշ դեպքերում օգտագործում են նաև թթվային միջավայրից բյուրեղացման տարբերակները, քանի որ pH-ի ցածր (2,5-3,5) արժեքների տակ ցվիտերիոնային ձևով կարող են գտնվել միայն թթվային ամինաթթուները:

Վերոհիշյալ մեթոդներն արդյունավետ չեն մանրէաբանական սինթեզի կուլտուրալ հեղուկներից հիդրոֆոբ ամինաթթուների անջատման համար, քանի որ նրանց ամինաթթվային խառնուրդները

պարունակում են ֆիզիկաքիմիական հատկություններով նպատակային ամինաթթվին մոտ ուղեկցող ամինաթթուներ՝ վալին, իզուլեյցին, լեյցին, ալանին, գլիցին: Նման դեպքերում օգտագործում են յուրահատուկ մոտեցումներ, օրինակ՝ նպատակային և ուղեկցող ամինաթթուների կառուցվածքային տարբերությունների վրա հիմնված մեթոդները: Օրինակ՝ *L*-պրովինի մանրէաբանական սինթեզի կուլտուրալ հեղուկում գտնվող բոլոր ուղեկցող ամինաթթուները հանդիսանում են առաջնային ամինաթթուներ, իսկ նպատակային արգասիք պրովինը իմինաթթու է:

Նման կառուցվածքային տարբերության հիման վրա մշակված են ամինաթթվային խառնուրդներից պրովինի անջատման տեխնոլոգիաներ՝ հիմնված ուղեկցող ամինաթթուների դեգամինացման և Շիֆի հիմքերի առաջացման ռեակցիաների վրա (տե՛ս բաժին 1.6.2.):

Նպատակային արգասիքների գերմաքրման փուլում կուլտուրալ հեղուկից անջատված ամինաթթուն մաքրվում է գունավոր պիգմենտների, անօրգանական աղերի և այլ ուղեկցող միացությունների միկրոքանակներից: Գունավոր պիգմենտներից մաքրելու նպատակով ամինաթթվի լուծույթը մինչև 40-50°C տաքացման պայմաններում մշակվում է ակտիվացված ածխով: Գունազրկված լուծույթը այնուհետև ենթարկվում է աղազրկման՝ իոնափոխանակային, դիալիզի կամ որևէ այլ մեթոդով: Ստացված աղազրկված և գունազրկված լուծույթը լրացուցիչ ենթարկվում է մեմբրանային ֆիլտրման: Ընդ որում՝ ներերակային սնուցման պատրաստուկների ստացման համար կիրառվող ամինաթթուների արտադրության ժամանակ մաքրված լուծույթները լրացուցիչ ենթարկվում են մեմբրանային ուլտրաֆիլտրման: Վերջինս ապահովում է պատրաստուկի ապիրոզենությունը: Այնուհետև գերմաքրված լուծույթը խտացվում է, նպատակային ամինաթթուն բյուրեղացվում է ջրային էթանոլից, բյուրեղները ֆիլտրվում են մայր լուծույթից և չորացվում վակուումային չորացուցիչներում:

## 2.2. Կենսատրանսֆորմացիա

Չնայած մանրէաբանական սինթեզի կարևորագույն առավելություններին, որոնք են հումքի մատչելիությունը և տեխնոլոգիայի ունիվերսալությունը, արտադրության կազմակերպումը պահանջում է մեծ կապիտալ ներդրումներ, իսկ շահավետությունը, հետևաբար մասն նպատակային արգասիքի ինքնարժեքը, չափազանց խիստ կախված են արտադրության հզորությունից:

Կենսատրանսֆորմացիայի կամ կենսակատալիտիկ եղանակների հիմնական առավելություններից են վերջնական արգասիքի միափուլ ստացումը, տեխնոլոգիաների և տեխնոլոգիական սարքավորումների պարզությունը, պրոցեսների կարճատևությունը, արտադրական միավոր ծավալի օգտագործման բարձր արդյունավետությունը, պրոցեսների շահութաբերությունը և այլն:

Ի տարբերություն մանրէաբանական սինթեզի՝ կենսատրանսֆորմացիայի եղանակի դեպքում նպատակային նյութի մոլեկուլի կմախքը սուբստրատի տեսքով տրվում է պրոցես, և տեղի է ունենում նրա կառուցվածքում խմբերի փոխանակում կենսակատալիզատորների (ֆերմենտների) մասնակցությամբ: Ներկայումս աշխարհի տարբեր երկրներում կենսատրանսֆորմացիայի եղանակով արտադրվում են *L*-ալանին, *L*-ասպարազինաթթու, *L*-ֆենիլալանին, *L*-թիրոզին և այլ ամինաթթուներ:

Կենսատրանսֆորմացիայի պրոցեսներում կիրառվում են էկզոգեն և էնդոգեն ծագում ունեցող ֆերմենտներ: Ֆերմենտները, որոնք, սինթեզվելով բջջի ներքին կառույցներում, արտագատվում են բջջից և գործում են արտաբջջային միջավայրում, անվանվում են *էկզոգեն*, իսկ բջջի օրգանիզմի ներսում գործող ֆերմենտները՝ *էնդոգեն*: Սովորաբար կենսատրանսֆորմացիայի պրոցեսների իրականացման ժամանակ որպես կենսակատալիզատորներ օգտագործում են ինչպես կենդանիների օրգաններից անջատած մաքուր էնզիմներ, այնպես էլ մանրէաբանական եղանակով ստացված ֆերմենտային խառնուրդներ: Տեխնոլոգիական տեսակետից առավել նպատակահարմար է մանրէաբանական եղանակով շտամ-արտադրիչների կուլտիվացման ճանապարհով ստացված ֆերմենտային խառնուրդների օգտա-

գործունը: Ֆերմենտի շտամ-արտադրիչի ընտրության ժամանակ անհրաժեշտ է հաշվի առնել արտադրիչի աճի արագությունը, ինչպես նաև նրա կողմից արտադրվող ֆերմենտի քանակն ու ակտիվությունը:

Անկախ էնզիմի ստացման եղանակից՝ արտադրության մեջ այն կիրառվում է իմոբիլիզացված վիճակով: Իմոբիլիզացիան ֆերմենտների կապումն է կամ անշարժացումը ծավալուն և ջրում չլուծվող կրիչի ծավալում կամ մակերևույթին: Իմոբիլիզացված ֆերմենտները միջավայրի պարամետրերի նկատմամբ (օրինակ՝ լուծիչի բնույթի, ջերմաստիճանի, pH-ի, իոնական ուժի և մեխանիկական գործոնների) զգալիորեն ավելի կայուն են, քան ազատ ֆերմենտները: Իմոբիլիզացումը բազմաթիվ անգամ մեծացնում է կատալիզատորի կայունությունը: Բացի դրանից՝ իմոբիլիզացված բջիջների օգտագործումը թույլ է տալիս խուսափել այնպիսի աշխատատար տեխնոլոգիական փուլերից, ինչպիսիք են ֆերմենտի անջատումն ու մաքրումը: Շնորհիվ իմոբիլիզացիայի՝ բջիջները հնարավոր է պահել աճի այնպիսի փուլում, որտեղ նրանք սինթեզում են օգտագործվող ֆերմենտը՝ պահպանելով բջջի ամբողջականությունը և միջավայրի ստերիլությունը:

Կենսատրանսֆորմացիայի վրա հիմնված արտադրական պրոցեսները ներառում են հետևյալ հիմնական փուլերը.

- ֆերմենտ-արտադրիչ մանրէների կենսազանգվածի ստացում,
- կենսազանգվածի հիման վրա կենսակատալիզատորի ստացում,
- կենսատրանսֆորմացիայի փուլ,
- վերջնանյութի կորզում և մաքրում:

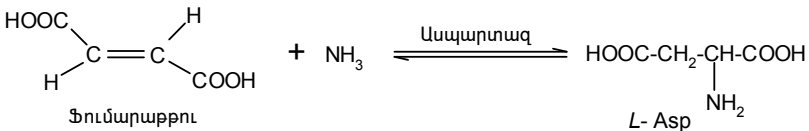
Կենսատրանսֆորմացիայի եղանակով Հայաստանի Հանրապետությունում ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» գիտաարտադրական կենտրոնի փորձարտադրական կայանում փոքրածավալ արտադրական պայմաններում արտադրվում են *L-Asp* և *L-Ala* ամինաթթուները:



**L-ասպարազինաթթվի ստացումը:** Մինչև 1973 թ. *L*-ասպարազինաթթուն ստանում էին բուսական հումքից ստացված *L*-ասպարազինի հիդրոլիզի ճանապարհով, քիմիական եղանակով ստացված *D,L*-ասպարազինաթթվի բաժանմամբ օպտիկական իզոմերների, իսկ ավելի ուշ նաև միկրոբիոլոգիական եղանակով՝ կիրառելով ֆումարաթթուն որպես ածխածնի միակ աղբյուր: Հետագայում ճապոնացի մասնագետների կողմից մշակվել է *L*-ասպարազինաթթվի ստացման էնզիմատիկ եղանակ՝ կիրառելով ասպարտազային ակտիվությամբ օժտված մուտանտային *E.coli* շտամի իմոբիլիզացված բջիջներ:

Ֆումարաթթվից և ամոնիակից կենսատրանսֆորմացիայի եղանակով *L*-ասպարազինաթթվի ստացումը իրականացվում է կենսակատալիզատորով լցված աշտարակում՝  $pH=8,5$  և  $T=37^{\circ}C$  պայմաններում (սխեմա 16): Ռեակցիոն միջավայրից *L*-ասպարազինաթթուն անջատում են բյուրեղացմամբ՝  $pH=2,8$ -ի տակ, որը համապատասխանում է ամինաթթվի իզոէլեկտրիկ կետին: Այս դեպքում, որպես կողմնակի արգասիք, առաջանում է ամոնիումի սուլֆատ:

### Սխեմա 16

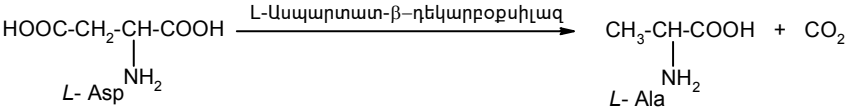


Փոխարկման ելքը ըստ ֆումարաթթվի կազմում է ~98%: Տեխնոլոգիան պարզ և միափուլ է, օժտված է բարելավված էկոլոգիական և տնտեսական ցուցանիշներով և թույլ է տալիս ստանալ բարձր մաքրության ասպարազինաթթու (>99%):

**L-ալանինի ստացումը:** Ներկայումս *L*-ասպարտատ- $\beta$ -դեկարբօքսիլազ ֆերմենտն օգտագործվում է արդյունաբերական մասշտաբներով *L*-ալանինի արտադրության համար: Ֆերմենտը կատալիզում է *L*-ասպարազինաթթվի  $\beta$ -կարբօքսիլային խմբի ճեղքումը, ինչի արդյունքում առաջանում են ածխաթթու գազ և *L*-ալանին (սխեմա 17):

L-ասպարտատ-β-դեկարբօքսիլազը հայտնաբերվել է 1948 թ.-ին ռուս գիտնական Մարդաշևի կողմից *Pseudomycobacterium* տեսակի մանրէների կազմում: Հետագայում ցույց է տրվել, որ L-ասպարտատ-β-դեկարբօքսիլազը արտադրվում է նաև *Acromobacter*, *Pseudomonas dacunhaye* և *Alcaligenes faecalis* տեսակի մանրէների կողմից:

**Սխեմա17**



Տարբեր աղբյուրներից անջատված L-ասպարտատ-β-դեկարբօքսիլազ ֆերմենտի ազդեցության pH-ի օպտիմալ արժեքը տատանվում է 5,3-5,7 միջակայքում: pH-ի այդպիսի պայմաններում ասպարագինաթթուն գործնականում ամբողջովին գտնվում է աղի վիճակում, հետևաբար, չնայած թթվի ցածր լուծելիությանը, ռեակցիոն միջավայրում հնարավոր է ստեղծել սուբստրատի բարձր (1,5 M և ավելի) կոնցենտրացիա: L-ասպարագինաթթվի β-դեկարբօքսիլացման հետևանքով ռեակցիոն միջավայրում առաջանում է ածխաթթու, որը քայքայվում է՝ առաջացնելով ածխաթթու գազ:

Առաջացած ածխաթթու գազի հեռացման հետևանքով միջավայրում խախտվում է թթվահիմնային հաշվեկշիռը, և միջավայրի pH-ը աստիճանաբար տեղաշարժվում է դեպի հիմնային մարզ: Վերջինս իր հերթին pH-ի օպտիմալ արժեքից շեղվելու հետևանքով բերում է ֆերմենտի դիտարկվող ակտիվության անկմանը: Միջավայրի pH-ի տեղաշարժը դեպի հիմնային մարզ միաժամանակ հանգեցնում է ալանինացման գազ ֆերմենտի ակտիվացմանը (վերջինիս pH-օպտիմումը գտնվում է հիմնային միջավայրում), և որպես հետևանք՝ L-ալանինը ենթարկվում է ռացեմացման. ընդ որում՝ որևէ թթվով pH-ը օպտիմալ արժեքին վերադարձնելը հանգեցնում է ֆերմենտի դիտարկվող մաքսիմալ ակտիվության վերականգնմանը:

*L*-ասպարտատ-β-դեկարբօքսիլազային ակտիվությամբ օժտված միկրոօրգանիզմների կենսազանգվածը *L*-Ala-ի ստացման համար օգտագործում են ինչպես իմոբիլիզացված (աշտարակային ռեակտոր), այնպես էլ ազատ վիճակում:

Համաձայն հայ գիտնականների կողմից մշակված տեխնոլոգիայի՝ *L*-ալանինի ստացման համար խառնիչավոր ռեակտորում օգտագործում են *L*-ասպարազինաթթվի աղի օպտիմալ կոնցենտրացիայի լուծույթում սուսպենզացված *Pseudomonas dactinolytica* բջիջներ, որտեղ pH-ը պահպանում են 5,2-5,7 միջակայքում: Ֆերմենտային ռեակցիայի ընթացքում, երբ pH-ը հասնում է 5,7 արժեքի, ռեակտոր են ներմուծում բյուրեղական *L*-ասպարազինաթթվի հերթական չափաբաժինը, որը վերականգնում է ինչպես սուբստրատի կոնցենտրացիան, այնպես էլ pH-ի նախնական արժեքը (5,2): Տրանսֆորմացման ընթացքում, չընդհատելով պրոցեսը, առաջացած *L*-ալանինի բյուրեղները ռեակտորից հեռացնում են ֆիլտրմամբ, իսկ ֆիլտրատը նորից վերադարձվում է ռեակտոր: Առաջացած տեխնիկական *L*-ալանինը վերածվում է բժշկական մաքրության (>99%) արգասիքի ջրից վերաբյուրեղացման ճանապարհով:

### **2.3. Խառը քիմիաէնզիմատիկ սինթեզ**

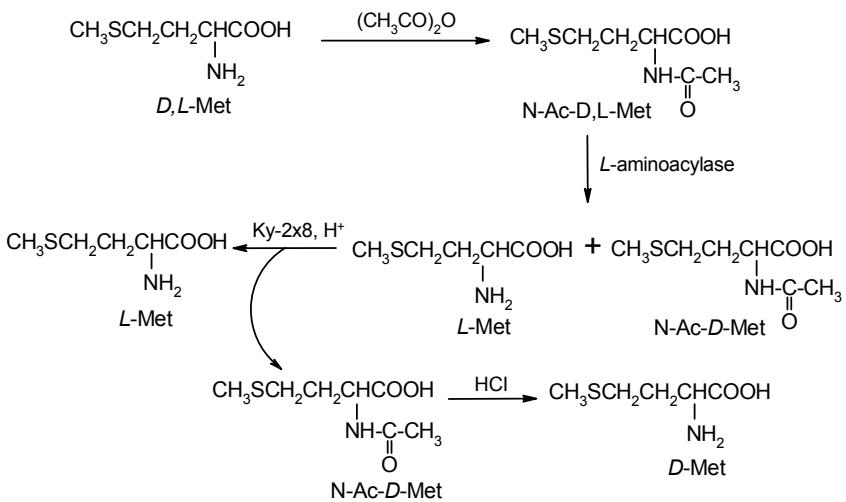
Այս մեթոդը կիրառվում է այն ամինաթթուների ստացման գործընթացներում, որոնց համար բացակայում են ակտիվ շտամ-արտադրիչներ և կենսատրանսֆորմացիայի արդյունավետ մեթոդներ: Դրանց թվին են պատկանում, օրինակ, *L*-մեթիոնինը և *L*-ֆենիլալանինը:

Մեթոդի հիմքում ընկած է սովորական քիմիական սինթեզի եղանակով ստացված ամինաթթուների ռացեմատ *D,L*-խառնուրդների բաժանումը (ճեղքումը) առանձին էնանտիոմերների էնզիմատիկ եղանակով: Այդ նպատակի համար, որպես արդյունավետ կենսակատալիզատոր, օգտագործում են ամինոացիլազներ՝ անջատված կենդանիների օրգաններից (օրինակ՝ խոզի երիկամներից) կամ ստացված կենսասինթետիկ եղանակով: Երկու դեպքում էլ ֆերմենտային

պատրաստուկը կիրառվում է իմոբիլիզացված տեսքով: Տեխնոլոգիական առումով ավելի նպատակահարմար է երկրորդ մոտեցումը, որն ապահովում է վերջնական արգասիքի ավելի ցածր ինքնարժեքը:

Ներկայումս առավել հետաքրքրություն են առաջացրել գենիմ-ժեներիային ռեկոմբինանտ *E. coli* շտամ-արտադրիչների կուլտիվացման արդյունքում ստացված *Aminoacylase* ֆերմենտային պատրաստուկները, որոնք կիրառություն են գտել *L*-մեթիոնինի բազմատոննաժ արտադրական տեխնոլոգիայում (սխեմա 18):

**Սխեմա 18**



Քիմիական սինթեզի եղանակով ստացված *D,L*-մեթիոնինը առաջին հերթին ենթարկվում է *N*-ացիլման քացախաթթվի անհիդրիդի ազդեցությամբ: Արդյունքում առաջացած *N*-ացետիլ-*D,L*-մեթիոնինը մշակվում է ֆերմենտային պատրաստուկով 37°C ջերմաստիճանի տակ: Այդ ընթացքում *N*-ացետիլ-*L*-մեթիոնինը ենթարկվում է դեացետիլման (NH-COCH<sub>3</sub> կապի ճեղքման) *L*-մեթիոնինի առաջացմամբ, իսկ *N*-ացետիլ-*D*-մեթիոնինը չի հիդրոլիզվում, քանի որ այն ֆերմենտի համար անճանաչելի է (սուբստրատ չէ) և, հետևաբար, չի կարող ենթարկվել ֆերմենտի ազդեցությանը: Առաջացած *L*-մեթիո-

նինը հեշտությամբ բաժանվում է չհիդրոլիզված N-ացետիլ-D-մեթիոնինից, գունազրկվում, աղազրկվում և բյուրեղացվում:

Չհիդրոլիզված N-ացետիլ-D-մեթիոնինի խառնուրդից նպատակային L-մեթիոնինի առանձնացման համար կարելի է օգտագործել իոնափոխանակային քրոմատոգրաֆիայի կամ ջուր-օրգանական լուծիչ համակարգից լուծահանման եղանակները:

Մեթոդի առավելությունը կայանում է նաև նրանում, որ այն միաժամանակ ապահովում է ինչպես L-, այնպես էլ D-մեթիոնինի ստացումը: Դրա համար չհիդրոլիզված N-ացետիլ-D-մեթիոնինը ենթարկվում է թթվային հիդրոլիզի D-մեթիոնինի առաջացմամբ, որը ենթարկվում է հետագա գունազրկման, աղազրկման և բյուրեղացման: Այս մեթոդով ստացված L- կամ D-մեթիոնինի քիմիական ելքը հասնում է մինչև 45%:

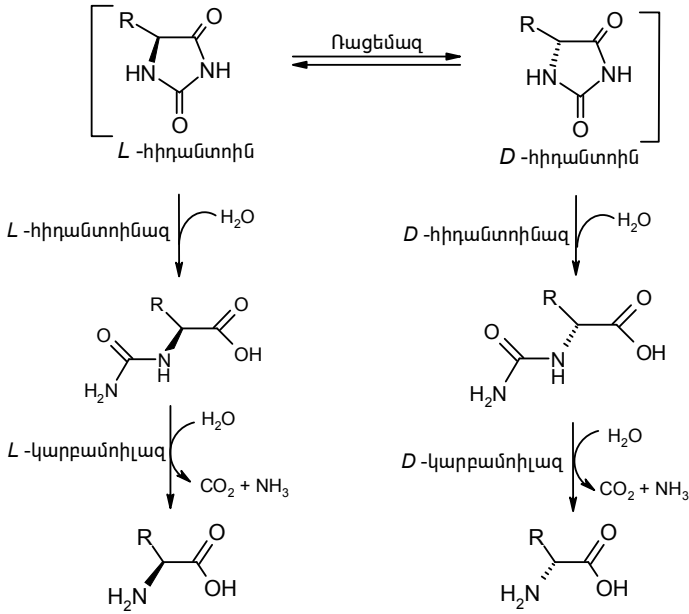
Կախված խնդրի դրվածքից՝ վերոհիշյալ տեխնոլոգիան կարելի է իրականացնել միայն L-մեթիոնինի ստացման ուղղությամբ: Այս դեպքում չհիդրոլիզված N-ացետիլ-D-մեթիոնինը նորից ենթարկվում է ռացեմացման՝ քացախանհիդրիդի միջավայրում մինչև 130°C տաքացման պայմաններում: Արդյունքում առաջացած N-ացետիլ-D,L-մեթիոնինը ենթարկվում է կրկնակի ֆերմենտային հիդրոլիզի: Այս տարբերակով հնարավոր է նպատակային L-մեթիոնինի ընդհանուր ելքը հասցնել մինչև 75%:

Հայտնի է նաև հիդանտոինազ ֆերմենտների միջոցով ռացեմատ խառնուրդներից օպտիկապես ակտիվ ամինաթթուների անջատման խառը քիմիաէնզիմատիկ եղանակ: Այն համարժեք արդյունավետ է ինչպես L-, այնպես էլ D-ամինաթթուների ստացման համար: Օրինակ՝ D-ֆենիլզիցլին և D-հիդրօքսիֆենիլզիցլին ոչ սպիտակուցային ամինաթթուները, որոնք հանդիսանում են որոշ  $\beta$ -լակտամային հակաբիոտիկների կողքային շղթայի կարևոր բաղադրիչներ, արտադրվում են այս մեթոդով:

Օպտիկապես ակտիվ հիդանտոինները  $pH > 8$  պայմաններում համապատասխան ռացեմազների ազդեցությամբ վերածվում են ռացեմատ խառնուրդների: Ռ-ացեմացման արագությունը կախված է հիդանտոինի կողքային շղթայի R խմբի բնույթից:

Մշակված է *D,L*-հիդանտոիններից օպտիկապես ակտիվ ամինաթթուների ստացման կենսակատալիտիկ եղանակ հիդանտոինազ ֆերմենտների ազդեցությամբ: Ընդ որում՝ *L*-հիդանտոինազները ստերեոսեյեկտիվ ձևով կատալիզում են *L*-հիդանտոինների ճեղքումը, իսկ *D*-հիդանտոինազները՝ *D*-հիդանտոինների հիդրոլիզը (սխեմա 19):

**Սխեմա 19**



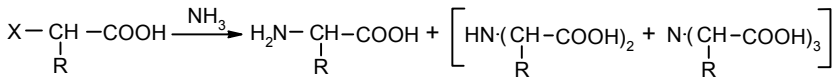
Հիդանտոինների հիդրոլիզի արդյունքում առաջացած միզանյութի ածանցյալներն այնուհետև կարբամոլիլազ ֆերմենտների ազդեցությամբ հիդրոլիզվում են՝ առաջացնելով օպտիկապես ակտիվ ամինաթթուներ: Այս եղանակով գերմանական *Evonik/Degussa* ֆիրման արդյունաբերական մասշտաբներով արտադրում է *L*-լեյցին՝ օգտագործելով *L*-հիդանտոինազ և *L*-կարբամոլիլազ ֆերմենտներ արտադրող միկրոօրգանիզմներ:

## 2.4. Քիմիական սինթեզ

Ամինաթթուների քիմիական սինթեզի մեթոդները, ի տարբերություն մանրէաբանական և էնզիմատիկ մեթոդների, ապահովում են նպատակային արգասիքների առաջացումն օպտիկապես ոչ ակտիվ ռացեմատ (*D,L*) խառնուրդների տեսքով, որոնց բաժանումն ակտիվ անտիպոդների բավականին աշխատատար է և թանկարժեք: Սակայն, չնայած դրան, որոշ ամինաթթուների համար մշակված են քիմիական սինթեզի մեթոդներ, որոնք թույլ են տալիս ստանալ ալանին, գլիցին, մեթիոնին, ֆենիլալանին, սերին, թրեոնին, տրիպտոֆան, վալին և այլ  $\alpha$ -ամինաթթուներ ինչպես լաբորատոր, այնպես էլ արդյունաբերական մասշտաբներով:

**$\alpha$ -հալոգենաթթուների ամինացում (ամոնոլիզ):**  $\alpha$ -քլոր- կամ  $\alpha$ -բրոմտեղակալված կարբոնաթթուները ամոնիակի ջրային կամ սպիրտային լուծույթով մշակելու արդյունքում առաջացնում են  $\alpha$ -ամինաթթուներ (սխեմա 20): Ռեակցիայի ելքը կախված է ամոնիակի և  $\alpha$ -հալոգենաթթվի քանակական հարաբերությունից:

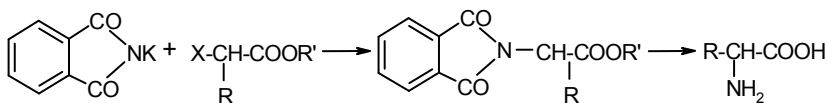
### Սխեմա 20



Այս ռեակցիայի ժամանակ, որպես կողմնակի նյութեր, առաջացնում են երկրորդային և երրորդային ամիններ: Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ ամոնոլիզը քանակական ելքերով է ընթանում ջրային լուծույթում 40-60°C ջերմաստիճանում 1 մոլ  $\alpha$ -հալոգենաթթուն ամոնիակի 10-12 մոլ ավելցուկով մշակելու դեպքում:

Երկրորդային և երրորդային ամինների առաջացումը կանխելու նպատակով ռեակցիան իրականացվում է ամոնիակի բարձր կոնցենտրացիայի պայմաններում, կամ ամոնիակի փոխարեն օգտագործվում է կալիումի ֆտալիմիդ (սխեմա 21):

## Սխեմա 21

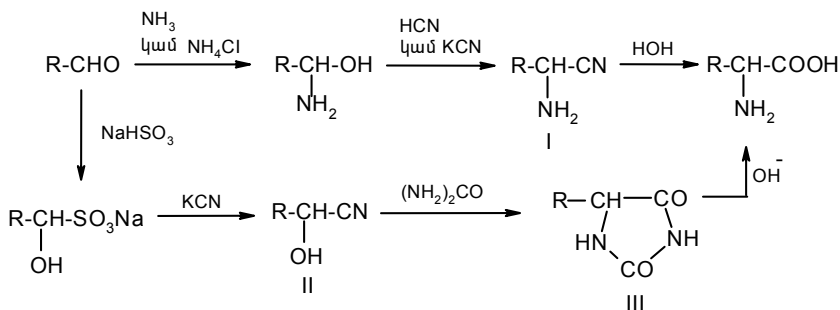


Ռեակցիան իրականացվում է տաքացման պայմաններում դիմեթիլֆորմամիդի միջավայրում: Այս եղանակով սինթեզվել են ալանին, գլիցին, լիզին, օրնիթին:

**Շտրեկերի սինթեզ:** Սինթեզը հիմնված է ամոնիակի և ցիան-ջրածնական թթվի (կապտաթթվի) հետ ալդեհիդների կոնդենսման և արդյունքում առաջացած ամինոնիտրիլի (I) հետագա հիդրոլիզի ռեակցիաների վրա, որը բերում է այնպիսի  $\alpha$ -ամինաթթուների առաջացման, որոնք մեկ ածխածնի ատոմ ավել են պարունակում, քան ելային ալդեհիդները:

Այս եղանակով Շտրեկերը առաջին անգամ սինթեզել է ալանին: Հետագայում ռեակցիայի ելքի բարձրացման նպատակով կապտաթթուն փոխարինվել է կալիումի ցիանիդով, իսկ ամոնիակը՝ ամոնիումի քլորիդով: Առաջարկվել է նաև մեթոդի այլ տարբերակ՝ հիմնված ցիանհիդրիդի (II) և միզանյութի փոխազդեցությամբ 5-ակլիլտեղակաված հիդանտոինի (III) առաջացման վրա, որի հետագա հիդրոլիզը բերում է  $\alpha$ -ամինաթթվի (սխեմա 22):

## Սխեմա 22

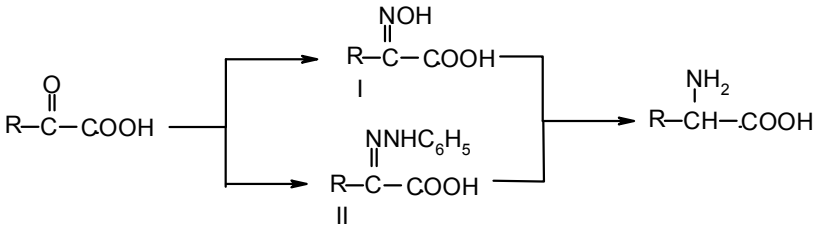




1934 թ.-ին Բուխերերը և աշխատակիցները ցույց են տվել, որ 5-տեղակալված հիդանտոինը հեշտությամբ ստացվում է նաև ցիան-հիդրինի (II) կամ ամինոնիտրիլի (I) և ամոնիումի կարբոնատի փոխազդեցությամբ:

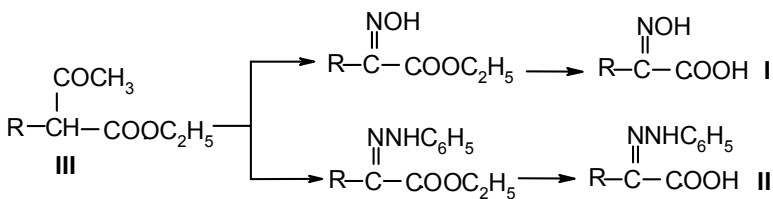
**Վերականգնողական ամինացում:** Ամինաթթուների ստացման այս մեթոդը հիմնված է  $\alpha$ -կետոթթուների քիմիական վերականգնման վրա՝ միջանկյալ փուլում օքսիմների (I) կամ ֆենիլհիդրազոնների (II) առաջացմամբ (սխեմա 23):

**Սխեմա 23**



Քանի որ շատ  $\alpha$ -կետոթթուներ դժվարամատչելի են, ապա նրանց օքսիմները և ֆենիլհիդրազոնները ստանում են 2-ակիլլտեդակալված կամ 2-արիլլտեդակալված ացետոքացախաթթվի էթիլէսթերներից (III): Օքսիմները ստանում են ծմբական թթվում լուծված տեղակալված ացետոքացախաթթվային էսթերները բութիլնիտրիտով ազդելով, իսկ ֆենիլհիդրազոնները՝ նատրիումի էթիլատի առկայությամբ արիլդիազոնիումի աղով ազդելով (սխեմա 24):

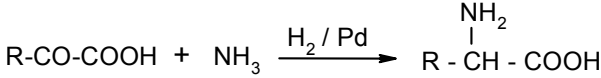
**Սխեմա 24**



Առաջացած օքսիմների և ֆենիլիդրազոնների վերականգնման համար որպես վերականգնիչներ կարելի է օգտագործել նատրիումի կամ ալյումինիումի ամալգամներ: Վերականգնման ռեակցիան ավելի արագ և բարձր ելքերով է ընթանում պալադիումի, պլատինի օքսիդի կամ Ռենեյի նիկելի կատալիզատորների ներկայությամբ:

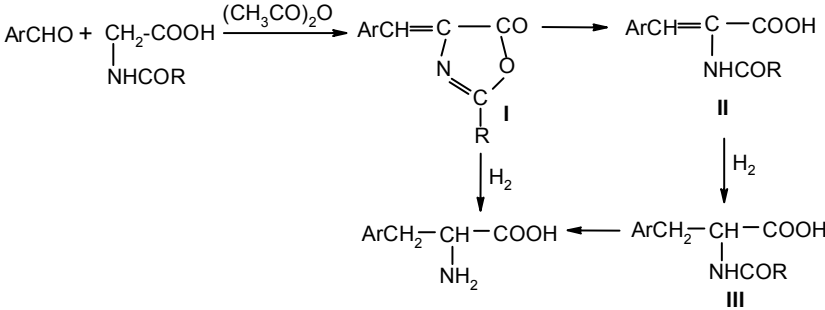
Կնորի և Էստերիլնի կողմից առաջարկվել է վերականգնողական ամինացման հետաքրքիր տարբերակ՝  $\alpha$ -կետոթթվի և ամոնիակի խառնուրդի անմիջական կատալիտիկ հիդրմամբ (սխեմա 25):

**Սխեմա 25**



**Ազլակտոնային սինթեզ:** Արոմատիկ ամինաթթուները, օրինակ՝ ֆենիլալանինը, թիրոզինը, տրիպտոֆանը և արոմատիկ օդակում տեղակալված նրանց ածանցյալները, կարող են ստացվել քացախսանհիդրիդի և սառցային քացախաթթվի խառնուրդում կամ միայն քացախսանհիդրիդի միջավայրում արոմատիկ ալդեհիդների և N-ացիլզիցինի կոնդենսմամբ՝ միջանկյալ փուլում չհագեցած ազլակտոնների (I) առաջացմամբ (սխեմա 26):

**Սխեմա 26**



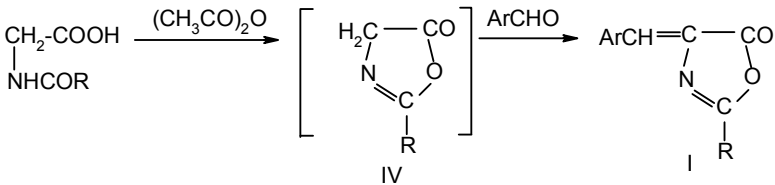
Այս ռեակցիայի ժամանակ որպես կատալիզատոր օգտագործվում է հիմնականում նատրիումի ացետատ: Կարելի է օգտագործել

նաև պղնձի և կապարի ագետատներ, կալիումի կարբոնատ կամ բիկարբոնատ:

Ազլակտոնի հիմնային հիդրոլիզից ստացվում է  $\alpha$ -ացիլամինոակրիլաթթու (II), որի կատալիտիկ վերականգնումը բերում է N-ացիլամինաթթվի (III) առաջացման: Վերջինիս հիմնային կամ թթվային հիդրոլիզի արդյունքում ստացվում է նպատակային ամինաթթուն. ընդ որում՝ հնարավոր են ազլակտոնի միաժամանակյա վերականգնում և հիդրոլիզ՝ կարմիր ֆոսֆորի և յոդաջրածնական թթվի խառնուրդով:

Այս ռեակցիայի մեխանիզմի հետազոտությունը ցույց է տվել, որ N-ացիլգլիցինը քացախաթթվի անհիդրիդի ներկայությամբ վերածվում է ակտիվ CH-թթվային մեթիլենային խումբ պարունակող ազլակտոնի (IV), որն էլ հեշտությամբ կոնդենսվում է արոմատիկ ալդեհիդի հետ (սխեմա 27):

### Սխեմա 27

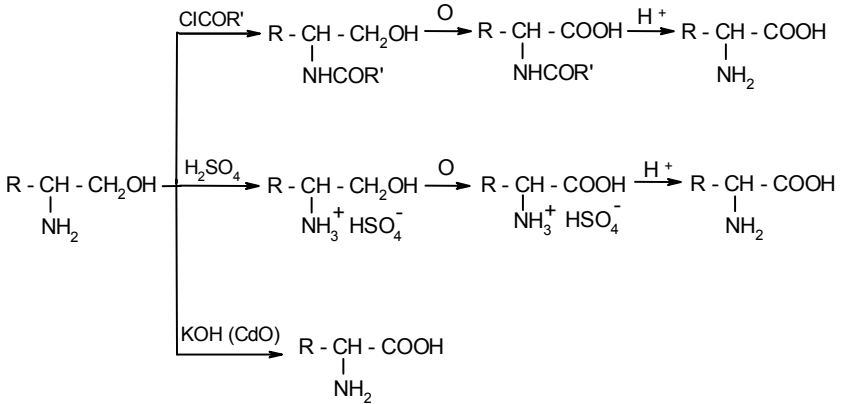


**Ամինասպիրտների օքսիդացում:** Ամինաթթուների ստացման տնտեսապես հարմար եղանակ է մատչելի 2-ամինասպիրտների, ինչպես, օրինակ, 2-ամինո-1-պրոպանոլի և 2-ամինո-1-էթանոլի օքսիդացումը: Նախօրոք ամինասպիրտի ացիլմամբ ստանում են նրա ֆտալիլային կամ բենզոիլային ածանցյալները (I), որոնք կալիումի պերմանգանատի հիմնային լուծույթով (կամ կալիումի բիքրոմատով, կամ երկաթի քլորիդով) օքսիդացնելով՝ ստանում են ացիլամինաթթու, որի թթվային հիդրոլիզը բերում է ազատ ամինաթթվի առաջացման:

Հետագայում առաջարկվել է ավելի պարզ եղանակ՝ ամինոսպիրտը նախօրոք չենթարկել ացիլման, այլ օքսիդացումից առաջ

ավելացնելով որևէ հանքային թթու (օրինակ՝ ծծմբական թթու)՝ այն վերածել տեղակալված ամոնիումային իոնի: Ամինոսպիրտի օքսիդացումը հնարավոր է նաև կալիումի հիդրօքսիդի տաք լուծույթով կադմիումի օքսիդի (որպես կատալիզատոր) ներկայությամբ (սխեմա 28):

### Սխեմա 28

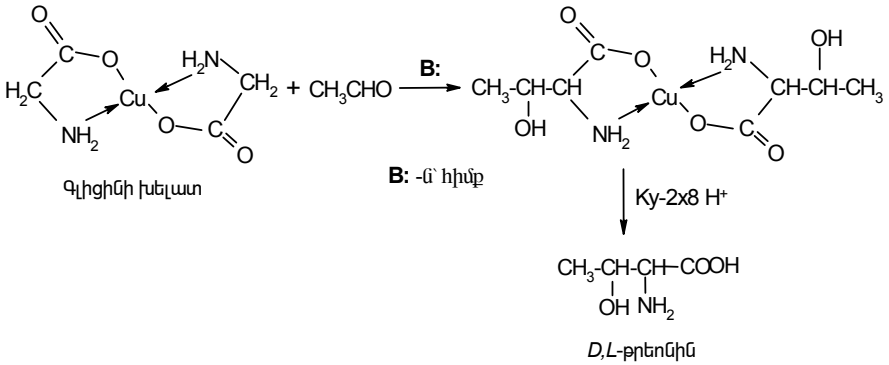


Սակայն ամինոսպիրտների դժվարամատչելիության պատճառով այս եղանակը կիրառություն չի ստացել:

**Ամինաթթուների սինթեզը գլիցինի խելատային կոմպլեքսների միջոցով:** Ակորբարին մշակել է թրեոնինի սինթեզի լավագույն մեթոդ՝ հիմնված հիմնային պայմաններում գլիցինի պղնձային կոմպլեքսի հետ ացետալդեհիդի կոնդենսման ռեակցիայի վրա: Պղնձի ամինաթթվային կոմպլեքսներում ամինաթթվային մնացորդի  $\alpha$ -պրոտոնների շարժունակությունը բավարար բարձր է, և նրանք հեշտությամբ տեղակալվում են այլ խմբերով՝ առաջացնելով նոր ամինաթթուներ (սխեմա 29):

Խելատային կոմպլեքսի դերը կայանում է ինչպես ամինաթթվի  $\alpha$ -պրոտոնի ակտիվացման, այնպես էլ նրա  $\alpha$ -ամինախմբի պաշտպանման մեջ: Գլիցինի ակտիվ  $\alpha$ -պրոտոնի տեղակալումը քացախալդեհիդի մնացորդով բերում է թրեոնինի առաջացմանը:

## Սխեմա 29



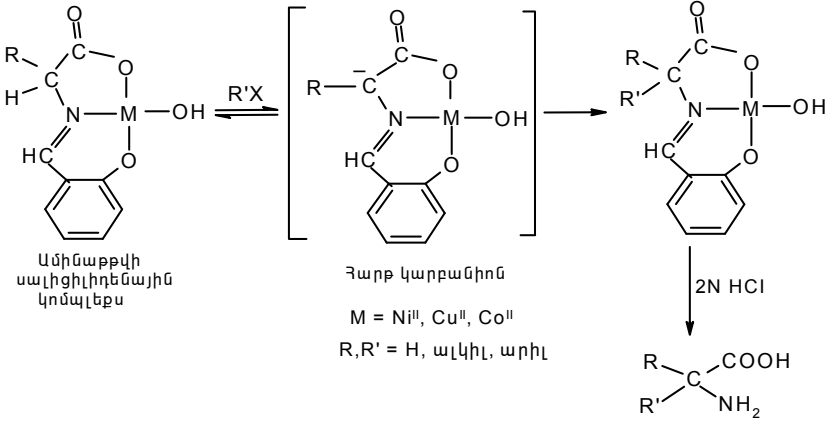
Ամինաթթուան անջատվում է առաջացած կոմպլեքսից՝ ծծմբաջրածնով կամ իոնափոխանակային խեժերով մշակելով: Այս մեթոդը կիրառվել է միայն β-օքսի-α-ամինաթթուների ստացման համար, ինչը պայմանավորված է մեթիլենային խմբի պրոտոնների ոչ բավարար ակտիվացմամբ:

Մեթիլենային պրոտոնների լրացուցիչ ակտիվացման համար օգտագործում են պղնձի սալիցիլիդենային կոմպլեքսներ, որտեղ ամինաթթուն կապված է մետաղի կոորդինացիոն թաղանթի հետ ամուր կովալենտային Շիֆի հիմքի համակարգով, որը միաժամանակ սպաստվում է կոորդինացիոն կապերի և վալենտային անկյունների բավարար ամրությունը: Նման կոմպլեքսները հիմքերի ներկայությամբ վերածվում են կայուն միջանկյալ կարբանիոնների, որոնց C-ակտիվումը տարբեր էլեկտրոֆիլ ազենտներով բերում է համապատասխան α-ամինաթթուների առաջացմանը (սխեմա 30): Այս մեթոդով հնարավոր է ստանալ ալանին, ֆենիլալանին, վալին, լեյցին, իզոլեյցին, ասպարագինաթթու և այլ ամինաթթուներ:

Ամինաթթուների քիմիական սինթեզի վերոհիշյալ բոլոր մեթոդների արդյունքում առաջանում են միայն օպտիկապես ոչ ակտիվ ռացեմատ խառնուրդներ, ինչի պատճառով ամինաթթուների արտադրությունից քիմիական սինթեզի մեթոդներն աստիճանաբար դուրս են մղվում՝ տեղը զիջելով կենսատեխնոլոգիական մեթոդներին:

Իսկ դա պայմանավորված է ժամանակակից բժշկության, դեղագործության և տնտեսության այլ ոլորտներում ամինաթթուների և կենսաբանորեն ու դեղաբանորեն ակտիվ այլ քիրալային մոլեկուլների միայն անհատապես մաքուր էնանտիոմերների տեսքով կիրառելու անհրաժեշտությամբ:

**Սխեմա 30**



Ցավոք, կենսատեխնոլոգիական մեթոդները պիտանի չեն օրգանիզմի համար օտար բնույթի, ոչ բնական կառուցվածքով նյութերի ստացման համար՝ սուբստրատների ոչ բնական կառուցվածքի պատճառով: Այդպիսի միացությունների շարքին են պատկանում մաս ոչ սպիտակուցային ամինաթթուները, որոնց արտադրության համար աշխարհում հաջողությամբ զարգացվում է ասիմետրիկ սինթեզի ուղղությունը:

**2.5. Ասիմետրիկ սինթեզ**

Ասիմետրիկ է կոչվում այն սինթեզը, որի ընթացքում էնանտիոմերներից կամ դիաստերեոմերներից որևէ մեկն առաջանում է ավելցուկով: Ասիմետրիկ սինթեզը կարող է լինել էնզիմատիկ կամ քիմիա-

կան: Իգոմերներից որևէ մեկի նույնիսկ 1% ավելցուկի դեպքում սինթեզը համարվում է ասիմետրիկ, օրինակ՝  $L/D=51/49(\%)$ :

Ասիմետրիկ սինթեզը բնութագրվում է ասիմետրիկ ելքով, որն այլ կերպ կոչվում է հիմնական ստերեոիզոմների էնանտիոմերային (*ee*) կամ դիաստերեոմերային (*de*) ավելցուկ, կամ սինթեզի ստերեոսելեկտիվություն, կամ օպտիկական ելք: Օրինակ՝ *L*-էնանտիոմերի ասիմետրիկ սինթեզի ժամանակ ասիմետրիկ ելքը որոշվում է հետևյալ բանաձևով.

$$ee (\%) = \frac{[L] - [D]}{[L] + [D]} \times 100,$$

որտեղ  $[L]$ -ը *L*-էնանտիոմերի կոնցենտրացիան է,  
 $[D]$ -ն՝ *D*-էնանտիոմերի կոնցենտրացիան:

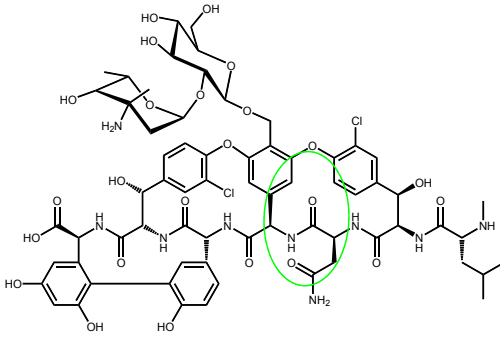
Օրգանիզմում ֆերմենտների ազդեցությամբ տեղի է ունենում *L*-ամինաթթուների ասիմետրիկ սինթեզ 100% ասիմետրիկ ելքով:

Ասիմետրիկ սինթեզը կարող է ընթանալ ինչպես նոր քիրալային կենտրոնի մակաձևամբ, որը տեղի է ունենում, օրինակ, երբ պրոքիրալ մոլեկուլը կամ նրա մնացորդը սինթեզի ընթացքում վերածվում է քիրալային մոլեկուլի, այնպես էլ ելային քիրալային կենտրոնի փոփոխմամբ, օրինակ՝ երբ փոխվում են ասիմետրիկ ածխածնի ատոմի շուրջը տեղակալիչները: Սինթեզի ասիմետրիկ ընթացքը կարող է պայմանավորված լինել ինչպես տարածական, այնպես էլ ստերեոէլեկտրոնային գործոններով:

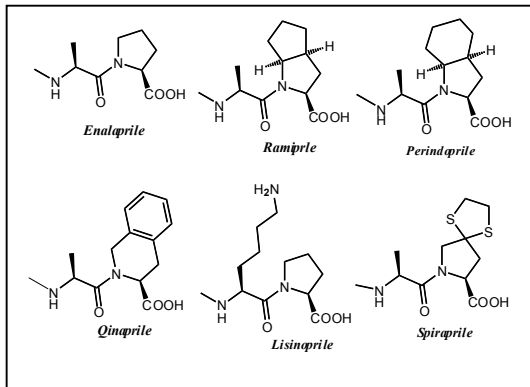
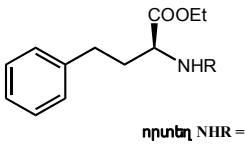
Եթե մինչև վերջին ժամանակներս ասիմետրիկ սինթեզը համարվում էր բավականին էկզոտիկ գործընթաց և ուներ միայն հիմնարար նշանակություն, ապա այսօր այն գտնվում է հանրաճանաչ դեղագործական ֆիրմաների ուշադրության կենտրոնում: Ակնհայտ է, որ կենսաբանորեն և դեղաբանորեն ակտիվ քիրալային միացությունների արտադրական գործընթացներում հզոր կենսատեխնոլոգիական մեթոդների հետ մրցունակ են հիմնականում ասիմետրիկ սինթեզի մեթոդները, իսկ ոչ բնական կառուցվածքով դեղապատրաստուկների արտադրության բնագավառում այն համարվում է միակ արդյունավետ ուղղությունը: Սուբստրատների ոչ բնական կառուցվածքի

պատճառով ամինաթթուների սինթեզի ավանդական մանրէաբանական և էնզիմատիկ մեթոդներն արդյունավետ չեն ոչ սպիտակուցային ամինաթթուների և նրանցից կազմված դեղապատրաստուկների ստացման գործընթացներում կիրառելու համար: Նման կարգի միացությունների արտադրության համար աշխարհում հաջողությամբ զարգացվում է ասիմետրիկ սինթեզի ուղղությունը:

Ասիմետրիկ սինթեզի եղանակով այսօր արտադրվում են ոչ սպիտակուցային ամինաթթուներից կազմված կարևոր դեղապատրաստուկներ, օրինակ՝ *Vancomicine*, *Enalapile*, *Qinapriole*, *Lisinopriole*, *Ramipriole*, *Perindopriole*, *Spirapriole* և այլն (նկար 19):



*Vancomicine*



**Նկար 19.** Ոչ սպիտակուցային ամինաթթուներ պարունակող որոշ դեղապատրաստուկների կառուցվածքը



Ասիմետրիկ սինթեզը, անկախ առաջացող արգասիքի օպտիկական մաքրության աստիճանից, կարող է լինել բացարձակ և մասնակի: Բացարձակ ասիմետրիկ սինթեզը (օրինակ՝ սինթեզ օպտիկապես ակտիվ կվարցի վրա, ֆոտոքիմիական սինթեզ բևեռացված լույսի ճառագայթների և այլ ասիմետրիկ ֆիզիկական գործոնների մասնակցությամբ) չի պահանջում որևէ օժանդակ օպտիկապես ակտիվ միացության մասնակցությունը սինթեզին: Գրականության մեջ նկարագրված բացարձակ ասիմետրիկ սինթեզի գրեթե բոլոր օրինակներում առաջացած արգասիքների օպտիկական մաքրությունը բավականին ցածր է, ինչի պատճառով այդ ուղղությունը կիրառական նշանակություն չի ստացել և այսօր օգտագործվում է միայն տեսական նպատակներով:

Մասնակի ասիմետրիկ սինթեզի պրոցեսներն իրականացվում են օժանդակ քիրալային մոլեկուլների մասնակցությամբ: Մասնակի ասիմետրիկ սինթեզն իր հերթին ստորաբաժանվում է մի շարք տարբերակների՝ դիաստերեոմերային և էնանտիոմերային, ստեխիոմետրիկ և կատալիտիկ:

Ասիմետրիկ սինթեզը կոչվում է *դիաստերեոմերային*, երբ ռեակցիայի արդյունքում առաջանում են դիաստերեոիզոմերներ, որոնք տարբերվում են իրարից ֆիզիկաքիմիական հատկություններով, օրինակ՝ ազատ էներգիայի պաշարով, հետևաբար՝ դիաստերեոիզոմերների միջև թերմոդինամիկական հավասարակշռության հաստատմամբ (*թերմոդինամիկորեն հսկվող ասիմետրիկ սինթեզ*) կամ անցումային վիճակի էներգիայի արժեքով, հետևաբար՝ առանձին դիաստերեոիզոմերների առաջացման ռեակցիաների արագությամբ (*կինետիկորեն հսկվող ասիմետրիկ սինթեզ*):

*Էնանտիոմերային* ասիմետրիկ սինթեզ տեղի է ունենում, երբ ռեակցիայի արդյունքում առաջանում են էնանտիոմերների ոչ հավասար քանակություններ: Այդպիսի ռեակցիաներն ընթանում են միջանկյալ դիաստերեոմերային անցումային վիճակներով, և հետագա ռեակցիաների մատչելիությունը, այսինքն՝ էնանտիոմերների առաջացման ճանապարհին տարբեր էներգիական պատմեշների հաղ-

թահարումը, ապահովում է օպտիկական անտիպոդների առաջացման ռեակցիաների տարբեր արագություններ:

Կախված օգտագործվող քիրալային ինդուկտորի քանակությունից՝ ասիմետրիկ սինթեզը կարող է լինել ստեխիոմետրիկ կամ կատալիտիկ: *Ստեխիոմետրիկ* ասիմետրիկ սինթեզի ռեակցիաներում քիրալային ինդուկտորը օգտագործվում է սուբստրատին ստեխիոմետրիկ (1:1) քանակությամբ, իսկ *կատալիտիկ* ասիմետրիկ սինթեզի ժամանակ՝ կատալիտիկ քանակությամբ (սուբստրատի մոլային քանակության 1/100-1000 քանակով): Չնայած այն հանգամանքին, որ տնտեսավարության տեսակետից առավել հեռանկարային է համարվում կատալիտիկ ասիմետրիկ սինթեզի ուղղությունը, այսօր ոչ սպիտակուցային ամինաթթուների փոքրածավալ արտադրության գործընթացներում կիրառություն են գտել ստեխիոմետրիկ ասիմետրիկ սինթեզի մեթոդները՝ ռեգեներացվող քիրալային օժանդակ ռեագենտների կիրառմամբ:

### **2.5.1. Կատալիտիկ ասիմետրիկ սինթեզ**

*Կատալիտիկ ասիմետրիկ սինթեզ*ն իրականացվում է քիրալային կատալիզատորի ներկայությամբ: Ի տարբերություն դասական կատալիզատորների՝ քիրալային կատալիզատորի դերը ոչ թե ռեակցիայի արագացումն է, այլ նրա ստերեոսելեկտիվ ընթացքի ապահովումը: Հետևաբար, ինչքան բարձր է սինթեզի ասիմետրիկ ելքը, այնքան արդյունավետ է համարվում քիրալային կատալիզատորը: Քիրալային կատալիզատորը կատարում է նույն դերը, ինչ քիրալային օժանդակ ռեագենտը, միայն այն տարբերությամբ, որ եթե ռեագենտը կիրառվում է սուբստրատին ստեխիոմետրիկ (1/1 մոլ) քանակությամբ, ապա կատալիզատորը ռեակցիայի մեջ է դրվում սուբստրատի քանակության համեմատ կատալիտիկ քանակներով (կատալիզատոր/սուբստրատ = 1/10-1000 մոլ):

Ներկայումս լուրջ հաջողություններ են արձանագրված ասիմետրիկ մետաղակոմպլեքսային կատալիզի բնագավառում: Մասնավորապես արդյունաբերական մասշտաբներով իրականացվում են

ամինաթթուների նախորդների ասիմետրիկ հիդրումը քիրալային ֆոսֆինոտրոֆումային կատալիզատորների ներկայությամբ կամ տեղակալված ալիլային սպիրտների ցիկլոպրոպանացումը  $Cu^{II}$  իոնի քիրալային կոմպլեքսների ներկայությամբ կամ տեղակալված ալիլային սպիրտների ասիմետրիկ էպօքսիդացումը  $Ti^{IV}$  իոնի քիրալային կոմպլեքսների ներկայությամբ և այլն: Կենսաբանորեն ակտիվ միացությունների ասիմետրիկ սինթեզի ռեակցիաներում առավել մեծ հետաքրքրություն են առաջացրել անցումային շարքի մետաղների ամինաթթվային, ամինասպիրտային, սալիցիլիդենային և այլ կոմպլեքսները՝ որպես քիրալային կատալիզատորներ:

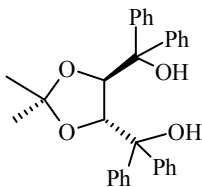
Համաձայն վերջերս հրապարակված տվյալների՝ քիրալային մետաղակոմպլեքսային կատալիզի հնարավոր մեխանիզմը բացատրվում է մետաղի իոնի կոորդինացիոն դաշտում ստեղծված քիրալային շրջափակման ազդեցությամբ ռեակցիաների նախընտրաբար ընթացքով: Անցումային շարքի մետաղակոմպլեքսում մետաղի իոնը (կամ իոնները) լրացուցիչ կոորդինացիոն կապերով կապվում է սուբստրատի (կամ սուբստրատների) հետ՝ ապահովելով նրանց փոխազդեցությունը ակիլոդ ազենտների հետ մետաղի իոնի կոորդինացիոն դաշտում: Այդ ընթացքում մետաղակոմպլեքսի խելատային օղակների կամ լիգանդի տեղակալիչների կողմից ստեղծված քիրալային շրջափակումը (տարածական էկրանացումը) ապահովում է ռեակցիաների ստերեոսելեկտիվ ընթացքը հարթության մի կողմից՝ բերելով օպտիկական իզոմերներից որևէ մեկի գերակշռաբար առաջացմանը:

Ամինաթթուների կատալիտիկ ասիմետրիկ սինթեզի բնագավառում մեծ հետաքրքրություն է առաջացրել միջֆազային կատալիզի (ՄՖԿ) պայմաններում ասիմետրիկ սինթեզի ուղղությունը, որը հատկապես ինտենսիվ զարգացում է ապրում վերջին տասնամյակների ընթացքում: Որպես քիրալային միջֆազային կատալիզատորներ՝ լայն կիրառություն են ստացել *Cinchona* բնական ակալոիդների դասին պատկանող ցինխոնինիներ, ցինխոնինը, խինինը, խինիդինը, ինդանոնը և այլն: Դրանց կիրառմամբ իրականացվել են ֆենիլալանին-

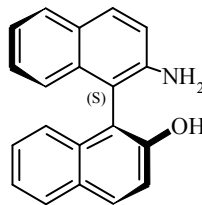
նի, ալանինի, ալիլգլիցինի և այլ ամինաթթուների ասիմետրիկ սինթեզներ՝ մինչև 45-97% ստերեոսելեկտիվությամբ:

Կատալիտիկ ասիմետրիկ սինթեզի ներկայումս հայտնի մեթոդների շարքում առանձնահատուկ հետաքրքրության են արժանի անցումային մետաղների քիրալային կոմպլեքսների կիրառմամբ մշակված մեթոդները: Արդյունավետ կատալիտիկ ասիմետրիկ սինթեզի իրականացման համար անհրաժեշտ է ունենալ մատչելի և ռեակցիոնունակ կատալիզատոր, որն ունակ լինի ընտրողաբար տարբերելու աքիրալ մոլեկուլի էնանտիոտոպ կողմերը: Բացի մետաղի իոնի ընտրությունից՝ գործնականում շատ կարևոր է նաև քիրալային լիգանդի մոլեկուլային կառուցվածքը: Լիգանդը պետք է պարունակի մետաղի իոնի հետ կապվելու ընդունակ ֆունկցիոնալ խմբեր, համապատասխան մոլեկուլային սիմետրիայի տարրեր և շրջակա տարածության առանձին մարզերը տարածականորեն կամ էլեկտրոնային սկզբունքով տարբերող տեղակալիչներ: ՄՖԿ պայմաններում ամինաթթուների նախորդների C-ալկիլման ռեակցիաներում որպես միջֆազային քիրալային կատալիզատոր հաջողությամբ օգտագործվում են (*S*)-**NOBIN**-ը և (*R,R*)-**TADDOL**-ը (10 մոլ%), որոնք ապահովում են համապատասխանաբար մինչև 68% և 82% օպտիկական ելքերով (*R*)- և (*S*)- $\alpha$ -ամինաթթուների ասիմետրիկ սինթեզը:

(*S*)-**NOBIN**-ը որպես ՄՖԿ բարձր էնանտիոսելեկտիվություն է ցուցաբերում գլիցինի և (2-բենզոիլֆենիլ)ամիդոպիրիդիլ-2-կարբոնաթթվի (**PBP**) Շիֆի հիմքի հետ Ni<sup>II</sup> իոնի առաջացրած աքիրալ կոմպլեքսում բարձր CH-թթվայնությամբ օժտված գլիցինի մնացորդի ալկիլման ռեակցիաներում:



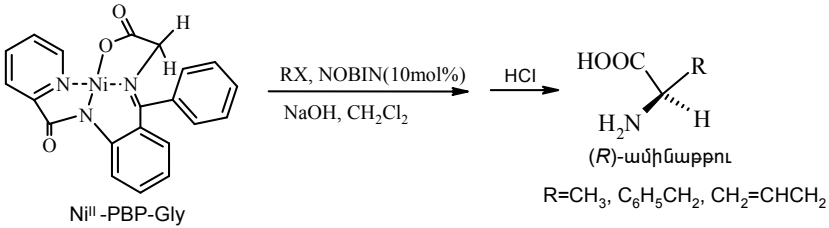
(*R,R*)-**TADDOL**



(*S*)-**NOBIN**

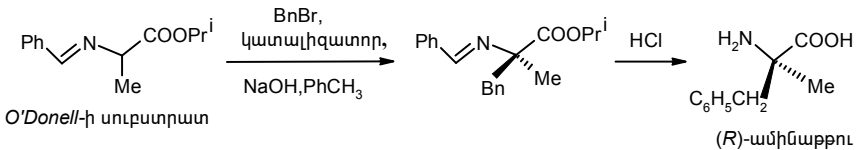
Նման կոմպլեքսում մետաղի իոնը լրացուցիչ կոորդինացվում է սուրստրատի (ակլիդոլ ազենտի) և կատալիզատորի հետ, ինչի շնորհիվ ակլիլման ռեակցիաներն ընթանում են տարածականորեն խիստ կողմնորոշված միջանկյալ անցումային վիճակով, որն էլ ապահովում է սինթեզի բարձր էնանտիոսելեկտիվություն ( $ee > 94\%$ ) (սխեմա 31):

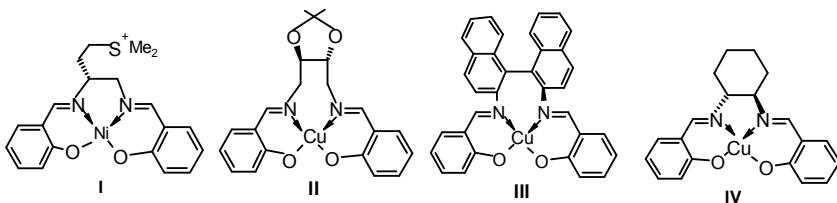
### Սխեմա 31



Ամինաթթուների կատալիտիկ ասիմետրիկ սինթեզի բնագավառում լուրջ հաջողություններ են արձանագրվել անցումային շարքի մետաղների ( $\text{Cu}^{\text{II}}$ ,  $\text{Ni}^{\text{II}}$  և այլն) սալենային կոմպլեքսների կիրառման դեպքում՝ որպես միջֆազային քիրալային կատալիզատորներ: Յու. Բելոկոնի և Մ. Նորթի կողմից սինթեզվել են  $\text{Cu}^{\text{II}}$  և  $\text{Ni}^{\text{II}}$  իոնների սալենային կոմպլեքսներ, և դրանք՝ որպես միջֆազային քիրալային կատալիզատորներ, հետազոտվել են ամինաթթուների ասիմետրիկ սինթեզի ռեակցիաներում (I-IV): Որպես սուրստրատ՝ օգտագործվել է ալանինի իզոպրոպիլային էսթերի և բենզալդեհիդի Շիֆի հիմքը (*O'Donnell*-ի սուրստրատ), և հետազոտվել են նրա ամինաթթվային մնացորդի C-ակլիլման ռեակցիաները բենզիլբրոմիդով (սխեմա 32):

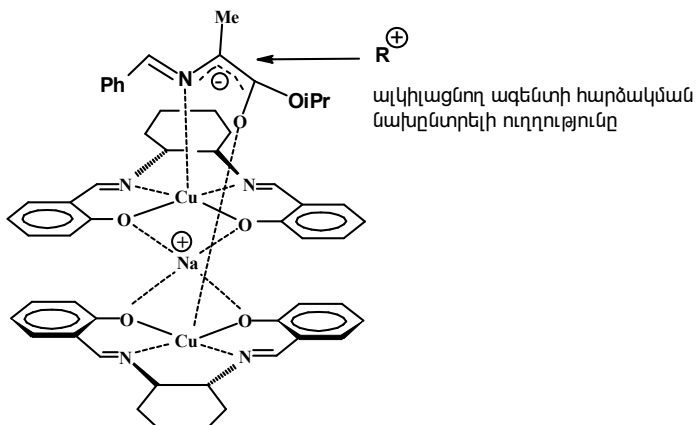
### Սխեմա 32





Ալկիլումն իրականացվել է տոլուոլի միջավայրում պինդ NaOH-ի և 1-10 մոլ% կատալիզատորի առկայությամբ: Լավագույն արդյունքներ են արձանագրվել հատկապես ցիկլոհեքսիլդիամինային լիգանդի հիման վրա կառուցված  $\text{Cu}^{\text{II}}$  իոնի սալենային կոմպլեքսի (IV) դեպքում, որն ապահովում է (*R*)- $\alpha$ -մեթիլֆենիլալանինի և (*R*)- $\alpha$ -ալիլալանինի 94%-ից բարձր ստերեոսելեկտիվություն:

Բազմաթիվ հետազոտությունների արդյունքում հեղինակները ենթադրել են, որ ալկիլման ստերեոդիֆերենցման փուլում ռեակցիային մասնակցում են առնվազն կատալիզատորի երկու մոլեկուլներ, իսկ ալկիլման պրոցեսն ընթանում է միջանկյալ հոմոքիրալ իոնական գոյգի առաջացմամբ (նկար 20):



**Նկար 20.**  $\text{Cu}^{\text{II}}$  իոնի սալենային կոմպլեքսի կատալիզով ընթացող միջֆազային C-ալկիլման ռեակցիայի անցումային վիճակի հիպոթետիկ մոդելը

Հավանաբար անցումային վիճակում քիրալային կատալիզատորի մոլեկուլները սովատացվում են  $\text{Na}^+$  իոնի հետ, իսկ առաջացած դիմեր կոմպլեքսի  $\text{Cu}^{2+}$  իոնները ֆազերի բաժանման սահմանին (պինդ  $\text{NaOH}$ -ի մակերևույթին) կապում են ալանինի իզոպրոպիլային էսթերի և բենզալդեհիդի Շիֆի հիմքի կարբանիոնին: Դրա շնորհիվ իոնական զույգը ձեռք է բերում բավարար լիպոֆիլություն լուծույթի ծավալն անցնելու համար, որտեղ էլ տեղի է ունենում ալկիլման ռեակցիան: Ալկիլոդ ազենտի հարձակումը կարբանիոնին նախընտրաբար տեղի է ունենում սովատացված դիմեր կոմպլեքսի Շիֆի հիմքերի հարթության մի կողմից, որն էլ ապահովում է սինթեզի ստերեոսելեկտիվ ընթացքը:

Բացի վերոհիշյալ կոմպլեքսներից՝ հայտնի են նաև անցումային շարքի այլ մետաղների ( $\text{Co}^{\text{II}}$ ,  $\text{V}^{\text{IV}}$ ,  $\text{Ti}^{\text{VI}}$  և այլն) սալենային կոմպլեքսներ, որոնք բարձր ստերեոսելեկտիվություն են ցուցաբերում տարբեր կենսաբանորեն ակտիվ նյութերի ասիմետրիկ սինթեզի ռեակցիաներում՝ որպես քիրալային կատալիզատորներ:

### ***2.5.2. Ստեխիոմետրիկ ասիմետրիկ սինթեզ***

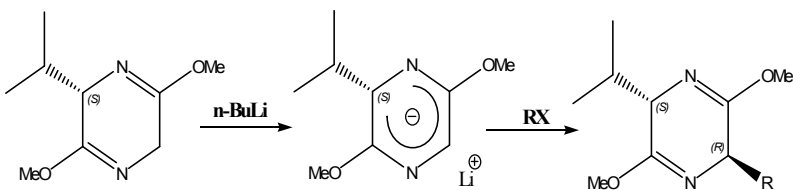
Ստեխիոմետրիկ ասիմետրիկ սինթեզը հիմնված է քիրալային օժանդակ ռեագենտների կիրառման վրա, որոնք սուբստրատի հետ կոմպլեքսվում են ստեխիոմետրիկ քանակներով՝ ապահովելով սուբստրատի ստերեոսելեկտիվ տրանսֆորմացումը արգասիքի: Ընդ որում՝ սինթեզի ստերեոսելեկտիվ ընթացքը կարող է պայմանավորված լինել ինչպես ստերեոէլեկտրոնային, այնպես էլ տարածական գործոններով:

Ամինաթթուների ստեխիոմետրիկ ասիմետրիկ սինթեզի ուղղությամբ միջազգային գիտական հանրությանը հայտնի են հանրաճանաչ գիտական խմբեր, որոնք լուրջ ներդրումներ ունեն այս ուղղության զարգացման գործընթացներում: Արժե հիշատակել Շոլլկոպֆի, Ջեբեախի, Էվանսի, Օպոլզերի և Բելոկոնի աշխատանքները:

XX դարի 80-ական թվականների լավագույն նվաճումներից են Շոլլկոպֆի և աշխատակիցների կողմից առաջարկված  $\alpha$ -ամինա-

թթուների ասիմետրիկ սինթեզի մեթոդները՝ հիմնված երկու ամինա-թթուներից կազմված 2,5-դիկետոպիպերազինների քիրալային քիս-լակտիմային եթերների ալկիլման ռեակցիաների վրա: Մասնավորապես օգտագործվել է գլիցինի և (S)-վալինի *քիս*-լակտիմային եթեր, որի գլիցինային մնացորդի C-ալկիլման արդյունքում առաջանում է (R)-բացարձակ կոնֆիգուրացիայով նոր ամինաթթու: Այդ դեպքում դիկետոպիպերազինի 2-րդ դիրքում վալինի (S)-բացարձակ կոնֆիգուրացիան մակաձում է 5-րդ դիրքում նոր առաջացած ամինաթթվային մնացորդի  $\alpha$ -ածխածնի ատոմի (R)-բացարձակ կոնֆիգուրացիա, և հսկառակը:

### Սխեմա 33



(S)-Val-Gly քիս-լակտիմ (S)-Val-(R)-AA քիս-լակտիմ  
AA – amino acid (ամինաթթու)

Հայտնի են ամինաթթուների ստեխիոմետրիկ ասիմետրիկ սինթեզին նվիրված բազմաթիվ այլ աշխատանքներ, որոնց դեպքում օգտագործվում են տարբեր կառուցվածքի և բնույթի քիրալային օժանդակ ռեագենտներ: Բնականաբար, տեխնոլոգիական տեսակետից առավել արդյունավետ է ռեգեներացվող քիրալային օժանդակ ռեագենտների կիրառմամբ ամինաթթուների ստեխիոմետրիկ ասիմետրիկ սինթեզի իրականացումը: Այս առումով բավականին հեռանկարային է կենսամիմետիկ ասիմետրիկ սինթեզի ուղղությունը:

**Կենսամիմետիկ ասիմետրիկ սինթեզ** նշանակում է բնության մեջ տեղի ունեցող կենսակատալիտիկ պրոցեսների կրկնօրինակումը պարզ քիմիական մոդելային համակարգերի վրա: Հետևաբար, կենսամիմետիկ քիմիայի կարևորագույն խնդիրն է կենսակատալիզատորների արդյունավետ մոդելային համակարգերի ստացումը:



Հայտնի է, որ օրգանիզմում պիրիդօքսալֆոսֆատ (ՊՖ) կախյալ ֆերմենտների կատալիզով ընթացող ամինաթթվային փոխարկումների ժամանակ առաջանում են միայն *L*-ամինաթթուներ: Հետևաբար, ՊՖ կախյալ ֆերմենտների արդյունավետ կենսամիմետիկ մոդելների կիրառման դեպքում հնարավոր է իրականացնել *L*-ամինաթթուների բարձրասելեկտիվ ասիմետրիկ սինթեզ:

Անհրաժեշտ է նշել, որ աքիրալային ելանյութերից կենսամիմետիկ համակարգերի միջոցով էնանտիոմերապես հարստացված ամինաթթուների ասիմետրիկ սինթեզի իրականացումն այնպես, ինչպես դա արվում է ֆերմենտների կողմից կենսաբանական մակարդակով, առ այսօր մնում է չլուծված:

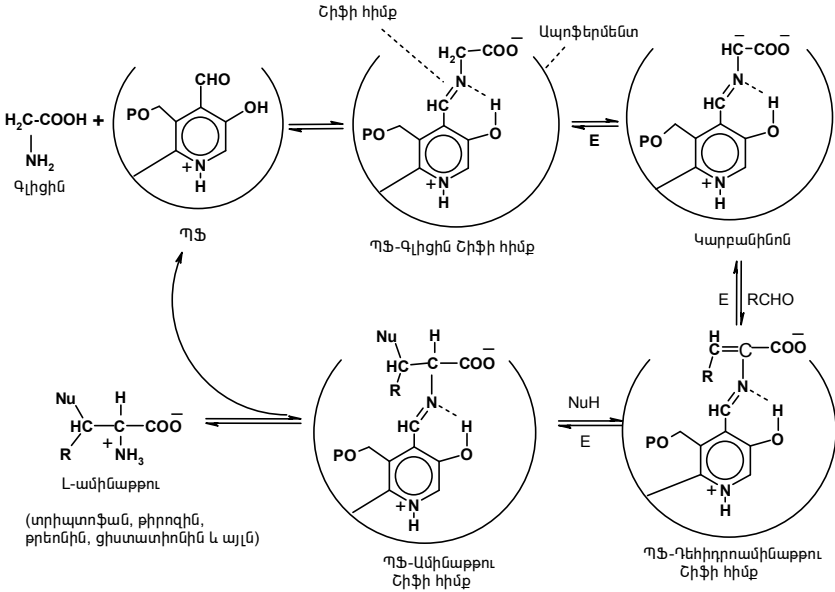
Բնության մեջ ամինաթթուների ասիմետրիկ սինթեզն իրականացնում են ակտիվ կենտրոնում պիրիդօքսալֆոսֆատ պարունակող ֆերմենտները, որոնք հանդիսանում են նաև օրգանիզմում ամինաթթուների մետաբոլիզմի հիմնական պատասխանատուները: Դրանք կատալիզում են ամինաթթվի մոլեկուլում զանազան կապերի խզման և խմբերի տեղակալման ռեակցիաներ: Այդպիսի ռեակցիաների թվին են դասվում ամինաթթվի  $\alpha$ -H-ի պոկման և առաջացած կարբանիոնի C-ակլիլման,  $\beta$ -օքսի- $\alpha$ -ամինաթթուների  $\alpha, \beta$ -էլիմինացման և առաջացած դեհիդրոամինաթթուների C=C կապին նուկլեոֆիլների միացման և այլ ռեակցիաներ:

Անցած դարի 50-ական թվականներին կենսաքիմիական հետազոտությունների արդյունքում կուտակված բավարար փաստերի հիման վրա ակադեմիկոսներ Բրաունշտեյնն ու Շեմյակինը ԽՍՀՄ-ում և Մետցլերն ու Սնեյլը ԱՄՆ-ում առաջարկել են պիրիդօքսալային կատալիզի նոր տեսություն (սխեմա 34):

Համաձայն այդ տեսության՝ սինթեզի առանցքային փուլը ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնում  $\beta$ -դիրքում էլեկտրաբացասական տեղակալիչ պարունակող ամինաթթվի՝ սուբստրատի և պիրիդօքսալային ալդեհիդի միջև Շիֆի հիմքի առաջացումն է: Առաջացած Շիֆի հիմքում ամինաթթվային մնացորդի  $\alpha$ -ջրածինը ձեռք է բերում բարձր CH-թթվայնություն, քանի որ պիրիդօքսալը, դառնալով էլեկտրո-

մասկցեպտոր, փոքրացնում է ամինաթթվի  $\alpha$ -ածխածնի ատոմի մոտ էլեկտրոնային խտությունը և հեշտացնում է  $C_{\alpha}$ -H կապի խզումը:

### Սխեմա 34



Շնորհիվ բավարար  $CH$ -թթվայնության՝ ամինաթթվային մնացորդը հեշտությամբ վերածվում է հարթ կարբանիոնի, որի մոլեկուլում էլեկտրոնային խտությունը բաշխվում է այնպես, որ առավելագույն բացասական լիցք կենտրոնացվում է ամինաթթվային մնացորդի  $\alpha$ -ածխածնի ատոմի մոտ: Այնուհետև տեղի է ունենում գլիցինի ակտիվ կարբանիոնին տարբեր էլեկտրոֆիլ մնացորդների միացումը՝ համապատասխան ամինաթթուների շիֆային հիմքերի առաջացմամբ: Օրինակ՝ գլիցինի մնացորդի ալդոլային կոնդենսումը բերում է համապատասխան  $\beta$ -օքսի- $\alpha$ -ամինաթթուների (սերինի, քրեոնինի) և ՊՖ ֆերմենտի Շիֆի հիմքերի առաջացմանը: Վերջիններս միջանկյալ փուլում ամինաթթվային մնացորդի  $O$ -ացետիլմամբ և առաջացած ացետիլամինաթթվի մնացորդից կարբոնաթթվի (օրինակ՝ քա-

ցախաթթվի) մնացորդի  $\alpha$ ,  $\beta$ -էլիմինացմամբ տրանսֆորմացվում են համապատասխան դեհիդրոամինաթթուների (օրինակ՝ դեհիդրոամինակարագաթթվի) և ՊՖ-ֆերմենտի Շիֆի հիմքերի: Առաջացած դեհիդրոամինաթթվային շիֆային հիմքերը պարունակում են ակտիվ էլեկտրոֆիլ  $C=C$  կապ և հեշտությամբ ենթարկվում են նուկլեոֆիլների միացման՝ առաջացնելով  $\beta$ -դիդրոմ ֆունկցիոնալ խմբեր պարունակող ամինաթթուների և ՊՖ-ֆերմենտի Շիֆի հիմքեր: Վերջիններիս հիդրոլիզը բերում է նպատակային ամինաթթվի առաջացմանը, որի ընթացքում վերականգնվում է ելային ՊՖ-ֆերմենտը: Այս սխեմայով օրգանիզմում սինթեզվում են թրեոնին, տրիպտոֆան, թիրոզին, ցիտատիոնին և այլ ամինաթթուներ:

Ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնում պիրիդօքսալֆոսֆատը ամրանում է կովալենտային, իոնական կամ հիդրոֆոր փոխազդեցությունների, ինչպես նաև կոֆերմենտի և ապոֆերմենտի ֆունկցիոնալ խմբերի միջև ջրածնական կապերի հաշվին: Մասնավորապես կովալենտ փոխազդեցություններ են տեղի ունենում ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնում ՊՖ-ի և լիզինի մնացորդի  $\omega$ -ամինոխմբի միջև՝ Շիֆի հիմքի առաջացմամբ, իոնական փոխազդեցություններ են առաջանում ՊՖ-ի իոնիզացված ֆոսֆատային և հիդրօքսիլային խմբերի միջև և այլն: Այսպիսով՝ ֆերմենտի կարևոր ֆունկցիաներից մեկը նրա ակտիվ կենտրոնում ամինաթթվի և պիրիդօքսալային ալդեհիդի միջև Շիֆի հիմքի առաջացումն է: Ըստ Բրաունշտեյնի՝ ամինաթթվի և ՊՖ-ի միջև Շիֆի հիմքի առաջացումը համարվում է պիրիդօքսալային կատալիզի որոշիչ փուլը, և այն պայմանավորում է հետագա ամինաթթվային փոխարկումների ասիմետրիկ ընթացքը:

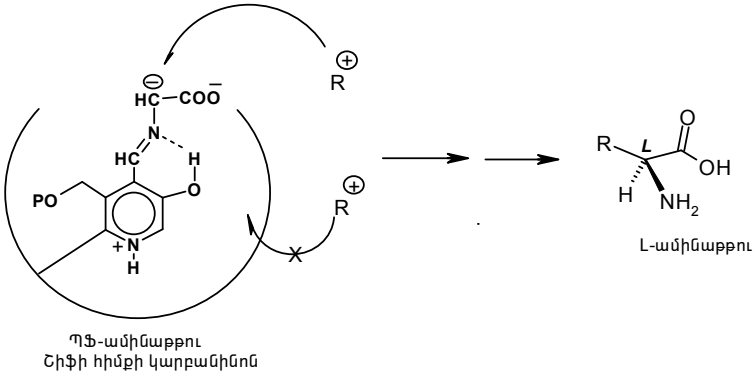
Կատարված հետազոտությունների հիման վրա կարելի է անել հետևյալ եզրակացությունները.

- ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնում ՊՖ-ի և ամինաթթվի միջև Շիֆի հիմքի առաջացումը համակարգին հաղորդում է բավարար անբույն ներմոլեկուլային ոչ կովալենտային (ջրածնական, էլեկտրոստատիկ և այլ) փոխազդեցությունների շնորհիվ,

- շնորհիվ ՊՖ-ի և ամինաթթվի միջև Շիֆի հիմքի առաջացման

ամինաթթվային մնացորդը ձեռք է բերում բավարար CH-թթվայնություն և հեշտությամբ ենթարկվում է C-ալկիլման՝ էլեկտրոֆիլ կամ նուկլեոֆիլ մնացորդների հետ կոնդենսմամբ,

- ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնում ՊՖ-ի և ամինաթթվի միջև Շիֆի հիմքի առաջացման շնորհիվ համակարգը ձեռք է բերում բարձր էմանտիոսելեկտիվություն և ապահովում է ամինաթթվային փոխարկումների 100% ասիմետրիկ ընթացքը: Ֆերմենտի ոչ ակտիվ սպիտակուցային շղթան՝ ապոֆերմենտը, շրջափակում է ամինաթթվային մնացորդը Շիֆի հիմքի հարթության տարբեր կողմերից և թողնում է բաց պատուհան փոխանակվող խմբի մոտեցման համար: Այդ պատճառով էլ նման համակարգերում ռեակցիաները ընտրողաբար ընթանում են հարթության միակ թույլատրված կողմից՝ ապահովելով L-ամինաթթուների 100% ասիմետրիկ սինթեզը (նկար 21):



**Նկար 21.** Ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնում ՊՖ-ի և ամինաթթվի Շիֆի հիմքի քիրալային շրջափակումը ապոֆերմենտով և ռեակցիաների ստերեոսելեկտիվ ընթացքը

Այսպիսով՝ սպիտակուց-ֆերմենտի դերը այնպիսի կայուն միկրոհետերոգեն համակարգի ստեղծումն է, որը կապահովի ամինաթթվային փոխարկումների արագ և ստերեոսելեկտիվ ընթացքը: Այս գաղափարը հետագայում ամրագրվել է Դ-անաթանի հիպոթեզով, որը բացատրում է ֆերմենտների ազդեցության ընտրողական բնույ-

թը՝ պայմանավորված ստերեոէլեկտրոնային գործոններով: ՊՖ-կախյալ ֆերմենտների ռեակցիոնունակության և սուբստրատային սպեցիֆիկության կարևորագույն առանձնահատկություններից է նրանց կողմից կատալիզվող փոխարկումների ստերեոքիմիան: Բացառությամբ ռացեմազների՝ մնացած ՊՖ-կախյալ ֆերմենտները տարբերում են ինչպես ամինաթթուների էնանտիոմերները, այնպես էլ ամինաթթվային մնացորդների էնանտիոտոպ կողմերը, և դրանց կողմից կատալիզվող C $\alpha$ -C և C $\alpha$ -H կապերի խզումն ու առաջացումն ընթանում են էնանտիոսպեցիֆիկ և էնանտիոսելեկտիվ:

Սակայն լինում են նաև բացառություններ ընդհանուր օրինաչափություններից: Նախ և առաջ դրանք ռացեմազներն են, որոնց ակտիվ կենտրոնում սովորաբար գտնվում են երկու հիմնային խմբեր: Հիմնային խմբերից մեկը ամինաթթվից պոկում է պրոտոնը, իսկ մյուսը վերադարձնում է այն հարթության հակառակ կողմից:

Հիմք ընդունելով վերոհիշյալը՝ ակնհայտ է դառնում, որ ամինաթթուների ասիմետրիկ կենսամիմետիկ սինթեզի իրականացման համար առաջին հերթին պետք է ստանալ ֆերմենտների արդյունավետ մոդելային համակարգեր, որոնց մոտ բավարար չափով արտահայտված կլինեն վերը նշված երեք անհրաժեշտ պայմանները:

Համաձայն գրական տվյալների՝ ֆերմենտների պարզ մոդելային համակարգերի դերում ավելի հաճախ հանդես են գալիս անցումային շարքի մետաղների ամինաթթվային կոմպլեքսները, որոնց կառուցվածքում ամինաթթվային մնացորդը կապված է մետաղի իոնի կոորդինացիոն թաղանթի հետ կայուն Շիֆի հիմքի համակարգով: Նման կոմպլեքսներում ապոֆերմենտի դերը կատարում է մետաղի իոնը, իսկ ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի ֆունկցիոնալ խմբերի դերը՝ պիրիդոքսալային ալդեհիդը (կամ նրա որևէ կարբոնիլային մնանակը) կապված ամինաթթվի հետ Շիֆի հիմքի համակարգով:

Գրականության մեջ ներկայացված են ոչ մեծ թվով աշխատանքներ՝ նվիրված պիրիդոքսալային կատալիզի մեխանիզմների մոդելավորմանը, որտեղ որպես ՊՖ-ֆերմենտների պարզ մոդելային համակարգեր կիրառվում են անցումային շարքի մետաղակոմպլեքսները: Սինթեզվել և հետազոտվել են Co<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> և Ni<sup>2+</sup> իոնների տես-

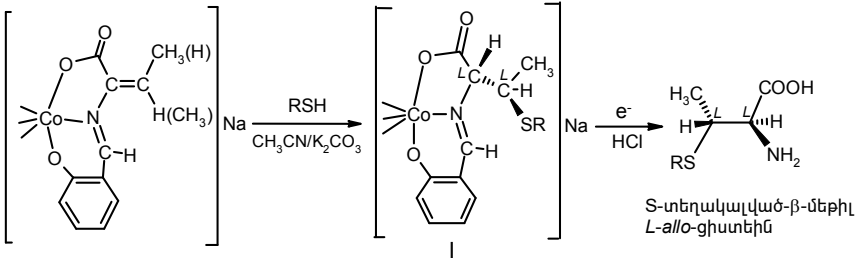
րաւորիկ (կամ հարթ-քառակուսային) և  $\text{Co}^{3+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  և  $\text{Fe}^{3+}$  իոնների օկտաէդրիկ կոմպլեքսները՝ որպէս լիգանդներ տարբեր կառուցվածքի և ծագման կարբոնիլային միացութիւնների օգտագործմամբ: Այդ կոմպլեքսները հետազոտվել են պիրիդօքսալային ֆերմենտների ազդեցությամբ ընթացող էպիմերացման, ռացեմացման, ռետրոալդոլային ճեղքման (C-C կապի խզում),  $\alpha,\beta$  և  $\beta,\gamma$ -էլիմինացման և միացման, C-ալկիլման և այլ ռեակցիաների կրկնօրինակման գործընթացներում՝ ինչպէս պիրիդօքսալային կատալիզի որոշ մեխանիզմների պարզաբանման, այնպէս էլ ամինաթթուների ասիմետրիկ կենսամիմետիկ սինթեզի իրականացման նպատակով:

Գոհացուցիչ արդյունքներ են արձանագրվել  $\text{Co}^{\text{III}}$  և  $\text{Al}^{\text{III}}$  իոնների *phu*-պիրիդօքսալիդենային և *phu*-սալիցիլիդենային օկտաէդրիկ կոմպլեքսների դեպքում: Յույց է տրվել, որ այդ կոմպլեքսների կառուցվածքում կոորդինացիոն կապերը և վալենտային անկյունները բավարար ամուր են և ապահովում են կոմպլեքսների անհրաժեշտ կայունությունն ու ստերեոքիմիական իներտությունը ամինաթթվային փոխարկումների ժամանակ: Բացի դրանից՝ նրանց ամինաթթվային մնացորդները բավականին ակտիվ CH-թթուներ են և միջին ուժեղությամբ հիմքերի ներկայությամբ հեշտությամբ ենթարկվում են C-ալկիլման: Մասնավորապէս համապատասխան ալկիլիալոգենիդներով  $\text{Co}^{\text{III}}$  *phu*-սալիցիլիդենային օկտաէդրիկ կոմպլեքսների գլիցինի մնացորդի C-ալկիլման ճանապարհով մինչև 30% էմանտիոսելէկտիվությամբ իրականացվել են (S)-ֆենիլալանինի և (S)-ալանինի ասիմետրիկ սինթեզներ:

Պարզվել է, որ դեհիդրոամինաթթուների շիֆային հիմքերի մետաղակոմպլեքսները նույնպէս կարելի է դիտարկել որպէս ՊՖ-կախյալ ֆերմենտների արդյունավետ մոդելային համակարգեր, և դրանք կարելի է օգտագործել  $\beta$ -դիքսոն էլէկտրոնաբացասական տեղակալիչներ պարունակող ամինաթթուների ասիմետրիկ կենսամիմետիկ սինթեզի ռեակցիաներում: Այդ կոմպլեքսների դեհիդրոամինաթթվային մնացորդը պարունակում է ակտիվ էլէկտրոֆիլ C=C կապ և նույնիսկ թույլ հիմքերի ներկայությամբ կարող է հեշտությամբ միանալ նուկլեոֆիլների հետ: Օրինակ՝  $\text{Co}^{3+}$  իոնի *phu*-սալիցի-

լիդենային օկտաէդրիկ կոմպլեքսներում դեհիդրոամինակարագա-  
 քթվի մնացորդի C=C կապին քիւլների (քիոֆենոլի, բենզիլմերկապ-  
 տանի) նուկլեոֆիլային միացմամբ իրականացվել են S-տեղակալ-  
 ված L-allo-ցիստեինների ասիմետրիկ սինթեզներ՝ մինչև 40% դիա-  
 ստերեոսելեկտիվությամբ (սխեմա 35):

### Սխեմա 35

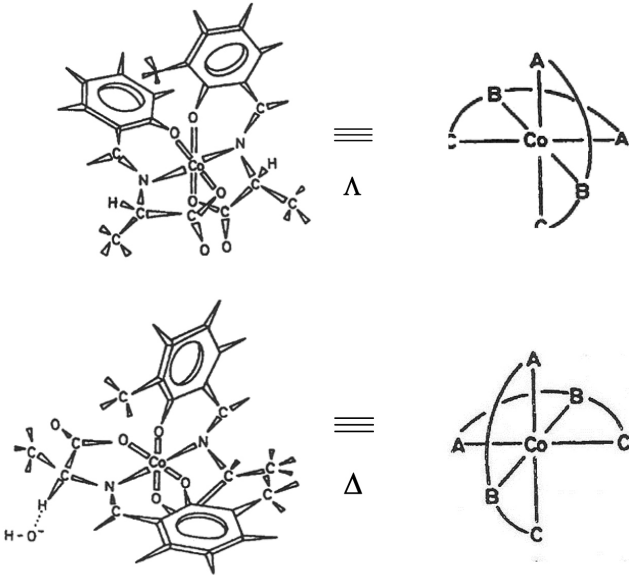


Դեհիդրոամինակարագաքթվի  
 քիս-սալիցիլիդենային Co<sup>III</sup> կոմպլեքս

Սինթեզված նպատակային ամինաքթվի անջատման համար առաջացած Co<sup>III</sup> իոնի քիս-սալիցիլիդենային օկտաէդրիկ կոմպլեքսը (I) ենթարկվել է էլեկտրաքիմիական քայքայման՝ Co<sup>III</sup> իոնը վերականգնելով մինչև Co<sup>II</sup>:

Սինթեզի ասիմետրիկ ընթացքը պայմանավորված է Co<sup>III</sup> իոնի օկտաէդրիկ քիս-սալիցիլիդենային կոմպլեքսներում առկա էնանտիոսելեկտիվ էֆեկտներով, որոնք իրենց հերթին պայմանավորված են կոմպլեքսների քիրալային կառուցվածքով: Կոմպլեքսի կառուցվածքում առկա C<sub>2</sub> սիմետրիայի առանցքի շուրջը երկու տրիդենտատնո լիգանդները բաշխվում են երկրաչափական  $\Lambda$  և  $\Delta$  տարածական իզոմերների տեսքով (նկար 22): Տրիդենտատնո լիգանդների տեղակալիչների ստեղծած տարածական շրջափակումների շնորհիվ ամինաքթվային մնացորդներին էլեկտրոֆիլների կոնդենսման կամ դեհիդրոամինաքթվային մնացորդների կրկնակի կապին նուկլեոֆիլների միացման ռեակցիաները հավասարազոր չեն ընթանում Շիֆի հիմքի հարթության *re* և *si* կողմերից: Ալկիլման ռեակցիաները նա-

խընտրաբար են ընթանում Շիֆի հիմքի հարթության *si* կողմից՝ *L*-բացարձակ կոնֆիգուրացիայով ամինաթթուների ասիմետրիկ առաջացմամբ:



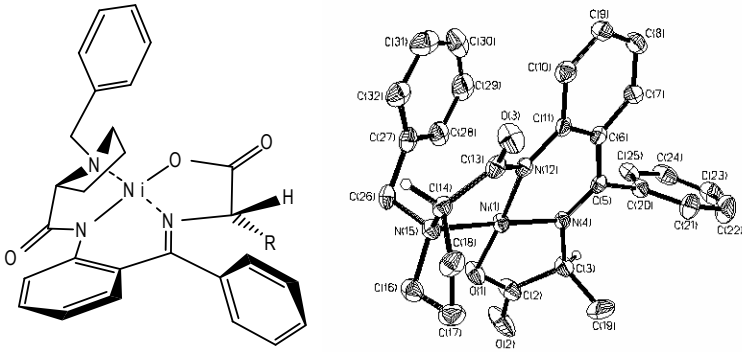
**Նկար 22.**  $\text{Co}^{\text{III}}$  իոնի օկտաէդրիկ *phu*-սալիցիլիդենային կոմպլեքսների  $\Lambda$  և  $\Delta$  ստերեոիզոմերների կառուցվածքը

Արձանագրված տվյալները վկայում են այն մասին, որ  $\text{Co}^{\text{III}}$  իոնի *phu*-սալիցիլիդենային ամինաթթվային կոմպլեքսները հանդիսանում են ՊՖ-կախյալ ֆերմենտների հարմար մոդելային համակարգեր այնպիսի պրոցեսների կրկնօրինակման համար, որոնց հիմքում ընկած են ամինաթթվային մնացորդի շարժում  $\alpha$ -պրոտոնների պոկման ռեակցիաները՝ ռացեմացման, էպիմերացման, ռետրոալդոլային ճեղքման, էլիմինացման, դեյտերափոխանակման և այլն: Սակայն ցածր էնանտիոսելեկտիվության պատճառով այս կոմպլեքսները հետագա կիրառություն չեն ստացել ամինաթթուների ասիմետրիկ սինթեզի գործընթացներում: Սովորաբար տեխնոլոգիական տեսակետից մատչելի են ասիմետրիկ սինթեզի այն մեթոդները, որոնք ապահո-



վում են մինչև 90% ստերեոսելեկտիվություն, ինչը հնարավորություն է տալիս մեկ վերաբյուրեղացմամբ ստանալու օպտիկապես մաքուր արգասիք: Այս տեսակետից լուրջ հաջողություններ են արձանագրվել  $Ni^{II}$  իոնի հարթ քառակուսային կոմպլեքսների կիրառման դեպքում, որոնք կազմված են բնական ցիկլիկ (*S*)-սրոլին ամինաթթվի կարբոնիլային ածանցյալների հիման վրա կառուցված քիրալային օժանդակ ռեագենտների և ամինաթթուների Շիֆի հիմքերից:

Դեռևս XX դարի 80-ական թվականներին Յու. Բելոկոնի և աշխատակիցների կողմից սինթեզվել են (*S*)-2-N-(N'-բենզիլսրոլիլ)ամինաթենոֆենոն (*BPB*) քիրալային օժանդակ ռեագենտի և ամինաթթուների Շիֆի հիմքերի հետ  $Ni^{II}$  իոնի առաջացրած հարթ քառակուսային կոմպլեքսները՝  $Ni^{II}$ -(*S*)-*BPB*-(*S*)-*AA* (նկար 23):



$Ni^{II}$ -(*S*)-*BPB*-(*S*)-*AA*  
*AA*-amino acid (ամինաթթու)

**Նկար 23.** *BPB* քիրալային օժանդակ ռեագենտի և նրա ամինաթթվային կոմպլեքսի կառուցվածքը

Այս կոմպլեքսների կառուցվածքում մետաղի իոնը կոորդինացված է իոնացված կարբօքսիլային խմբի թթվածնի և երեք ազոտի (պիրոլիդինային, իոնացված ամինային և Շիֆի հիմքի) ատոմների հետ: Կոմպլեքսներն ունեն հարթ քառակուսային կառուցվածք, որտեղ խելատային օղակներն աղավաղված են, և N-բենզիլսրոլիլինի

մնացորդի ֆենիլալին օղակն էկրանացնում է ամինաթթվային մնացորդին հարթության *re* կողմից:

Ռենտգեն կառուցվածքային անալիզի և կոնֆորմացիոն հաշվարկների միջոցով պարզաբանվել է, որ այդ կոնալլեքսներում առկա են բավականին բարձր էնանտիոսելեկտիվային էֆեկտներ, և դրանք պայմանավորված են Շիֆի հիմքի հարթության *re* կողմում ամինաթթվային մնացորդի շուրջը երկու ֆենիլալին խմբերի (բենզիլալոլինի և ամինաբենզոֆենոնի մնացորդների) ստեղծած քիրալային շրջափակմամբ: Երկու ֆենիլալին օղակները էկրանացնում են ամինաթթվային ֆրագմենտին Շիֆի հիմքի հարթության *re* կողմից՝ *si* կողմը դարձնելով ավելի հասանելի ալկիլոդ ազենտի համար: Այդպիսի կոշտ և բազմացիկլիկ համակարգով կոնալլեքսի օղակներից մեկում գտնվող (S)-պրոլինի քիրալային կենտրոնը որոշում է մնացած օղակների կոնֆորմացիան և փոխադարձ դիրքը տարածության մեջ (տե՛ս նկար 23):

Ակնհայտ է, որ Ni<sup>II</sup> իոնի հարթ քառակուսային կոնալլեքսներում առավել խորն են արտահայտված պիրիդոքսալային կատալիզի վերը նշված երեք անհրաժեշտ պահանջները: Դրանք ունեն ավելի կոշտ կառուցվածք և ստերեոքիմիապես իներտ են, դրանց ամինաթթվային մնացորդները օժտված են ուժեղ CH-թթվայնությամբ, իսկ կոնալլեքսների մակրոկառուցվածքը ապահովում է բարձր էնանտիոսելեկտիվային էֆեկտների առկայությունը: Հետևաբար, այդ կոնալլեքսների կիրառմամբ հնարավոր է իրականացնել ամինաթթուների արդյունավետ ասիմետրիկ կենսամիմետիկ սինթեզներ:

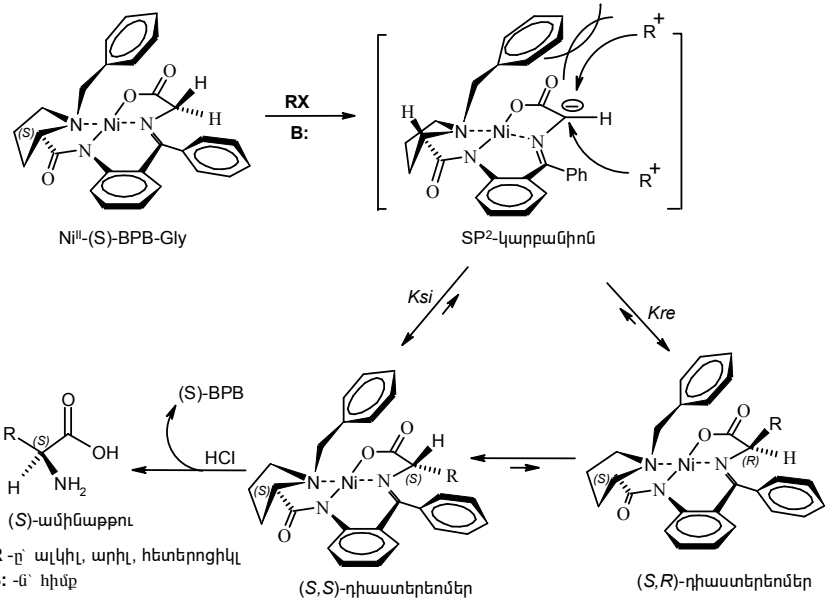
Ni<sup>II</sup> իոնի հարթ քառակուսային կոնալլեքսներին բնորոշ են նաև հետևյալ տեխնոլոգիական առավելությունները.

- դրանք լավ լուծվում են օրգանական լուծիչներում և գործնականում չեն լուծվում ջրում, ինչը բավականին հեշտացնում է ռեակցիայից հետո միջավայրից սինթեզված կոնալլեքսների անջատման և մաքրման գործընթացները,
- կոնալլեքսները դիամագնետիկ են, ինչը հնարավորություն է տալիս օգտագործելու ՄՄՌ- սպեկտրադիտական մեթոդը սինթեզված արգասիքների կառուցվածքային հետազոտությունների համար,

- սինթեզն ավարտելուց հետո կոմպլեքսների քայքայման և նպատակային ամինաթթուների անջատման փուլում ելային քիրալային օժանդակ ռեագենտը (BPB) վերականգնվում է քանակական քիմիական ելքերով և ելային օպտիկական ակտիվության ամբողջական պահպանմամբ, ինչը հնարավորություն է տալիս նրանց օգտագործելու բազմակի անգամ ամինաթթուների ասիմետրիկ սինթեզի ռեակցիաներում:

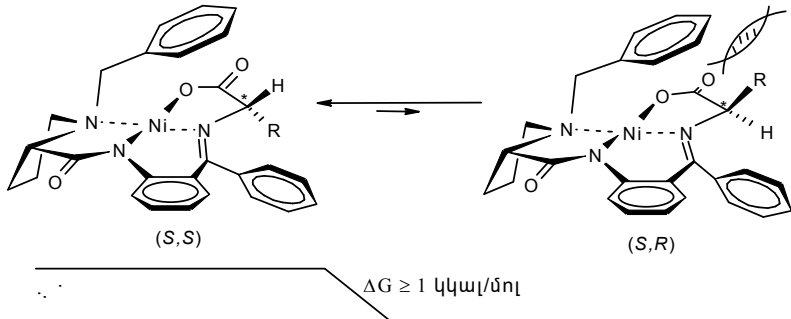
Անհրաժեշտ է նշել, որ  $Ni^{II}$  իոնի հարթ քառակուսային ամինաթթվային կոմպլեքսների փորձարկման ժամանակ հաստատվել են վերը նշված տեսական մտահղացումները՝ որպես ՊՖ-կախյալ ֆերմենտների մոդելային համակարգեր: Կոմպլեքսները հետագուտվել են ինչպես ամինաթթուների C-ակտիվման, այնպես էլ դեհիդրոամինաթթուներին նուկլեոֆիլների միացման ասիմետրիկ ռեակցիաներում (սխեմա 36):

**Սխեմա 36**



Հետազոտությունները միաժամանակ շարունակվել են Ռուսաստանի Գաշնությունում (Յու. Ն. Բելոկոն), Հայաստանի Հանրապետությունում (Ա. Ս. Սաղյան), ԱՄՆ-ում (Վ. Ա. Սոլոշոնոկ) և աշխարհի այլ գիտական խմբերում: Միջինացված տվյալներով՝ սինթեզի ստերեոսելեկտիվությունը մոտ է 90%-ի, ասիմետրիկ ռեակցիաների տևողությունը՝ 1-4 ժամ, իսկ սինթեզված վերջնական ամինաթթուների օպտիկական մաքրության աստիճանը մեկ վերաբյուրեղացումից հետո գերազանցում է  $> 98\%$ :

Արդյունքում մշակվել են բազմաթիվ նոր, գրականության մեջ չնկարագրված ոչ սպիտակուցային բնույթի  $\alpha$ - և  $\beta$ -տեղակալված  $\alpha$ -ամինաթթուների ասիմետրիկ սինթեզի մեթոդներ: Հեղինակները պարզաբանել են, որ  $Ni^{II}$  իոնի հարթ քառակուսային կոմպլեքսներում առկա բարձր էնանտիոսելեկտիվությունը պայմանավորված է ինչպես կինետիկական, այնպես էլ թերմոդինամիկական գործոններով (նկար 24):



**Նկար 24.**  $Ni^{II}$  իոնի հարթ քառակուսային կոմպլեքսներում  $(S,S)$ - և  $(S,R)$ - դիաստերեոմերների միջև թերմոդինամիկական հավասարակշռությունը

Կինետիկական ստերեոսելեկտիվությունը պայմանավորված է  $SP^2$  հարթ կարբանիոնին Շիֆի հիմքի հարթության տարբեր կողմերից  $R^+$ -ի միացման ռեակցիաների տարբեր արագություններով՝  $k_{si} > k_{re}$ , իսկ թերմոդինամիկական ստերեոսելեկտիվությունը՝ կոնդենսման արդյունքում առաջացած արգասիք կոմպլեքսների  $(S,S)$ -դիաստերեոիզոմերների համեմատական բարձր թերմոդինամիկական

կայունությամբ՝  $(S,R)$ -դիաստերեոմերների համեմատ: Ալանինի կոմպլեքսի դեպքում ( $R=CH_3$ )  $(S,S)$ - և  $(S,R)$ -դիաստերեոմերների էներգիաների տարբերությունը հասնում է մինչև 1 կկալ/մոլ, և այն ավելի է մեծանում առավել ծավալուն R խմբով ամինաթթուների կոմպլեքսների դեպքում: Քանի որ ակիլման ռեակցիաները իրակամացվում են հիմնային կատալիզի պայմաններում, հնարավոր է արգասիք կոմպլեքսների թերմոդինամիկորեն քիչ կայուն  $(S,R)$ -դիաստերեոմերների տրանսֆորմացումն առավել կայուն  $(S,S)$ -դիաստերեոմերների՝ միջանկյալ հարթ կարբանիոնային վիճակով:

Իրոք, այս կոմպլեքսների ամինաթթվային մնացորդների (օրինակ՝ գլիցինի) ակիլիալոգենիդներով C-ակիլման սկզբնական փուլում (~10-15 րոպե անց) առաջացած դիաստերեոմերների հարաբերությունը՝  $(S,S)/(S,R)$ , մոտ 75/25% է, որը պայմանավորված է հարթության *re* և *si* կողմերից կոնդենսման ռեակցիաների տարբեր արագություններով (կինետիկական ստերեոսելեկտիվություն), իսկ այնուհետև թերմոդինամիկորեն քիչ կայուն  $(S,R)$ -դիաստերեոմերը աստիճանաբար տրանսֆորմացվում է ավելի կայուն  $(S,S)$ -դիաստերեոմերի, և մոտ 2 ժամ անց  $(S,S)/(S,R)$  հարաբերությունը հասնում է ~95/5%:

Մշակված մեթոդը ունիվերսալ է և հնարավորություն է տալիս միևնույն տեխնոլոգիական գծով և միևնույն ելային քիրալային օժանդակ ռեագենտի կիրառմամբ պարզ և էժան բնական ամինաթթուներից (օրինակ՝ գլիցինից և *D,L*-ալանինից) ստանալու ամենագանազան կառուցվածքի օպտիկապես ակտիվ ոչ սպիտակուցային ամինաթթուներ: Ընդհանուր առմամբ՝  $Ni^{II}$  իոնի հարթ քառակուսային կոմպլեքսների կիրառմամբ սինթեզվել են կողքային ռադիկալում տարբեր ալիֆատիկ, արոմատիկ և հետերոցիկլիկ տեղակալիչներ պարունակող՝ զրականության մեջ չնկարագրված 150-ից ավելի օպտիկապես ակտիվ  $\alpha$ -ամինաթթուներ:

Հետագայում սինթեզվել են  $Ni^{II}$  իոնի մի շարք մոդիֆիկացված հարթ քառակուսային կոմպլեքսներ՝ N-բենզիլպրոլինի և ամինաբենզոֆենոնի մնացորդների ֆենիլային օղակներում տարբեր էլեկտրոնասակցեպտոր և էլեկտրոնադոնոր տեղակալիչների պարունակու-

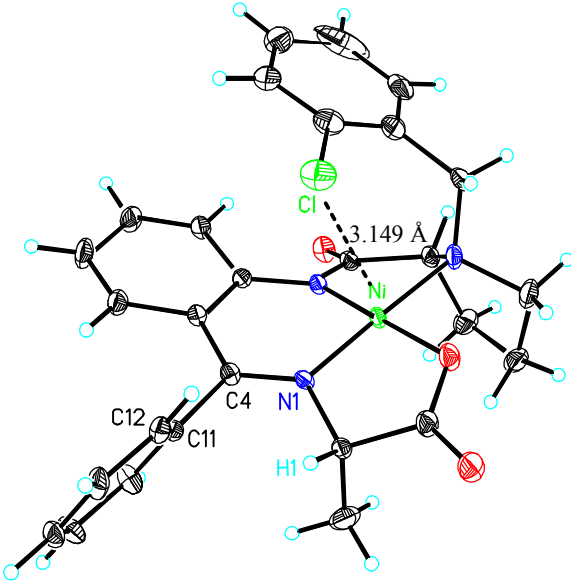
թյամբ: Կոմպլեքսների նման մոդիֆիկացումը հիմնավորված էր (S)-BPB քիրալային օժանդակ ռեագենտի հենքի վրա կառուցված կոմպլեքսների օրինակի վրա պարզաբանված տեսական պատկերացումներով: Ռենտգենկառուցվածքային անալիզի և կոնֆորմացիոն հաշվարկների միջոցով պարզաբանվել էր, որ այդ կոմպլեքսներում առկա բարձր էնանտիոմերային էֆեկտները պայմանավորված են Շիֆի հիմքի հարթության *re* կողմում N-բենզիլպրոլինի և ամինաբենզոֆենոնի մնացորդների ֆենիլային օղակների ստեղծած տարածական շրջափակումներով: Հետևաբար, կարելի է ենթադրել, որ հարթության *re* կողմում տարածական շրջափակումների ուժեղացումը, օրինակ՝ այդ նույն ֆենիլային օղակների մեջ լրացուցիչ տեղակալիչների ներուծմամբ, կրերի ամինաթթուների սինթեզի ստերեոսելեկտիվության էլ ավելի մեծացմանը: Այդ նպատակով սինթեզվել և ամինաթթուների ասիմետրիկ սինթեզի ռեակցիաներում փորձարկվել են N-բենզիլպրոլինի և ամինաբենզոֆենոնի մնացորդների ֆենիլային օղակներում տարբեր տեղակալիչներ պարունակող Ni<sup>II</sup> իոնի ամինաթթվային և դեհիդրոամինաթթվային մոդիֆիկացված կոմպլեքսներ:

Հետազոտման արդյունքում պարզվել է, որ ամինաբենզոֆենոնի մնացորդի ֆենիլային օղակում տեղակալիչներ պարունակող մոդիֆիկացված կոմպլեքսները ատրոպոհիզմերիայի պատճառով ամինաթթուների ասիմետրիկ սինթեզի ռեակցիաներում արդյունավետ չեն (*ee* ~65-70%), իսկ N-բենզիլպրոլինի մնացորդի ֆենիլային օղակում տեղակալված մոդիֆիկացված գրեթե բոլոր կոմպլեքսների դեպքում նկատվում է ստերեոսելեկտիվության աճ (*ee*>90%): Դրանց շարքում առավել բարձր արդյունքներ են արձանագրվել N-բենզիլպրոլինի մնացորդի ֆենիլային օղակի 2 դիրքում Cl տեղակալիչ պարունակող մոդիֆիկացված (S)-2-CBPB քիրալային օժանդակ ռեագենտի կոմպլեքսների դեպքում (*ee* >97%):

Բացի բարձր ստերեոսելեկտիվությունից՝ 2-CBPB քիրալային օժանդակ ռեագենտի մոդիֆիկացված կոմպլեքսների դեպքում նկատվում է նաև ասիմետրիկ սինթեզի ռեակցիաների կտրուկ արագացում: Օրինակ՝ այդ կոմպլեքսների կիրառմամբ  $\alpha$ -ամինաթթուների

ասիմետրիկ սինթեզի ռեակցիաների տևողությունը չի գերազանցում 6-15 րոպեն, այն դեպքում, երբ չնոդիֆիկացված կոմպլեքսների դեպքում այն տևում է մինչև 2-5 ժամ:

Մոդիֆիկացված (*S*)-2-CBPB քիրալային օժանդակ ռեագենտի կոմպլեքսներում առկա գերբարձր էմանտիոսեկտիվությունը և ամինաթթվային մնացորդների համեմատական բարձր ռեակցիոնունակությունը պայմանավորված են N-բենզիլարոլինի մնացորդի ֆենիլային օղակ ներմուծված Cl տեղակալիչի ազդեցությամբ կոմպլեքսի մակրոկառուցվածքում հարուցված կոնֆորմացիոն փոփոխություններով (նկար 25):



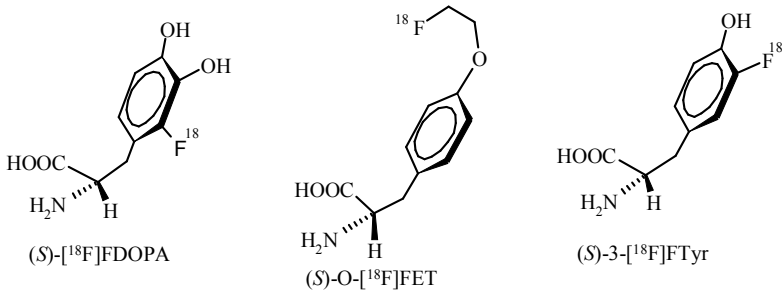
**Նկար 25.** Ni<sup>II</sup>-(*S*)-2-CBPB-(*S*)-Ala մոդիֆիկացված կոմպլեքսի կառուցվածքն ըստ ռենտգենկառուցվածքային անալիզի տվյալների

Ինչպես երևում է կոմպլեքսի կառուցվածքից, N-բենզիլարոլինի մնացորդի Cl տեղակալիչը բաշխված է անմիջապես մետաղի իոնի

վերևում, և հավանական է նրանց միջև ձգողական փոխազդեցությունը: Դրա շնորհիվ կտրուկ կարճանում է մետաղի իոնի և ֆենիլալին օղակի միջև ընկած հեռավորությունը (Ni-Cl կապի երկարությունը՝ 3.149 Å), և փոխվում է ամինաբենզոֆենոնի մնացորդի ֆենիլալին խմբի դիրքը Շիֆի հիմքի հարթության նկատմամբ (N1-C4-C11 թորսիոն անկյունը): Եթե չմոդիֆիկացված (S)-BPB քիրալային օժանդակ ռեագենտի կոմպլեքսների դեպքում այդ խումբը ուղղահայաց է բաշխված Շիֆի հիմքի հարթությանը, ապա մոդիֆիկացված (S)-2-CBPB քիրալային օժանդակ ռեագենտի կոմպլեքսի կառուցվածքում N1-C4-C11 թորսիոն անկյունը շեղված է ուղղահայած դիրքից մինչև 20°-ով: Այսպիսի կոնֆորմացիոն փոփոխություններն էլ ավելի են ուժեղացնում ամինաթթվային մնացորդի շրջափակումը Շիֆի հիմքի հարթության *re* կողմից, ինչն անկասկած բերում է ինչպես կինետիկական, այնպես էլ թերմոդինամիկական ստերեոսելեկտիվության կտրուկ աճի: Նշված տեսական բացատրությունները ամրագրված են փորձնական տվյալներով: Իրականում մոդիֆիկացված (S)-2-CBPB քիրալային օժանդակ ռեագենտի կոմպլեքսների միջոցով ամինաթթուների ասիմետրիկ սինթեզի ռեակցիաներն ընթանում են 5-10 րոպեների ընթացքում՝ 97%-ից բարձր ստերեոսելեկտիվությամբ:

Ասիմետրիկ ռեակցիաների արագ և բարձրասելեկտիվ ընթացքը հատկապես կարևոր է  $^{18}\text{F}$ -իզոտոպով նիշադրված ամինաթթուների ստացման համար՝ հաշվի առնելով  $^{18}\text{F}$ -իզոտոպի կիսատրոհման ժամանակահատվածի կարճատևությունը (108 րոպե):  $^{18}\text{F}$ -իզոտոպով նիշակիր ամինաթթուները վերջերս հաջողությամբ կիրառվում են պոզիտրոնային էմիսիոնային տոմոգրաֆիայում (PET) տարբեր հիվանդությունների արդյունավետ ախտորոշման գործընթացներում (ներառյալ զարգացման վաղաժամ էտապում գտնվող քաղցկեղային բջիջները)՝ որպես ռադիոդեղապատրաստուկներ: Սինթեզված մոդիֆիկացված կոմպլեքսների միջոցով սինթեզվել են  $[^{18}\text{F}]$ -DOPA,  $[^{18}\text{F}]$ -թիրոզին,  $[^{18}\text{F}]$ -էֆիթիրոզին և այլ նիշակիր ամինաթթուներ (նկար 26):





**Նկար 26.**  $^{18}\text{F}$ -իզոտոպով նիշակիր որոշ ամինաթթուների կառուցվածքը

Նշված  $^{18}\text{F}$ -նիշադրված ամինաթթուները հաջողությամբ փորձարկվել են Ռուսաստանի ԳԱ մարդու ուղեղի ինստիտուտում (Ք. Սա. Պետերբուրգ) և Շվեդիայի Կարոլինյան հիվանդանոցում՝ Ալց-հեյմերի, Պարկինսոնի և այլ հիվանդությունների PET-ախտորոշման գործընթացներում:

Ամինաթթուների ասիմետրիկ կենսամիմետիկ սինթեզի վերոհիշյալ տեխնոլոգիան ներկայումս հաջողությամբ օգտագործվում է աշխարհի տարբեր երկրներում (ԱՄՆ, ՉԺՀ, ՌԴ, ՀՀ և այլն) ինչպես օպտիկապես ակտիվ ոչ սպիտակուցային ամինաթթուների փոքրածավալ արտադրություններում, այնպես էլ PET-ռադիոդեղապատրաստուկների ստացման գործընթացներում:

## 2.6. Ամինաթթուների ռացեմատ խառնուրդների բաժանումը

Զնայած այն հանգամանքին, որ վերջին ժամանակներս կենսատեխնոլոգիական և ասիմետրիկ սինթեզի ուղղությունները հաջողությամբ կիրառվում են օպտիկապես մաքուր ամինաթթուների արտադրության բնագավառում, դեռևս որոշ ամինաթթուների արտադրական տեխնոլոգիաները հիմնված են քիմիական սինթեզի մեթոդների վրա, և արգասիքները առաջանում են օպտիկապես ոչ ակտիվ ռացեմատ խառնուրդների տեսքով: Ստացված ռացեմատ խառնուրդներից առանձին օպտիկական իզոմերները պետք է առանձ-

նացվեն, քանզի դրանք պիտանի են կիրառման համար միայն անհատական օպտիկական անտիպոդների տեսքով:

Ռ-ացեմատների բաժանման համար հայտնի են մի շարք եղանակներ՝ մեխանիկական, քիմիական, կենսաքիմիական և քրոմատոգրաֆիական: Դրանցից առավել մեծ նշանակություն են ձեռք բերել քիմիական և կենսաքիմիական մեթոդները:

***Մեխանիկական բաժանում և ընկրողական բյուրեղացում:***

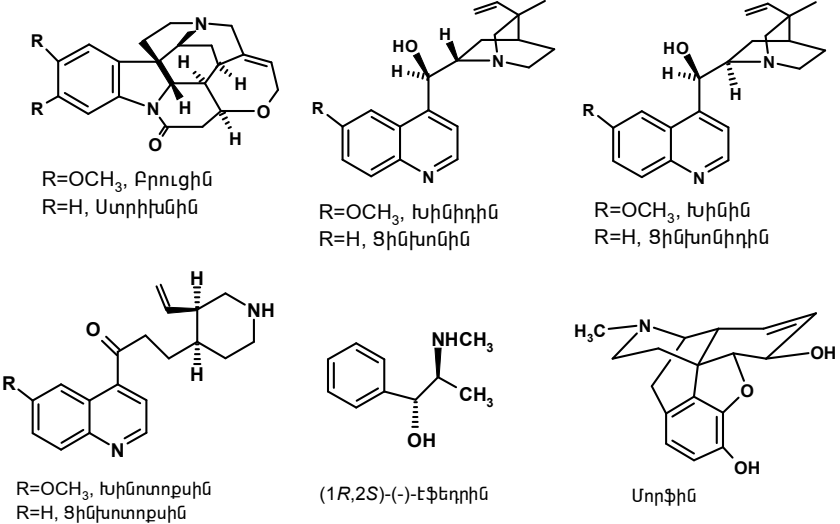
Մեթոդի հիմքում ընկած է ամինաթթվի *L*- և *D*-ձևերի բյուրեղների բաժանումը: Այս մեթոդը ստացել է խիստ սահմանափակ կիրառություն, քանի որ միայն մի քանի ամինաթթուներ են լուծույթից նստում լավ կազմավորված բյուրեղների տեսքով, օրինակ՝ գլուտամինաթթուն և ասպարազինաթթուն:

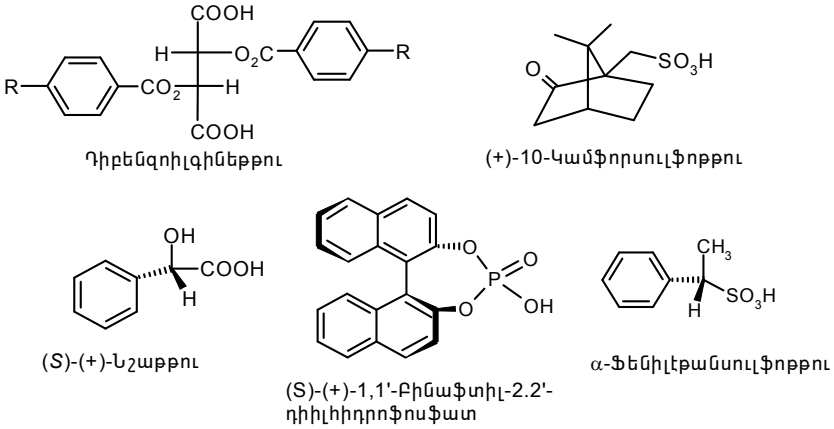
1934 թ.-ին Դուշինսկին բացահայտել է, որ *L*-հիստիդինի և *D,L*-հիստիդինի հիդրոքլորիդների խառնուրդի լուծույթներից բյուրեղացվում է *L*-հիստիդինի ավելի մեծ քանակություն, քան նախօրոք ավելացված էր: Այդ երևույթը հետազայում ստացել է ***սպոնկան բյուրեղացում*** կամ ***ընկրողական բաժանում*** անվանումը, և դրա կիրառմամբ բաժանվել են, օրինակ, *D,L*-թրեոնինը և *D,L*-գլուտամինաթթուն: Բաժանման համար մինչև 80°C տաքացման պայմաններում ջրում լուծում են ամինաթթվի *D*, *L*-խառնուրդը և *D*-իզոմերի ոչ մեծ քանակություն: Այնուհետև մինչև 20-30°C սառեցման դեպքում լուծույթից նստում է *D*-իզոմերը մոտավորապես կրկնակի քանակով՝ ավելացված քանակին համեմատ: Մնացած մայր լուծույթին, որը պարունակում է *L*-իզոմերի որոշակի ավելցուկային քանակություն, ավելացվում է *D,L*-խառնուրդ մոտավորապես անջատված *D*-իզոմերին հավասար քանակությամբ, և լուծում են տաքացման պայմաններում: Սառեցման ժամանակ բյուրեղանում է *L*-իզոմերը: Նշված գործընթացը մոտավորապես տասնապատիկ կրկնելու արդյունքում հաջողվել է *D,L*-թրեոնինը ճեղքել մինչև ~90%-ով:

***Քիմիական բաժանում:*** Ռ-ացեմատների քիմիական ճեղքման եղանակը հիմնված է օպտիկապես ակտիվ նյութերի հետ դիաստերեոմերային աղերի առաջացման վրա: Այդ նպատակի համար ամի-

նաթթուներն օգտագործում են N-տեղակալված ածանցյալների տեսքով (օրինակ՝ N-ացետիլ-, N-ֆորմիլ-, N-բենզոիլ-, N-տոզիլ-, N-ֆտալիլ- և այլն), որոնք ընդունակ են աղեր առաջացնել օպտիկապես ակտիվ հիմքերի հետ: Բացի դրանցից՝ հաճախ ռացեմատ ամինաթթուները օգտագործվում են էսթերների կամ կարբօքսիլային խմբի այլ ածանցյալների տեսքով, որոնք կարող են առաջացնել աղեր օպտիկապես ակտիվ թթուների հետ:

Բոլոր դեպքերում էլ առաջանում են դիաստերեոիզոմերներ, որոնք կարող են բաժանվել իրարից բյուրեղացմամբ՝ հետագա աղերի քայքայմամբ և ամինաթթվի անտիպոդի անջատմամբ, օրինակ՝ կատիոնափոխանակային խեժերի միջոցով: N-պաշտպանված ռացեմատ ամինաթթուների բաժանման համար, որպես օպտիկապես ակտիվ հիմքեր, սովորաբար օգտագործում են բրուցին, սարիխնին, խինին, խինիդին, ցինխոնին, ցինխոնիդին, խինոթոքսին, ցինխոթոքսին, էֆեդրին, թիրոզինի հիդրազիդ և այլն (նկար 27):





**Նկար 27.** Ուսցենատ խառնուրդների բաժանման համար կիրառվող որոշ ալկալոիդային և այլ բնույթի ռեագենտների կառուցվածքը

Բացի ալկալոիդներից՝ ներկայումս օգտագործում են նաև մի շարք այլ հիմքեր, օրինակ՝ ֆենիլամին, ֆենիլէթիլամին, *L*-նիտրոֆենիլ-2-ամինոպրոպանդիոլ-1,3 և այլն: Որոշ դեպքերում օգտագործում են նաև հիմնային ամինաթթուներ և նրանց աղերը: Օրինակ՝ *L*-լիզինի միջոցով իրականացվել է *D,L*-գլուտամինաթթվի և *D,L*-տրիպտոֆանի բաժանումը:

Ուսցենատ ամինաթթուների կարբօքսիլային ածանցյալների, օրինակ՝ ամիդների, նիտրիլների, էթերների և հիդրազիդների բաժանման համար օգտագործում են գինեթթու կամ նրա ածանցյալները, հիմնականում՝ դիբենզոլիզինեթթու, կամֆորասուլֆոթթու, բրոմկամֆորաթթու, քլորկամֆորաթթու և այլն:

Տարածված են ամինաթթուների ռացեմատների բաժանման մեթոդներ թթվային բնույթի ճեղքող ազեմտների կիրառմամբ: Չպաշտպանված ձևով ամինաթթուների ռացեմատները կարելի է բաժանել նաև նշաթթվի միջոցով՝ միջանկյալ ամիդների կամ աղերի առաջացմամբ, օրինակ՝ քիրոզինի ռացեմատը բաժանվել է 1,1'-բինաֆտիլֆոսֆորական թթվի միջոցով, արգինինի և հիդրօքսիֆենիլլիզինի ռացեմատները՝ α-ֆենիլէթանսուլֆոթթվի միջոցով և այլն:

Առաջարկվել է նաև  $\alpha$ -ամինաթթուների բաժանման մեթոդ լիզանդների ստերեոսելեկտիվ փոխանակման տարբերակով: Պարզվել է, որ ծանր մետաղի իոնի հետ (օրինակ՝ պղնձի) ամինաթթվի կոմպլեքսային միացությունը լուծույթում այլ ամինաթթվի ներկայությամբ կարող է հետադարձ ձևով փոխանակել ամինաթթվային լիզանդին: Այդ պրոցեսն ընթանում է ստերեոսելեկտիվ ձևով, այսինքն՝ *D*-անտիպոդի կոմպլեքսում տեղի է ունենում փոխանակում *L*-անտիպոդի հետ և հակառակը: Այն դեպքում, երբ նոր առաջացած կոմպլեքսի լուծելիությունը փոքր է, քան ելային կոմպլեքսինը, այդ պրոցեսը կարելի է օգտագործել ռացեմատների ճեղքման և առանձին անտիպոդների բաժանման համար:

Այս եղանակով իրականացվել է *D,L*-ալանինի անտիպոդների մասնակի բաժանումը *L*-ասպարազինաթթվի հետ  $\text{Co}^{II}$  իոնի առաջացրած կոմպլեքսի օգտագործմամբ: Անջատված անտիպոդի օպտիկական մաքրությունը կազմել է 25,6%: Ավելի արդյունավետ են ընթացել *D,L*-ասպարազինաթթվի բաժանումը օպտիկական անտիպոդների *D*- և *L*-ալանինի, *D*- և *L*-գլուտամինաթթվի և *L*-պրոլինի պղնձային կոմպլեքսների հետ ստերեոսելեկտիվ լիզանդափոխանակման ռեակցիաների միջոցով: Բաժանման համար խառնել են, օրինակ, *L*-ալանինի պղնձային կոմպլեքսի ջրային լուծույթը *D,L*-ասպարազինաթթվի ավելցուկի հետ: Որոշ ժամանակ պահելուց հետո լուծույթից նստել է *D*-ասպարազինաթթվի պղնձային կոմպլեքսը, բյուրեղները ֆիլտրվել են, լուծվել աղաթթվի մեջ, և անջատվել է *D*-ասպարազինաթթուն՝ ծծմբաջրածնով մշակմամբ: *D*-ալանինի պղնձային կոմպլեքսի կիրառման դեպքում համապատասխանաբար ստանում են *L*-ասպարազինաթթվի պղնձային կոմպլեքսը և անջատում են *L*-ասպարազինաթթու: Այս եղանակով անջատված ասպարազինաթթվի *D*- և *L*-իզոմերների օպտիկական մաքրությունը հասնում է մինչև 95-100%:

**Կենսաքիմիական բաժանում:** Ամինաթթուների ռացեմատների բաժանման կենսաքիմիական եղանակը հիմնված է ֆերմենտների յուրահատկության վրա: Ամինաթթուների ռացեմատների բաժանման համար հիմնականում կիրառում են երեք կենսաքիմիական

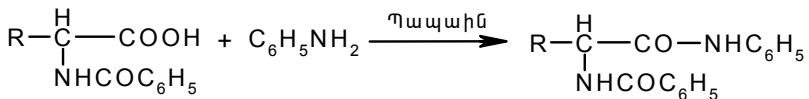
պրոցեսներ՝ ասիմետրիկ օքսիդացում կամ դեկարբօքսիլացում, ասիմետրիկ սինթեզ և ասիմետրիկ հիդրոլիզ:

Ասիմետրիկ օքսիդացման կամ դեկարբօքսիլացման եղանակով ամինաթթուների ռացեմատների բաժանման գործընթացներում լավագույն արդյունքներ են արձանագրվել կենդանիների հյուսվածքներից անջատված օքսիդացների (ողնաշարավորների երիկամներից անջատված *D*-ամինաթթուների օքսիդազ և օձի թույնից անջատված *L*-ամինաթթուների օքսիդազ) կիրառման դեպքում: Օրինակ՝ *D*-ամինաթթուների օքսիդացների ազդեցությամբ համապատասխան ռացեմատներից ստացել են ալանինի, մեթիոնինի և պրոլինի *L*-իզոմերներ:

Մեթոդի հիմնական թերությունը համարվում է իզոմերներից մեկի քայքայումը, ինչի պատճառով նրա կիրառական նշանակությունը խիստ սահմանափակ է:

*Ասիմետրիկ սինթեզի եղանակով* ռացեմատների բաժանման հիմքում ընկած է ֆերմենտների ազդեցությամբ ամինաթթուների օպտիկական իզոմերներից որևէ մեկի փոխազդեցությունը համապատասխան ռեագենտի հետ: Օրինակ՝ պապահին ֆերմենտի ազդեցությամբ անիլինի հետ փոխազդում են միայն *N*-ացիլ-*L*-ամինաթթուները՝ առաջացնելով համապատասխան անիլիդներ (սխեմա 37):

### Սխեմա 37



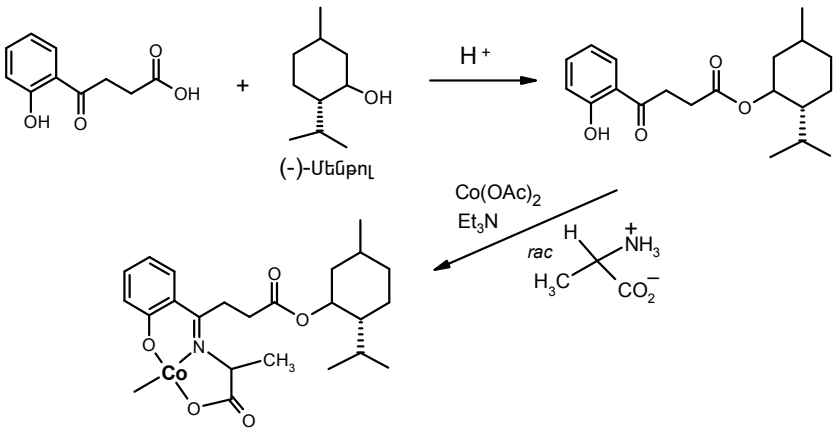
Այս մեթոդի կիրառմամբ հաջողվել է բարձր ելքերով ճեղքել մի շարք ամինաթթուների ռացեմատներ, օրինակ՝ ալանինի, լեյցինի, վալինի, ֆենիլալանինի և այլն, համապատասխան *L*- և *D*-իզոմերների առաջացմամբ:

Սովորաբար ամինաթթուների ռացեմատների ասիմետրիկ փոխարկումները պահանջում են ճեղքվող սուբստրատի ածանցյալի ստացումը: Օրինակ՝ ֆենիլգլիցինի ռացեմատի բաժանման համար

այն նախօրոք վերածում են N-բենզոլիլային ածանցյալի, որից հետո մշակում են ճեղքող ռեագենտ (-)- $\alpha$ -մեթիլբենզիլամինի ավելցուկով: N-բենզոլիլ-D-ֆենիլգլիցինի ելքը կազմում է 95-98%:

$\alpha$ -ամինաթթուների ասիմետրիկ փոխարկումները կարելի է ավելի բարձր ելքերով իրականացնել N-ացիլամինաթթուների առաջացման և նրանց հետ անցումային շարքի մետաղների իոնների կոմպլեքսման ճանապարհով: Նման կոմպլեքսների միջոցով, որոնց կառուցվածքում մետաղի իոնը կապված է ամինաթթվային Շիֆի հիմքերի հետ, իրականացվում է ռացեմազների ազդեցության նմանակումը: Օրինակ՝ D,L-ալանինի և (-)-մենթիլ-3-(2-հիդրոբենզոլիլ)պրոպիոնատի Շիֆի հիմքը մշակում են երկարժեք կոբալտի ացետատով, ինչի արդյունքում առաջանում է դիաստերեոմեր աղերի խառնուրդ, և լուծույթից նստում է իզոմերներից մեկը: Նստվածքից անջատվել է D-ալանինxHCl մինչև 22% էնանտիոմերային ավելցուկով (սխեմա 38):

### Սխեմա 38



Ասիմետրիկ հիդրոլիզի մեթոդը ռացեմատների բաժանման կենսաքիմիական եղանակներից ամենալայն կիրառությունն է ստացել: Որպես ամինաթթուների ելային ածանցյալներ՝ այս մեթոդի դեպքում

կիրառվում են հիմնականում նրանց N-ացիլաձանցյալները կամ էսթերները:

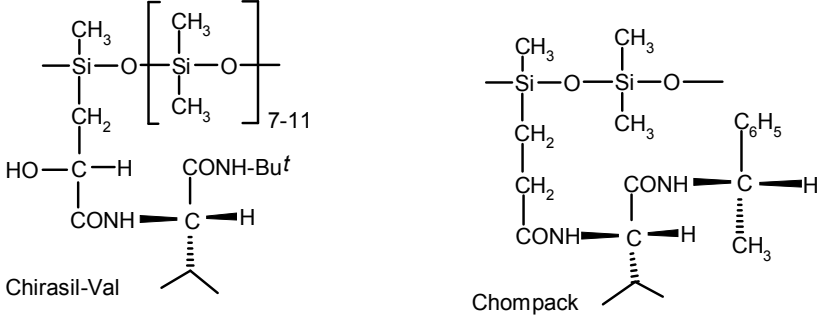
Ավելի լայն կիրառություն է ստացել N-ացիլամինաթթուների ասիմետրիկ հիդրոլիզը, որն առաջին անգամ իրականացրել է Գրինշտեյնը: Նա ցույց է տվել, որ երկկամներից անջատված ամինոացիլազ-I ֆերմենտը կամ կարբօքսիպեպտիդազը, փոխազդելով N-ացիլված ամինաթթուների ռացեմատի հետ, հիդրոլիզում է միայն L-իզոմերին: Ռեակցիայի ավարտը համարվում է ռացեմատ խառնուրդի 50% հիդրոլիզը: Այս եղանակը արտադրական մասշտաբով կիրառություն է գտել L-մեթիոնինի, L-ֆենիլալանինի և այլ ամինաթթուների ստացման համար (մանրամասն տես ամինաթթուների ստացման խառը քիմիաէնզիմատիկ եղանակը, գլուխ 2.3.): Որոշ ամինաթթուների դեպքում, օրինակ՝ $\beta$ -մեթիլասպարազինաթթվի ռացեմատի բաժանման պրոցեսում, արդյունավետ է ամինոացիլազ-II ֆերմենտը:

Ամինաթթուների ռացեմատների էսթերների ասիմետրիկ հիդրոլիզի համար օգտագործում են ենթաստամոքսային գեղձից անջատված չմաքրված ֆերմենտային պատրաստուկ կամ մաքրված բյուրեղական քիմոտրիպսին: Այս մեթոդի հիմնական թերությունները համարվում են որոշ ամինաթթուների էսթերների հիդրոլիզվելու հատկությունը (մինչև ֆերմենտի հետ փոխազդելը) և պոլիմերման ունակությունը ֆերմենտով մշակելու ժամանակ:

**Քրոմատոգրաֆիական բաժանում:** Ամինաթթուների ռացեմատ խառնուրդների քրոմատոգրաֆիական բաժանումը հիմնականում օգտագործվում է անալիտիկական նպատակներով: Քրոմատոգրաֆիական թղթի միջոցով հաջողվել է բաժանել օպտիկական անտիպոդների D,L-թիրոզինը, D,L-գլուտամինաթթուն, D,L-հիստիդինը և D,L-տրիպտոֆանը: Մեթոդը հիմնված է թղթի ցելյուլոզի թելերիդիսիմետրիկ հատկությունների և ռացեմատի անտիպոդների ու ցելյուլոզի մոլեկուլի միջև դիսիմետրիկ միջմոլեկուլային փոխազդեցությունների վրա: Ռացեմատի բաժանում հնարավոր է իրականացնել նաև օսլայի միջոցով, սակայն այս դեպքում բաժանումը ավելի վատ է տեղի ունենում, քան թղթի դեպքում:

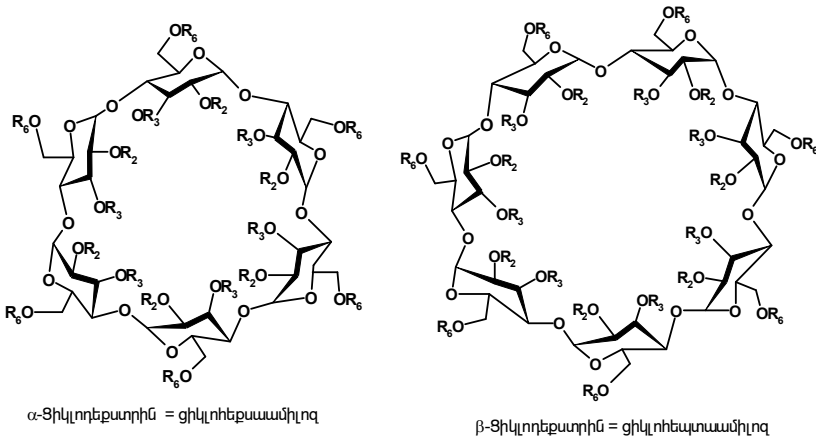


Ուսցեմատների քրոմատոգրաֆիական բաժանման սկզբունքն ընկած է ամինաթթուների քիրալային գազ-հեղուկային քրոմատոգրաֆիական (ԳՀՔ) և հեղուկային քրոմատոգրաֆիական (ԲԱՀՔ) անալիզի մեթոդների հիմքում: Երկու դեպքում էլ օգտագործում են քիրալային սորբենտներ, որոնց վրա տեղի է ունենում օպտիկական անտիպոդների բաժանումը: Առավել բարձր արդյունավետություն են ապահովում պոլիմերային հիմքի հետ կովալենտ կապով կապված ամինաթթուներից և պեպտիդներից կազմված խեժերը: Այդպիսի էնանտիոմերային խեժի օրինակ է *Chirasil-Val* սորբենտը՝ կազմված N-պրոպիլնոլ-L-վալինի *լորեպ-բուֆիլամիդի*ց, «կարված» դիմեթիլսիլօքսանի և կարբօքսիալկիլմեթիլսիլօքսանի համապոլիմերի հետ: Պոլիսիլօքսանի (օրինակ՝ Chompack) հետ «կարված» դիպեպտիդները ավելի լայն կիրառություն են գտել քիրալային քրոմատոգրաֆիայի ասպարեզում (նկար 28):



**Նկար 28.** Որոշ քիրալային սորբենտների կառուցվածքը

Սկսած 1987 թ.-ից ամինաթթուների և պեպտիդների ռացեմատների քրոմատոգրաֆիական բաժանման համար հաջողությամբ կիրառվում են մեթիլացված ցիկլոդեքստրինները և խառը ռեգիոսելեկտիվ ալկիլված ու ացիլված α- և β-ցիկլոդեքստրինները (նկար 29): Դրանք հատկապես առանձնանում են իրենց ջերմակայունությամբ (մինչև 220°C):



**Նկար 29.** Քիրալային  $\alpha$ - և  $\beta$ -ցիկլոդեկստրինների կառուցվածքը

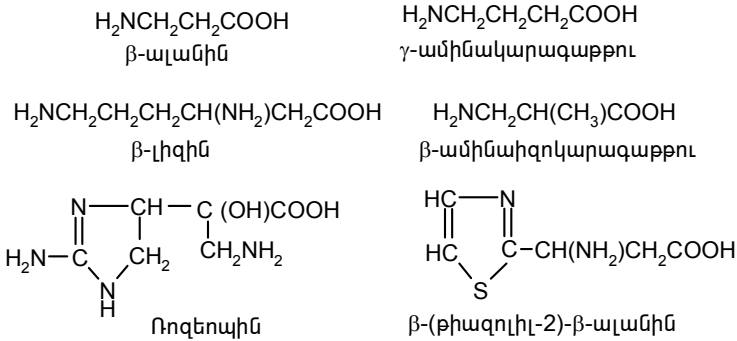
Ցիկլոդեքստրինները որպես քիրալային ստրեբնտներ հաջողությամբ կիրառվում են ամինաթթուների և այլ քիրալային մոլեկուլների ռացեմատների բաժանման ԲԱՀԲ և ԳՀԲ մեթոդներում:

Բոլոր դեպքերում էլ քիրալային ստրեբնտը ընտրողական ձևով փոխազդում է ամինաթթվի ռացեմատ խառնուրդի օպտիկական անտիպոդներից որևէ մեկի հետ՝ ապահովելով նրանց բաժանումը: Ցիկլոդեքստրինները քիրալային մոլեկուլի ռացեմատ խառնուրդի լուծույթով մշակելու դեպքում տեղի է ունենում օպտիկական անտիպոդներից որևէ մեկի ընտրողական ներդրումը ցիկլոդեքստրինի մակրոկառուցվածքի մեջ (1:1) բյուրեղական կոմպլեքսի առաջացմամբ, ինչին հետևում է ռացեմատի օպտիկական անտիպոդների բաժանումը:

**2.7.  $\beta$ -,  $\gamma$ - և  $\omega$ -ամինաթթուներ**

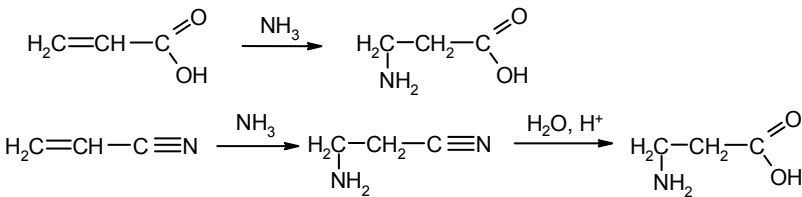
Բացի  $\alpha$ -ամինաթթուներից՝ հայտնի են նաև այլ ամինաթթուներ, որոնց կառուցվածքում  $\text{NH}_2$  խումբը  $\text{COOH}$  խմբի հանդեպ գտնվում է  $\beta$ -,  $\gamma$ - և այլ դիրքերում: Դրանցից բնության մեջ հատկապես տարածված են  $\beta$ - և  $\gamma$ -ամինաթթուները, օրինակ՝  $\beta$ -ալանինը (կենդանի հյուսվածքներում, նյարդային մկաններում, խնձորում և այլ մրգերում),  $\gamma$ -ամինակարազաթթուն (ճակնդեղում, խմորիչների էքստ-

րակտոներում, ուղեղի հյուսվածքներում, խնձորում, սիսեռում), β-ամինաիզոկարապաթրոն (մարդու մեզում), β-լիզինը (վիտմիցինում, ստրեպտոտրիցինում, ստրեպտոլինում, ռոզետտրիցինում, գեոմիցինում), ռոզետայինը (*Streptomycesroseochromogenus* բակտերիաներից անջատված ռոզետտրիցինում), β-(թիագոլիլ-2)-β-ալանինը (*Streptomycesbottropensis* բակտերիաներից անջատված բոտրոմիցինում) և այլն:



Արդյունաբերական մասշտաբներով β-ալանինը ստացվում է ամոնիակի և ակրիլաթթվի կամ ակրիլանիտրիլի փոխազդեցության արդյունքում (սխեմա 39):

**Սխեմա 39**



Ավելի լավ արդյունքներ են արձանագրվել ֆտալիմիդային մեթոդով β-ալանինի սինթեզի ռեակցիաներում: Դրա համար նախ ֆտալիմիդը ենթարկվում է ցիանեթիլման, որից հետո արդյունքը հիդրոլիզվում է թթվային պայմաններում (սխեմա 40):





Ամինաթթուների  $\beta$ -,  $\gamma$ - և ալելի բարձր հոմոլոգների ներմուծումը պեպտիդային կամ այլ կառուցվածքի դեղապատրաստուկների բաղադրության մեջ նրանց  $\alpha$ -հոմոլոգների փոխարեն բերում է դեղի ազդեցության պրոլոնգացմանը:

### Օգտագործված գրականություն

1. А. Ленинджер, “*Биохимия*”, Изд. “Мир”, Москва, 1974.
2. G. C. Barrett, “*Chemistry and biochemistry of amino acids*”, Chapman and Hall, London, 1984.
3. J. P. Greenshtein and M. Winitz, “*Chemistry of the amino acids*”, New York and London, 1961.
4. D. E. Metzler, “*Biochemistry*”, New York, 1977.
5. А. С. Сагиян, “*Энантиомерно чистые небелковые аминокислоты. Пути получения*”, Изд. НАУКА, Москва, 2010.
6. А. White, P. Handler and E. L. Smith, “*Principles of Biochemistry*”, Tokyo, 1973.
7. В. М. Беликов, “*Аминокислоты, их химический синтез и применение*”, Вестник АН СССР, 1973.
8. М. С. Садовникова, М. В. Беликов, “*Применение аминокислот в промышленности и фармакологии*”, Успехи химии, т. 47, 1977, с. 357.
9. J. H. Ottenheim, “*Amino Acid fortification of prefein foods*”, 1969.
10. А. А. Покровский, “*Химический состав пищевых продуктов*”// Пищевая промышленность, М., 1977.
11. E. N. Safonova, V. M. Belikov // *Russian Chemical Reviews*, 1974.
12. Г. И. Чипенс, В. А. Славинская, Д. Е. Силе // *Известия АНЛ ССР*, т. 3, 1985, с. 259.
13. Г. А. Калунянц, Л. И. Голгер, “*Микробные ферментные препараты*”, Пищевая промышленность, М., 1989.
14. С. Дж. Перт, “*Основы культивирования микроорганизмов и клеток*“, Мир, М., 1978.
15. *Патент Японии* N 54-105293, 1979.
16. М. С. Мосичев, А. А. Складнев, “*Общая технология микробиологических производств*“, Легкая пищевая промышленность, М., 1982.

17. В. К. Тихомиров, “*Пены, теория и практика их получения и разрушения*“, Химия, М., 1988.
18. В. Е. Матвеев, “*Основы асептики в технологии чистых микробиологических препаратов*“, Легкая и пищевая промышленность, М., 1981.
19. Г. А. Чикина, “*Ионообменные методы очистки веществ*“, Изд. ВГУ, 1984.
20. Г. А. Самсонов, Е. Б. Тростянская, “*Ионный обмен. Сорбция органических веществ*“, Изд. Науки, Ленинград, 1969.
21. С. Д. Варфоломеев, “*Химическая энзимология*“, Академия, М., 2005.
22. М. Ikeda, “*Advanced in Biochemical Engineering/Biotechnology*“, 2003, p. 2-35.
23. А. Е. Браунштейн, М.М. Шемякин // *Доклады АН СССР*, т. 52, 1952, с. 1115.
24. Е. Е. Snell // *Chemical and Biological Aspects of Pyridoxal Catalysis*, 1963.
25. Э. Илиел, С. Вайлен, М. Дойл, “*Основы органической стереохимии*“, М., 2007.
26. J. Jacques, A. Collet, S. Vilen, “*Enantiomers, Racemates and Resolutions*“, Wiley, New-York, 1981.
27. Дж. Гринштейн, М. Виниц, “*Химия аминокислот и пептидов*“, Изд. “Мир”, 1965.
28. К. Harada, S. Fox // *Nature*, v. 194, 1962, p. 768.

## Բ Ա Ժ Ի Ն II Պ Ե Պ Տ Ի Գ Ն Ե Ր

Պեպտիդներն ամինաթթվային մնացորդներից կազմված սպիտակուցների բաղադրամասեր են, որոնք կապված են իրար հետ կովալենտային  $\alpha$ -պեպտիդային ( $-NH-CO-$ ) կապերով: Պեպտիդների կառուցվածքի ձևավորման գործընթացում կարևոր դեր են խաղում նաև դիսուլֆիդային ( $-S-S-$ ) կապերը: Դրանց հետ միասին որոշ ցածրմոլեկուլային պեպտիդներում հայտնաբերված են նաև  $\gamma$ -պեպտիդային,  $N^{\omega}$ -պեպտիդային, էսթերային, թիոէթերային և այլ կապեր: Բնության մեջ հայտնի սպիտակուցների կառուցվածքում պեպտիդային կապի առավել տարածված տեսակը  $\alpha$ -պեպտիդային կապն է:

$\alpha$ -պեպտիդային կապ	$H_2N-CHR-CO-[NHCHRCO]_n-NH-CHR-COOH$ <p style="text-align: center; margin: 0;"><math>n=1,2,3</math> և այլն</p>	բոլոր սպիտակուցների մոտ
Դիսուլֆիդային կապ	$\begin{array}{c} \text{---CO-C---NH---} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{S} \\   \\ \text{S} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{---CO-C---NH---} \\   \\ \text{H} \end{array}$	Օքսիտոցինի մոտ
$\gamma$ -պեպտիդային կապ	$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{NH}-\text{CHR}-\text{CO}-\text{---} \\   \\ \text{---NH}-\text{C}-\text{CO}-\text{---} \\   \\ \text{H} \end{array}$	Գլուտամատի մոտ
էսթերային կապ	$\begin{array}{c} \text{---NH}-\text{CHR}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{CH}-\text{CH}_3 \\   \\ \text{---NH}-\text{C}-\text{CO}-\text{---} \\   \\ \text{H} \end{array}$	Ակտինոմիցինի մոտ
$N^{\omega}$ -պեպտիդային կապ	$\text{---NH}-\text{CHR}-\text{CO}-\text{NH}-\text{---}(\text{CH}_2)_4-\begin{array}{c} \text{CO}-\text{---} \\   \\ \text{CH} \\   \\ \text{NH}-\text{---} \end{array}$	Բացիտրացինի մոտ

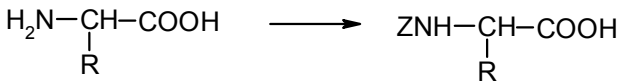


Պեպտիդները ստացվում են ինչպես քիմիական և էնզիմատիկ սինթեզի եղանակներով, այնպես էլ անջատվում են սպիտակուցների մասնակի հիդրոլիզի արգասիքներից: Սակայն նույնիսկ սպիտակուցային հիդրոլիզատից պեպտիդի անջատման դեպքում վերջինիս կառուցվածքի վերջնական հաստատման համար պահանջվում է նրա սինթետիկ մնուշի առկայությունը՝ համեմատության համար:

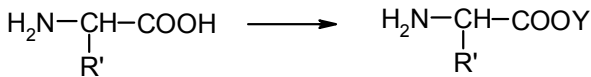
### Գլուխ 3. Պեպտիդային սինթեզ

Պեպտիդային շղթա ամինաթթուների ներդրման (պեպտիդային սինթեզ) մեթոդները բազմազան են, և կախված խնդրի դրվածքից՝ հաճախ մի շարք մեթոդներ համակցված են օգտագործում՝ նպատակ ունենալով սինթեզել խիստ որոշակի ամինաթթվային հաջորդականությամբ պեպտիդային շղթա: Ընդհանուր առմամբ՝ պեպտիդային սինթեզի ռազմավարությունը (ընդհանուր սխեման) ներառում է հետևյալ էտապները.

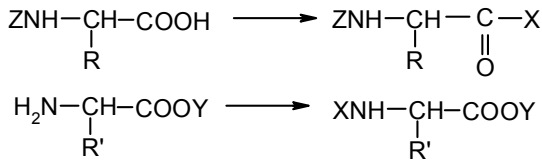
1. Ամինաթթվի կամ պեպտիդի  $\text{NH}_2$  խմբի պաշտպանում կամ կարբօքսիլային բաղադրիչի ստացում (պաշտպանող խումբը նշանակվում է Z տառով):



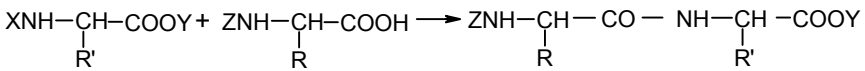
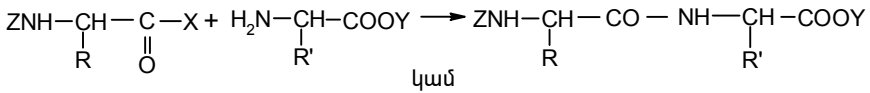
2. Ամինաթթվի կամ պեպտիդի  $\text{COOH}$  խմբի պաշտպանում կամ ամինաբաղադրիչի ստացում (պաշտպանող խումբը նշանակվում է Y տառով):



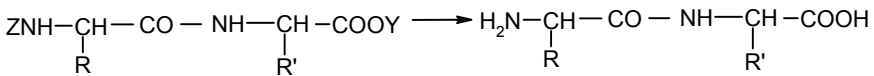
3. Ամինաբաղադրիչի  $\text{NH}_2$  խմբի կամ կարբօքսիլային բաղադրիչի  $\text{COOH}$  խմբի ակտիվացում (ակտիվացնող խումբը նշանակվում է X տառով):



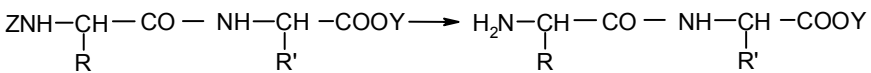
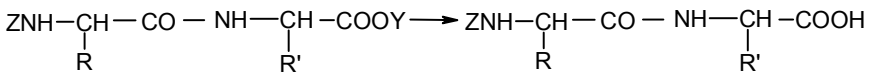
4. Ամինաթթվի ակտիվացված կարբոքսիլային բաղադրիչի կոնդենսում հաջորդ ամինաթթվի ամինաբաղադրիչի հետ (կամ հակառակը) կամ պեպտիդային կապի առաջացում:



5. Մինթեզված պեպտիդի պաշտպանող խմբերի հեռացում:



Եթե նախատեսվում է պեպտիդային շղթայի հետագա երկարացում, ապա հեռացվում է պաշտպանող խմբերից միայն մեկը:



Այդ դեպքում առաջանում է նոր ամինա- կամ կարբոքսիլային բաղադրիչ, և բոլոր հետագա գործընթացները շարունակվում են:

### 3.1. Ֆունկցիոնալ խմբերի պաշտպանում

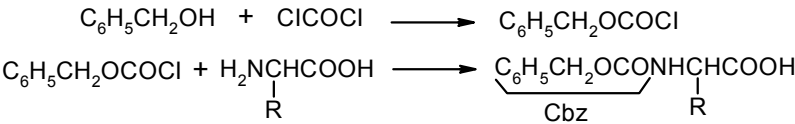
Ամինաթթվի  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> և  $\alpha$ -COOH խմբերի, ինչպես նաև ռադիկալի ֆունկցիոնալ խմբերի պաշտպանման համար ամինաթթուսն ենթարկվում է բազմատեսակ փոխարկումների: Նման փոխարկումների նկատմամբ հիմնական պահանջն այն է, որ պաշտպանող խմբի ներմուծումը ամինաթթվի բաղադրության մեջ և նրա հեռացումը սինթեզված պեպտիդից պետք է կատարվեն հնարավորինս մեղմ պայմաններում, այնպես, որպեսզի այն չուղեկցվի առաջացած պեպտիդային կապի խզմամբ և չազդի մյուս պաշտպանող խմբերի վրա: Այս վերջին պահանջը կարևոր է հատկապես բազմաֆունկցիոնալ ամինաթթուներ պարունակող պեպտիդների սինթեզի ժամանակ, քանի որ այդ դեպքում որևէ պաշտպանող խմբի ընտրողական հեռացումը մյուս ֆունկցիոնալ խմբերի պաշտպանմամբ հետագա սինթեզի շարունակման անհրաժեշտ պայմանն է: Այդ պահանջներին առավել չափով բավարարում են կարբոբենզոքսիլային, *t*-բուօքսիկարբոնիլային, տոզիլային և տրիտիլային խմբերը  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> խմբի պաշտպանման համար, բենզիլային, նիտրոբենզիլային և *t*-բուօիլային էսթերները  $\alpha$ -COOH խմբի պաշտպանման համար, բենզիլային ածանցյալներն ամինաթթուների ռադիկալի SH և OH խմբերի պաշտպանման համար և այլն: Սակայն, կախված սինթեզվող պեպտիդի կառուցվածքից, հաճախ օգտագործում են նաև այլ պաշտպանող խմբեր:

#### 3.1.1. $\alpha$ -NH<sub>2</sub> խմբի պաշտպանումը

$\alpha$ -NH<sub>2</sub> խմբի պաշտպանման առավել հարմար եղանակ է համարվում ROCONH- տեսակի ուրետանային ածանցյալների առաջացումը: 1932 թ.-ին Բերգմանը առաջարկել է օգտագործել *բենզիլօքսիկարբոնիլային (կամ կարբոբենզոքսիլային)* ածանցյալները պեպտիդային սինթեզում որպես ամինո խմբի պաշտպանման միջոց, որն այսօր համարվում է առավել հարմար և լայն կիրառվող եղանակներ:

րից մեկը: Կարբոբենզոքսի (Cbz) խումբը հեշտությամբ ներմուծվում է ամինաթթվի կառուցվածքի մեջ կարբոբենզոքսիբլոքի միջոցով, որն իր հերթին ստացվում է բենզիլսպիրտի և ֆոսգենի փոխազդեցությամբ (սխեմա 44):

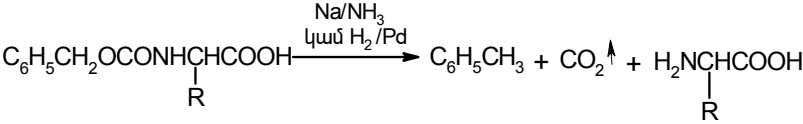
**Սխեմա 44**



Կարբոբենզոքսի խումբը կարելի է հեռացնել մի շարք եղանակներով՝ HBr/CH<sub>3</sub>COOH, Na/հեղուկ NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>/կատալիզատոր (Pd), CF<sub>3</sub>COOH (անջուր) և այլն: Հեռացման մեթոդների բազմազանությունը հնարավորություն է տալիս բազմաֆունկցիոնալ ամինաթթուների դեպքում ընտրելու հեռացման ընտրողական մեթոդ:

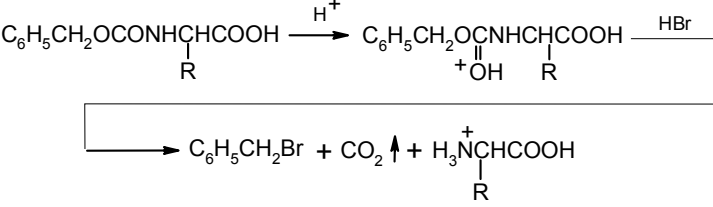
Cbz-ի վերականգնողական հեռացման ժամանակ առաջանում են ածխաթթու գազ և տոլուոլ, որոնք հեշտությամբ անջատվում և հեռացվում են սինթեզի պայմաններում (սխեմա 45):

**Սխեմա 45**

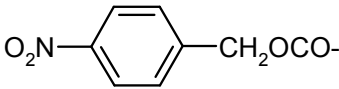


Թթվային հիդրոլիզի (HBr/CH<sub>3</sub>COOH, CF<sub>3</sub>COOH) եղանակով Cbz-ի հեռացումն ընթանում է հետևյալ մեխանիզմով (սխեմա 46):

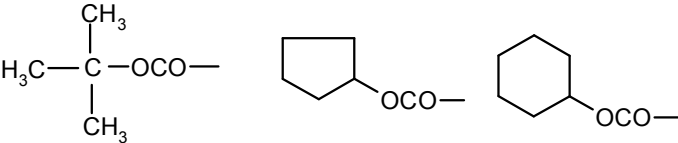
**Սխեմա 46**



Արգինին, ցիստին և ցիստեին պարունակող պեպտիդների սինթեզի ժամանակ հաճախ  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> խմբի պաշտպանման համար օգտագործվում է *p*-նիտրոկարբոբենզոքսի խումբը: Օրինակ՝ արգինինի դեպքում դա հնարավորություն է տալիս ստանալու պեպտիդ առանց գուանիդինային խմբի լրացուցիչ պաշտպանման, իսկ ցիստինի դեպքում՝ հեռացնելու պաշտպանող խումբն առանց ճեղքելու լաբիլ դիսուլֆիդային կապը:

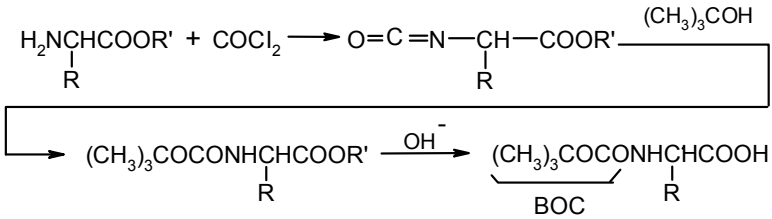


Պեպտիդային սինթեզում ամինախմբի պաշտպանման համար լայն կիրառություն են ստացել նաև ամինաթթուների որոշ կարբալկօքսիածանցյալներ, օրինակ՝ *t*-բութօքսիկարբոնիլային, ցիկլոպենտիլօքսիկարբոնիլային և ցիկլոհեքսիլօքսիկարբոնիլային խմբերը:



Նշված կարբալկօքսի խմբերը հեշտությամբ ներմուծվում են ամինաթթվի կառուցվածքի մեջ համապատասխան քլորիդների միջոցով: Բացառություն է կազմում *t*-բութօքսիկարբոնիլային պաշտպանող խումբը, քանի որ *t*-բութօքսիկարբոնիլքլորիդի ստացումը և պահպանումը կապված են որոշակի ռիսկերի հետ: Սակայն, մյուս կողմից, *t*-բութօքսիկարբոնիլային ածանցյալները (BOC) համարվում են առավել հեռանկարային և լայն կիրառություն են ստացել պեպտիդային սինթեզում: Դրանց ստացման համար առաջարկվել են մի շարք մեթոդներ, օրինակ՝ ամինաթթուների էսթրների և ֆոսգենի առաջացրած իզոցիանատները մշակվում են *t*-բութիլսպիրտով (սխեմա 47):

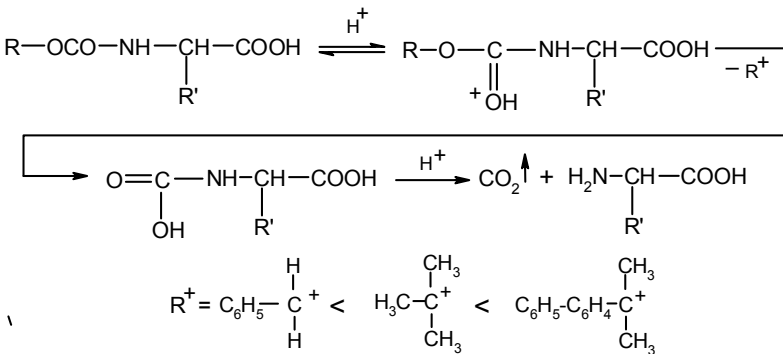
### Սխեմա 47



BOC պաշտպանող խումբը, ի տարբերություն Cbz-ի, կայուն է վերականգնողական հեռացման պայմաններում և առավել լաբիլ է թթվային պայմաններում, ինչը հնարավորություն է տալիս նրան ընտրողաբար հեռացնելու: Առավել բարձր ընտրողականությամբ կարելի է հեռացնել *t*-ամիլօքսիկարբոնիլային խումբը, որը նույնպես պարունակում է երրորդային ամֆաժնի ատոմ:

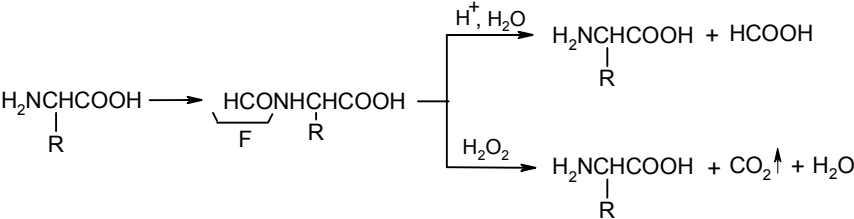
Հետագուտվել է թթվային պայմաններում ալկիլօքսիկարբոնիլային, արիլօքսիկարբոնիլային և արալկիլօքսիկարբոնիլային պաշտպանող խմբերի կայունությունը, և պարզաբանվել է, որ պաշտպանող խմբի հեռացման արագությունը կախված է առաջացած կարբկատիոնի կայունությունից (սխեմա 48): Թթվային միջավայրում այդ կարբկատիոնների կայունությունը, հետևաբար նաև որպես պաշտպանող խումբ նրանց արդյունավետությունը աճում են 48 սխեմայում նշված շարքով:

### Սխեմա 48



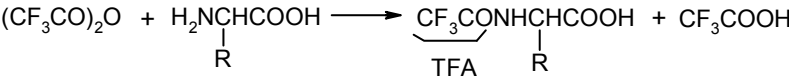
Հաճախ  $\text{NH}_2$  խմբի պաշտպանումը պեպտիդային սինթեզում իրականացվում է *ացիլմամբ*, սակայն N-ացիլային խմբի ընտրողական հեռացումը ոչ միշտ է հաջողվում: Այդ պատճառով N-ացիլման տարբերակներից գործնականում կիրառություն են ստացել միայն որոշները, օրինակ՝  $\text{NH}_2$  խմբի պաշտպանումը *N-ֆորմիլային* ածանցյալների տեսքով: Դրանք հեշտությամբ ստացվում են մրջնաթթվի միջավայրում ամինաթթվի երկարատև տաքացմամբ կամ մրջնաթթվի և քացախաանհիդրիդի խառնուրդով ամինաթթվի մշակմամբ: Այդ եղանակով կարելի է ստանալ օպտիկապես ակտիվ N-ֆորմիլպեպտիդներ: Ֆորմիլային պաշտպանող խումբը (F) հեշտությամբ հեռացվում է թույլ թթվային հիդրոլիզի կամ ջրածնի պերօքսիդով օքսիդացման ճանապարհով (սխեմա 49):

**Սխեմա 49**



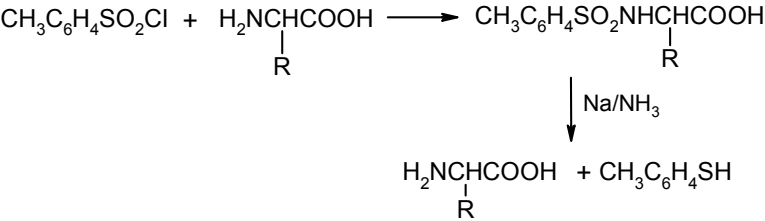
1952 թ.-ին Վեյզանդը առաջարկել է  $\text{NH}_2$  խմբի պաշտպանման համար օգտագործել *տրիֆտորացետիլային* ածանցյալները (TFA): Դա միակ N-ացիլային պաշտպանող խումբն է, որը հեշտությամբ հեռացվում է հիմնային միջավայրում ( $\text{NaOH}$ ,  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  կամ  $\text{NH}_4\text{OH}$ ): TFA-ածանցյալները բարձր քիմիական ելքերով ստացվում են ամինաթթուն եռֆտորքացախաթթվի միջավայրում եռֆտորքացախաանհիդրիդով մշակելով (սխեմա 50):

**Սխեմա 50**



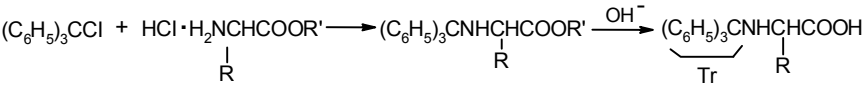
Ամինային խմբի պաշտպանման համար օգտագործում են նաև սուլֆամիդային ածանցյալները, օրինակ՝ *N-լոգիլային* խումբը (Ts), որը հեշտությամբ կարելի է ներմուծել ամինաթթվի մեջ Շոֆեն-Բաու-մանի ռեակցիայով՝ ք-տոլուոլսուլֆոբորիդի ազդեցությամբ հիմնա-յին միջավայրում (սխեմա 51): Տոզիլային խումբը հեշտությամբ հե-ռացվում է Na/NH<sub>3</sub> միջավայրում:

**Սխեմա 51**



Պեպտիդային սինթեզում ամինաթթվի NH<sub>2</sub> խմբի պաշտպան-ման համար հաճախ օգտագործում են նաև N-ալկիլածանցյալները, որոնց շարքում առավել կիրառություն է ստացել *լորիլլոգիլային կամ րորիֆենիլմեթիլային* (Tr) խումբը: Տրիտիլամինաթթուները ստաց-վում են ամինաթթուների էսթերների հիդրոլորիդները տրիտիլբորի-դով մշակելու արդյունքում՝ 18-20°C ջերմաստիճանում տրիտիլամի-նի ներկայությամբ: Էսթերային խմբի հեռացումը հիմնային հիդրոլի-զի եղանակով բերում է N-տրիտիլամինաթթվի առաջացմանը (սխե-մա 52):

**Սխեմա 52**



Տրիտիլային խումբը հեռացվում է համեմատաբար մեղմ պայ-մաններում հանքային թթուների ազդեցությամբ, ինչպես նաև նոսր քացախաթթվի, եռֆտորքացախաթթվի, Na/NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>/Pd և այլ միջա-վայրերում: Այս մեթոդի թերությունը համարվում է ցածր քիմիական



ելքը, ինչը հավանաբար պայմանավորված է տարածական գործոններով:

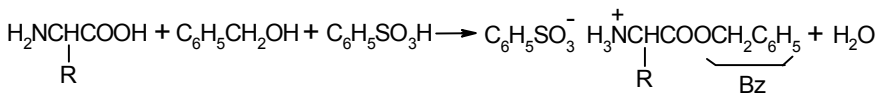
### 3.1.2. $\alpha$ -COOH խմբի պաշտպանումը

Ամինաթթուների կամ պեպտիդների  $\alpha$ -կարբօքսիլային խմբի պաշտպանման համար հաճախ օգտագործում են նրանց էսթերները՝ մեթիլային, էթիլային, բենզիլային, *p*-նիտրոբենզիլային և այլն:

Մեթիլային և էթիլային էսթերների ստացման սխեմաները բերված են ամինաթթուների քիմիական հատկությունների բաժնում (տե՛ս բաժին 1.6.1.): Մեթիլային և էթիլային էսթերները հեռացվում են հիմնային միջավայրում, ինչը հաճախ ուղեկցվում է մասնակի ռացեմացմամբ: Այդ տեսակետից ավելի հեռանկարային է բենզիլային էսթերների կիրառումը:

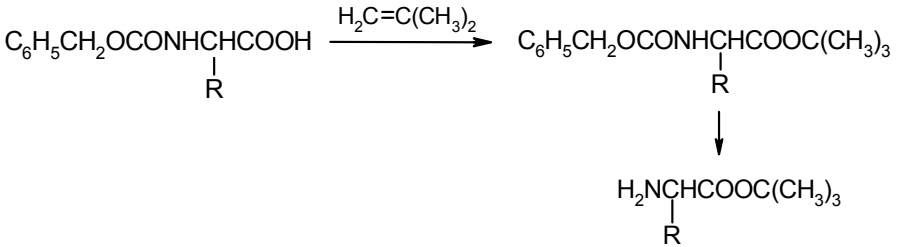
*Բենզիլային էսթերները* ստացվում են բենզիլսպիրտում ամինաթթվի կախության հետևում քլորաջրածին անցկացնելով: Քլորաջրածնի փոխարեն որպես կատալիզատոր կարելի է օգտագործել բենզոլսուլֆոթթթու, որի ավելցուկի պարագայում ռեակցիան ընթանում է հոմոգեն միջավայրում, քանի որ ամինաթթվի բենզոլսուլֆոթթվային աղը լավ լուծվում է բենզիլսպիրտում (սխեմա 53): Նման պայմաններում ամինաթթվի բենզիլային էսթերի բենզոլսուլֆոթթվային աղը ստացվում է 70-95% ելքով:

#### Սխեմա 53



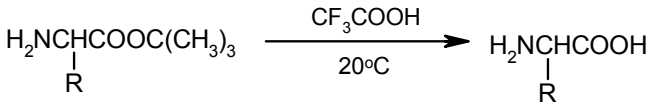
Կարբօքսիլային խմբի համար հարմար պաշտպանող տարբերակ են հանդիսանում *t*-բուրիլային էսթերները: Դրանք հեշտությամբ ստացվում են՝ թթվային միջավայրում N-ացիլված ամինաթթուն (ավելի հաճախ՝ Cbz) իզոբուրիլենի հետ փոխազդելով (սխեմա 54):

### Սխեմա 54



Ամինաթթուների *t*-բուֆիլային էսթերները կայուն են հիմնային միջավայրում և չեն քայքայվում կատալիտիկ հիդրման ժամանակ, սակայն հեշտությամբ հեռացվում են թթվային միջավայրում, օրինակ՝ անջուր եռֆտորքացախաթթվի ազդեցությամբ սենյակային ջերմաստիճանում (սխեմա 55):

### Սխեմա 55



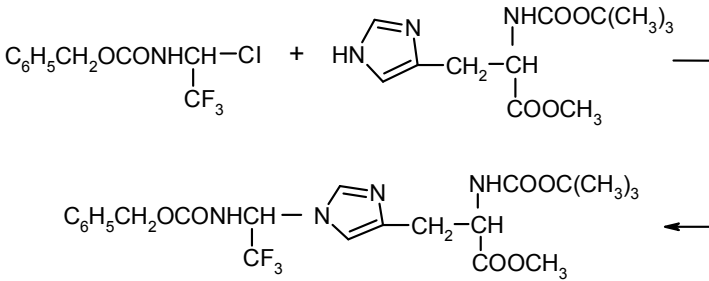
Որոշ դեպքերում ամինաթթվի կարբօքսիլային խմբի պաշտպանման համար օգտագործում են *հիդրապոլիմեր*, որոնք համարվում են միջանկյալ միացություններ *ապոլիմերի* առաջացման ռեակցիաներում:

#### 3.1.3. Ռադիկալի ֆունկցիոնալ խմբերի պաշտպանումը

Պեպտիդային սինթեզի ժամանակ հաճախ անհրաժեշտ է պաշտպանել ոչ միայն  $\alpha$ -ամինային և  $\alpha$ -կարբօքսիլային խմբերը, այլ նաև կողքային շղթայի ֆունկցիոնալ խմբերը: Դրանք թվին են պատկանում լիզինի և օրնիթինի ամինային խումբը, հիստիդինի իմիդազոլային խումբը, արգինինի գուանիդինային խումբը, սերինի, թրեոնինի, թիրոզինի և օքսիպրովինի հիդրօքսիլային խումբը, ցիս-



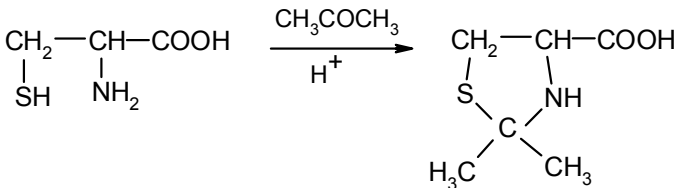
### Սխեմա 57



Սերինի, թրեոնինի, թիրոզինի և օքսիպրովինի ռադիկալի OH խումբը կարելի է պաշտպանել O-բենզիլային, O-ացետիլային և O-տետրահիդրոպիրանիլային ածանցյալների տեսքով: Բենզիլային խումբը կարելի է հեշտությամբ հեռացնել Na/NH<sub>3</sub> միջավայրում, իսկ ացետիլային և տետրահիդրոպիրանիլային պաշտպանող խմբերը՝ թթվային հիդրոլիզով:

Ֆիստեինի *սուլֆիդիլային* խումբը հիմնականում պաշտպանում են Վուդի և Դյու Վինի մեթոդով՝ S-բենզիլային ածանցյալի տեսքով, որը հեշտությամբ հեռացվում է Na/NH<sub>3</sub> (հեղուկ) միջավայրում: Բացի դրանից՝ ցիստեինի SH խումբը կարելի է պաշտպանել մասն ագետոնի հետ ռեակցիայով՝ համապատասխան թիազոլիդիմային ածանցյալի առաջացմամբ (սխեմա 58):

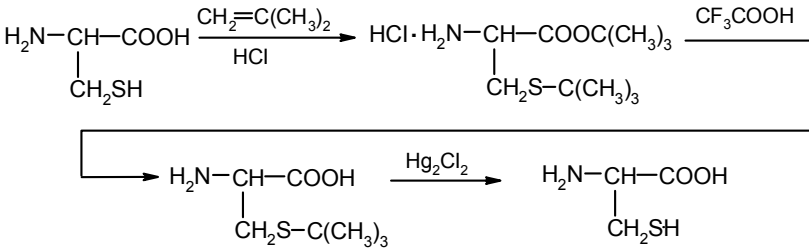
### Սխեմա 58



Սակայն այս մեթոդի դեպքում հնարավոր է պեպտիդային կապի առաջացում ինչպես կարբօքսիլային, այնպես էլ իմինային խմբի հաշվին, ինչի պատճառով մեթոդը լայն կիրառություն չի ստացել:

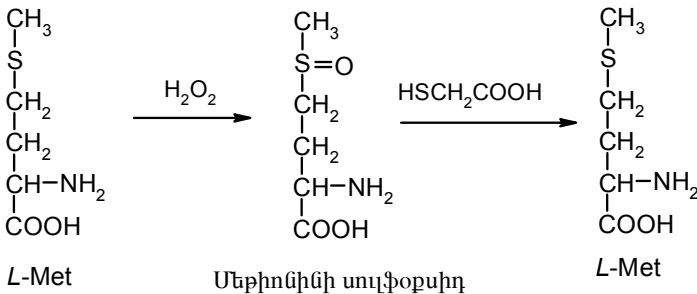
Յիստեինի SH խմբի պաշտպանման համար ավելի տարածված են S-*t*-բութիլային ածանցյալները: Ադաթթվի միջավայրում ցիստեինի և իզոբութիլենի փոխազդեցության արդյունքում առաջանում է S-*t*-բութիլցիստեինի *t*-բութիլային էսթեր, որը եռֆտորքացախաթթվով մշակելու արդյունքում վերածվում է S-*t*-բութիլցիստեինի: Վերջինիս թիոէթերային կապը կայուն է թթուների հանդեպ, սակայն հեշտությամբ ճեղքվում է սնդիկի քլորիդի լուծույթի ազդեցությամբ՝ առաջացնելով ցիստեին (սխեմա 59):

**Սխեմա 59**



Մեթիոնինի մասնակցությամբ պեպտիդային սինթեզում կողմնակի պրոցեսներից խուսափելու համար հաճախ այն օգտագործվում է սուլֆօբսիդի տեսքով, որի հետադարձ տրանսֆորմացումը մեթիոնինի իրականացվում է սուլֆօբսիդի վերականգնմամբ, օրինակ՝ թիոզվիկոլաթթվի միջոցով (սխեմա 60):

**Սխեմա 60**



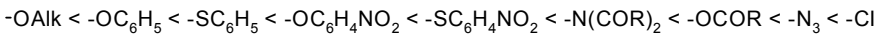
Ասպարազինաթթվի և գլուտամինաթթվի ռադիկալի կարբօքսիլային խմբերը պեպտիդային սինթեզում սովորաբար պաշտպանում են էսթերների կամ ամիդների տեսքով: Առավել տարածված են բենզիլային էսթերները, որոնք հեշտությամբ հեռացվում են կատալիտիկ հիդրոման եղանակով:

### **3.2. Ֆունկցիոնալ խմբերի ակտիվացում և պեպտիդային կապի առաջացում**

Ամինաթթուների կառուցվածքի մեջ պաշտպանող խմբերի ներմուծումից հետո հաջորդ քայլը համարվում է նրանց կոդենսումը: Հիմնականում դա հնարավոր չէ իրականացնել առանց պեպտիդի բաղադրամասերից մեկի կարբօքսիլային կամ ամինային խմբի ակտիվացման: Առավել տարածված է կարբօքսիլային խմբի ակտիվացումը:

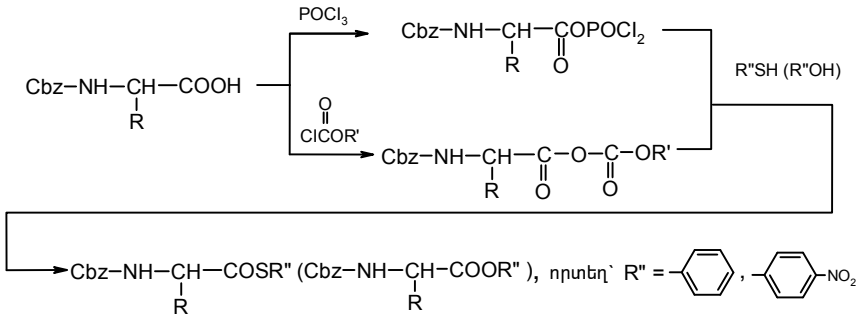
#### **3.2.1. $\alpha$ -COOH խմբի ակտիվացումը**

Պեպտիդային սինթեզի համար անհրաժեշտ է ամինաթթվի կարբօքսիլային խումբը բերել ռեակցիոնունակ վիճակի, որն իրականացվում է նրան այնպիսի խմբերի միացմամբ, որոնք ընդունակ են մեծացնել կարբօքսիլային ածխածնի ատոմի էլեկտրոֆիլությունը: Այդ խմբերի ակտիվացնող հատկությունը մեծանում է հետևյալ շարքով.



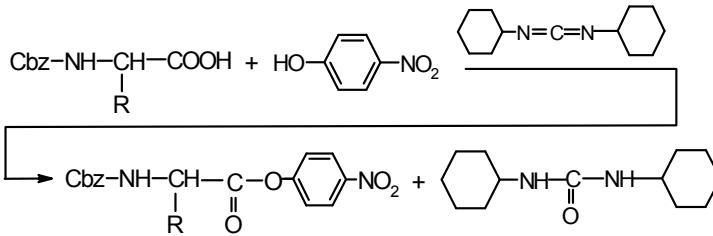
**Ամինաթթվի ակտիվացված էսթերներ:** Վերջին ժամանակներս մեծ հետաքրքրություն են առաջացրել ամինաթթվի ակտիվացված էսթերները, հատկապես *p*-նիտրոֆենիլային և թիոֆենիլային էսթերները: Դրանք կարելի է ստանալ մի շարք եղանակներով, օրինակ՝ N-պաշտպանված ամինաթթուն նախ մշակվում է  $\text{POCl}_3$ -ով կամ քլորածխաթթվի էսթերով, իսկ այնուհետև առաջացած միջանկյալ արգասիքը՝ *p*-նիտրոֆենոլով կամ թիոֆենոլով (սխեմա 61):

## Սխեմա 61



Հնարավոր է նաև N-պաշտպանված ամինաթթվի ուղղակի էսթերացումը *p*-նիտրոֆենոլով կամ թիոֆենոլով դիցիկլոհեքսիլկարբոդիմիդի ներկայությամբ (սխեմա 62):

## Սխեմա 62



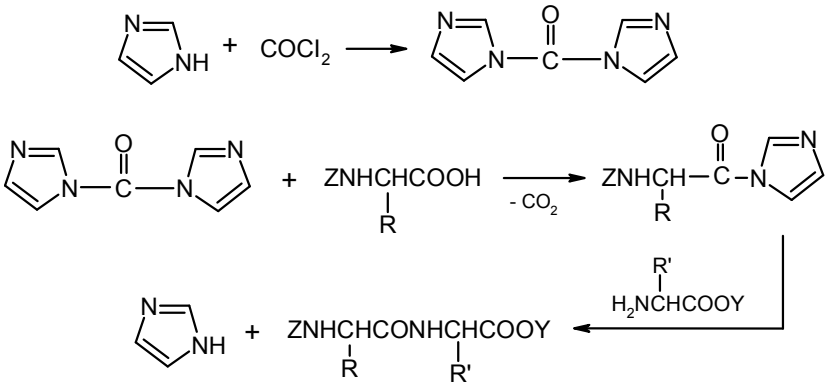
Պեպտիդային սինթեզում էսթերային մնացորդները կարող են հանդես գալ ինչպես որպես պաշտպանող, այնպես էլ ակտիվացնող խումբ: Օրինակ՝ ազատ NH<sub>2</sub> խմբով ամինաթթվի էսթերի և հաջորդ ամինաթթվի ակտիվացված կարբոքսիլային բաղադրիչի փոխազդեցության արդյունքում առաջանում է ակտիվացված դիպեպտիդ, որն իր հերթին կարող է հանդես գալ որպես կարբոքսիլային բաղադրիչ այլ ամինաթթուների կամ պեպտիդների հետ փոխազդեցության ժամանակ (սխեմա 63):



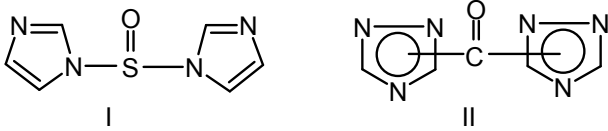


յին ջերմաստիճանում ռեակցում է N-պաշտպանված ամինաթթվի հետ՝ առաջացնելով ակտիվացված ամիդ, որն իր հերթին կարող է կոնդենսվել հաջորդ ամինաթթվի ամինային բաղադրիչի հետ՝ առաջացնելով պեպտիդ (սխեմա 65): Այս ռեակցիան ընթանում է բարձր քիմիական ելքով՝ առանց ռացեմացման և արգասիքի քայքայման:

**Սխեմա 65**



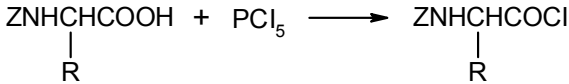
Նույն հաջողությամբ COOH խմբի ակտիվացման համար կարելի է օգտագործել նաև թիոնիլդիմիդազոլ (I) և կարբոնիլդիստրիազոլ (II):



**Ամինաթթուների խառը անհիդրիդներ:** Պեպտիդային սինթեզում լայնորեն կիրառվում են օրգանական և անօրգանական թթուների հետ ամինաթթուների առաջացրած խառը անհիդրիդները: Այդ կարգի միացությունների թվին են պատկանում հալոգենանհիդրիդները և ազիդները, որոնք կարելի է դիտարկել որպես ամինաթթուների և համապատասխան անօրգանական թթուների խառը անհիդրիդներ:

Հալոգենասնհիդրիդները պեպտիդային սինթեզում առաջին անգամ օգտագործել է Ֆիշերը: Դրանք հեշտությամբ ստացվում են N-ացիլամինաթթվի և  $\text{PCl}_5$ -ի փոխազդեցության արդյունքում (սխեմա 66):

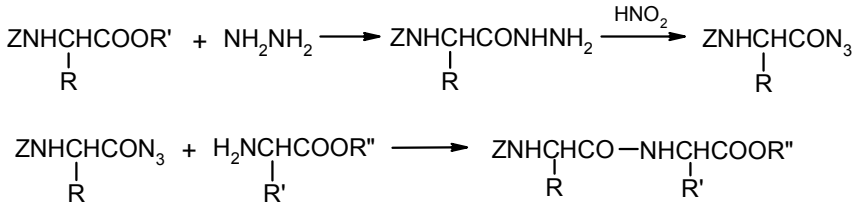
**Սխեմա 66**



Ներկայումս քլորանհիդրիդները հազվագյուտ են կիրառվում պեպտիդային սինթեզում նրանց չափից ավելի ռեակցիոնունակության պատճառով, ինչը կարող է հարուցել կողմնակի ռեակցիաներ: Դրանք ավելի հաճախ կիրառվում են որպես միջանկյալ միացություններ այլ ամանցյալների ստացման ռեակցիաներում:

Պեպտիդային սինթեզում ավելի լայն կիրառություն են ստացել ամինաթթուների *ազիդները*՝ ստացման մեթոդների պարզության և նրանց կիրառության ժամանակ ոչ ցանկալի ռացեմացման բացակայության շնորհիվ: Ազիդների ստացման համար N-ացիլված ամինաթթվի էսթերը փոխազդեցության մեջ է դրվում անջուր հիդրազինի հետ՝ համապատասխան հիդրազիդների առաջացմամբ, որոնք ազոտային թթվի ազդեցությամբ վերածվում են ազիդների: Առաջացած ազիդը, փոխազդելով հաջորդ ամինաթթվի ամինային բաղադրիչի հետ, բարձր քիմիական ելքով և օպտիկական մաքրությամբ առաջացնում է պեպտիդ (սխեմա 67):

**Սխեմա 67**

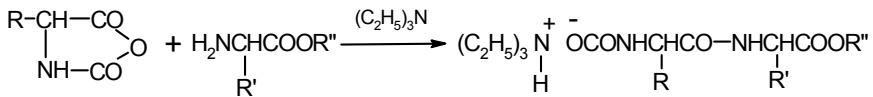


Ազիդային ակտիվացումը հատկապես լայն կիրառություն է ստացել երկու պեպտիդային մնացորդների միջև պեպտիդային կապ առաջացնելու գործընթացներում՝ ավելի խոշոր պեպտիդային շղթաներ ստանալու նպատակով (ֆրագմենտների կոնդենսում): Այս մեթոդի դեպքում կողմնակի ռեակցիաներ հնարավոր են հիդրազիդը ազիդի տրանսֆորմացման փուլում, օրինակ՝ նիտրման ռեակցիա և այլն:

Կարբօքսիլային խմբի ակտիվացման համար օգտագործում են նաև *տոզիլլոբիդի* և *դիֆենիլքացախաթթվի* հետ ամինաթթուների առաջացրած խառն անհիդրիդները:

**Ամինաթթուների N-կարբօքսանհիդրիդները:** Պեպտիդային սինթեզում հաճախ օգտագործում են ամինաթթուների որոշ ցիկլիկ ածանցյալներ, որոնց շարքում առանձնահատուկ կարևորություն են ներկայացնում N-կարբօքսանհիդրիդները, հատկապես պոլիպեպտիդների աստիճանական սինթեզի ռեակցիաներում (սխեմա 68):

### Սխեմա 68

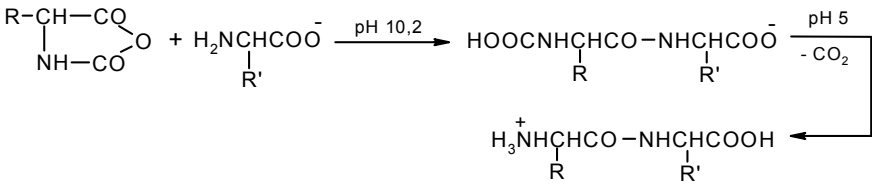


Ամինաթթվի N-կարբօքսանհիդրիդը տրիէթիլամինի ներկայությամբ օրգանական լուծիչում փոխազդում է հաջորդ ամինաթթվի էսթերի հետ՝ առաջացնելով դիպեպտիդ՝ կարբամատային աղի տեսքով, որն այնուհետև դեկարբօքսիլվում է՝ առաջացնելով դիպեպտիդի էսթեր: Այս մեթոդը պեպտիդային սինթեզում լայն կիրառություն չի ստացել, քանի որ օրգանական լուծիչներում դժվար է խուսափել N-կարբօքսանհիդրիդի պոլիկոնդենսման կողմնակի ռեակցիայից, ինչի պատճառով սինթեզն իրականացվում է մինչև  $-30^\circ\text{C}$  սառեցման պայմաններում:

Ավելի ուշ պարզվել է, որ ջրային լուծույթում pH 10,2 արժեքի և մինչև  $0^\circ\text{C}$  սառեցման պայմաններում ամինաթթվի N-կարբօքսանհիդրիդը բավականին կայուն է և հեշտությամբ կարող է ռեակցել ամինաթթվի կամ պեպտիդի  $\text{NH}_2$  խմբի հետ՝ առաջացնելով պեպտի-

դային կապ: Միջավայրի թթվեցման ժամանակ տեղի է ունենում դեկարբոքսիլում, և առաջանում է պեպտիդ (սխեմա 69):

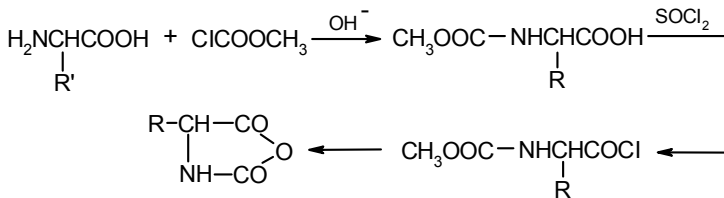
### Սխեմա 69



Այս մեթոդը բավականին հեռանկարային է, քանի որ թույլ է տալիս իրականացնել սինթեզը մինիմալ քանակով պաշտպանող խմբերի օգտագործմամբ, ինչպես նաև երկարացնել պեպտիդային շղթան առանց միջանկյալ արգասիքների անջատման:

N-կարբոքսանհիդրիդները բավականին մատչելի նյութեր են և ստացվում են մի շարք մեթոդներով: Դրանց ստացման հարմար մեթոդ է *կարբալկօքսիլային մեթոդը* (Լեյկսի մեթոդը), համաձայն որի՝ նախ ամինաթթուն հիմնային միջավայրում ագիլում են քլորածխաթթվի մեթիլ էսթերով, որից հետո առաջացած N-ացիլամինաթթուն մշակում են թիոնիլքլորիդով: Այնուհետև առաջացած N-կարբմեթօքսիամինաթթուն վակուումի պայմաններում տաքացնում են մինչև 60-70°C (սխեմա 70):

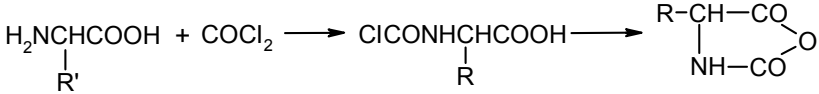
### Սխեմա 70



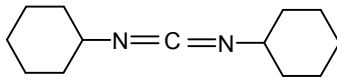
N-կարբոքսանհիդրիդը կարելի է ստանալ նաև *ֆուզենացման* ճանապարհով: Դրա համար չոր դիօքսանի կամ տետրահիդրոֆուրանի միջավայրում մինչև 40-50°C տաքացման պայմաններում ամի-

նաթթվի կախույթահեղուկով անցկացվում է ֆուսգեն: Որպես միջանկյալ միացություն՝ առաջանում է կարբամիլքլորիդ (սխեմա 71):

**Սխեմա 71**

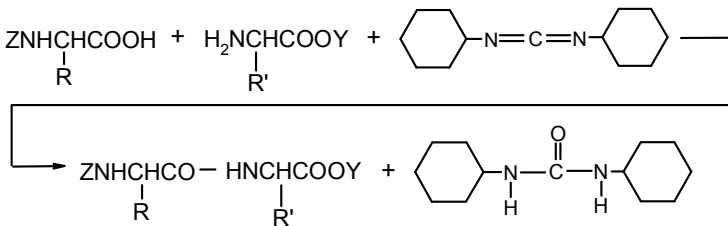


**Կարբոդիմիդային ածանցյալները պեպտիդային սինթեզում:**  
 1955 թ.-ին Շեյնը առաջարկել է որպես կոնդենստղ (չուր պոկոդ) միջոց պեպտիդային սինթեզում օգտագործել R-N=C=N-R ընդհանուր բանաձևով կարբոդիմիդային ածանցյալները: Դրանց շարքում առավել արդյունավետություն է ցուցաբերում N, N'-դիցիկլոհեքսիլ-կարբոդիմիդը (DCCD):



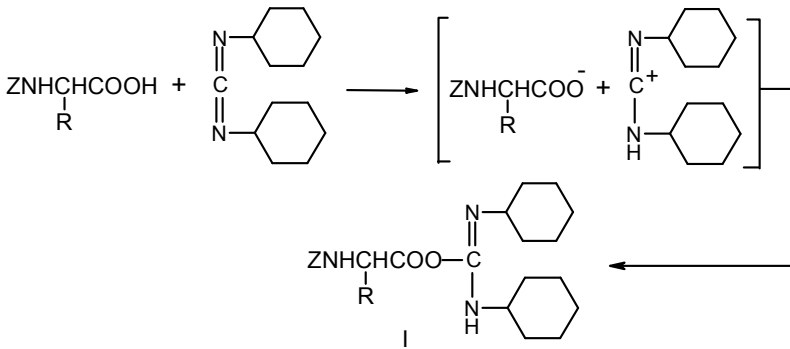
Ամինաթթվի կարբօքսիլային և ամինային բաղադրիչներն առանց ակտիվացվելու N, N'-դիցիկլոհեքսիլկարբոդիմիդի ներկայությամբ կոնդենսվում են՝ առաջացնելով դիպեպտիդ: Այդ ընթացքում N, N'-դիցիկլոհեքսիլկարբոդիմիդը վերածվում է դիցիկլոհեքսիլմիզանյութի, որը չի լուծվում գրեթե բոլոր օրգանական լուծիչներում և հեշտությամբ անջատվում է միջավայրից: Ռեակցիան ընթանում է արագ և բարձր ելքերով (սխեմա 72):

**Սխեմա 72**

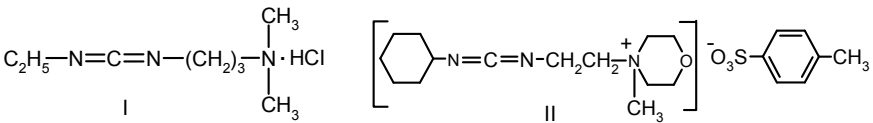


Այս մեթոդի դեպքում անհրաժեշտ պայման է համարվում բոլոր ֆունկցիոնալ խմբերի պաշտպանումը, բացի այն խմբերից, որոնք պետք է մասնակցեն պեպտիդային կապի առաջացմանը: Ռեակցիայի մեխանիզմի հետազոտման արդյունքում պարզվել է, որ միջանկյալ փուլում տեղի է ունենում ամինաթթուներից մեկի կարբոքսիլային խմբի ակտիվացում՝ Օ-իզոմիզանյութի էսթերի (I) տեսքով (սխեմա 73):

**Սխեմա 73**



Բացի դիցիկլոհեքսիլկարբոդիմիդից՝ քննարկվել են նաև կարբոդիմիդի որոշ այլ ածանցյալներ, օրինակ՝ ջրալուծ 1-էթիլ-3-(3'-դիմեթիլամինոպրոպիլ)կարբոդիմիդը (I) և կարբոդիմիդի մորֆոլինային ածանցյալը (II):



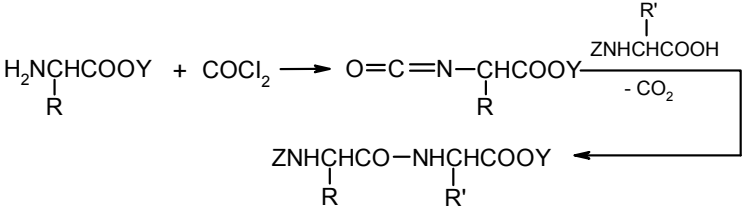
Դիցիկլոհեքսիլկարբոդիմիդը լայն կիրառություն է ստացել պեպտիդային սինթեզում, իսկ կարբոդիմիդային մեթոդը ներկայումս համարվում է պեպտիդային սինթեզի դասական եղանակներից մեկը: Սակայն որոշ դեպքերում, հատկապես խոշոր պեպտիդային ֆրագմենտների դեպքում, այդ մեթոդի օգտագործումը կապված է որոշակի

դժվարությունների հետ, ինչը պայմանավորված է ցածր ելքերով, մասնակի ռացեմացման հնարավորությամբ և սինթեզի արգասիքների անջատման և մաքրման դժվարություններով: Բացի դրանից՝ դի-ցիկլոհեքսիլկարբոդիմիդը պերզիկ միացություն է:

**3.2.2. α-NH<sub>2</sub> խմբի ակտիվացումը**

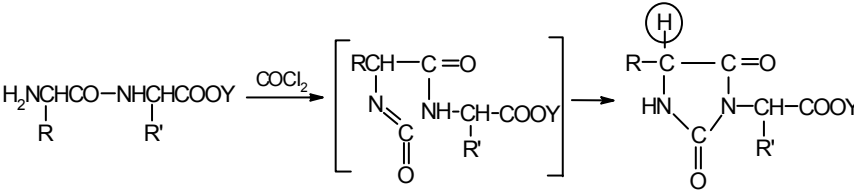
**N-կարբոնիլամինաթթուների էսթերներ (իզոցիանատներ):** Այդ էսթերները (I) հեշտությամբ առաջանում են եռացող տոլուոլի միջավայրում ամինաթթուների էսթերների և ֆոսգենի փոխազդեցության արդյունքում, ելքը՝ 90% (սխեմա 74):

**Սխեմա 74**



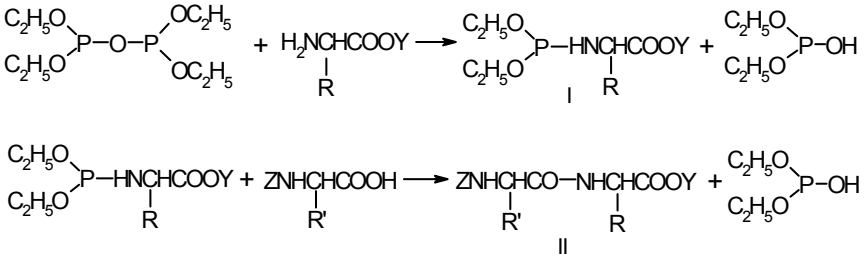
Գիպեպտիդների մակարդակով ռացեմացում չի նկատվում: Սակայն բարձր պեպտիդների սինթեզի դեպքում իզոցիանատի տեսքով կոնդենսման ռեակցիայի մեջ պետք է մտցվի ամինաթթուն և ոչ թե պեպտիդը, քանի որ պեպտիդի իզոցիանատը ընդունակ է առաջացնել միջանկյալ հիդանտոին, որը պարունակում է շարժուն α-H և կարող է ենթարկվել մասնակի ռացեմացման (սխեմա 75):

**Սխեմա 75**



**Ֆոսֆիտամիդներ:** Ֆոսֆիտամիդի տեսքով  $\text{NH}_2$  խմբի ակտիվացման մեթոդն առաջարկվել է Անդերսոնի կողմից: Ամինաթթվի ֆոսֆիտամիդը կարելի է ստանալ տարբեր եղանակներով: Առավել տարածված է դիէթիլֆոսֆիտի միջավայրում ամինաթթվի էսթերի (կամ հիդրոքլորիդի) և տետրաէթիլպիրոֆոսֆիտի փոխազդեցությամբ ամինաթթուների ֆոսֆիտամիդների ստացումը (սխեմա 76):

**Սխեմա 76**



Եթե ամինաթթվի էսթերը օգտագործվում է հիդրոքլորիդի տեսքով, ապա անջատված քլորաջրածնի կապման համար ավելացվում է էկվիմոլային քանակությամբ տրիէթիլամին: Առաջացած ամինաթթվի դիէթիլֆոսֆիտամիդը (I) ռեակցվում է հաջորդ ամինաթթվի կարբօքսիլային բաղադրիչի (N-ացիլամինաթթվի) հետ՝ առաջացնելով պաշտպանված դիպեպտիդ (II):

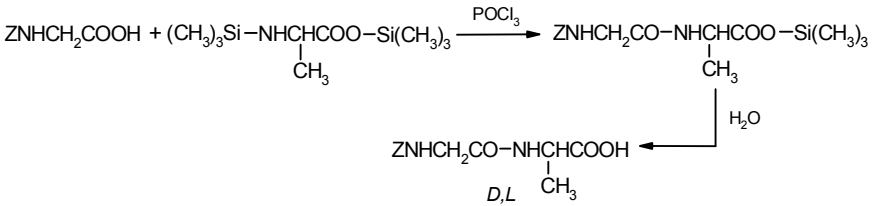
### 3.3. Ամինաթթուների սիլիլային ածանցյալները պեպտիդային սինթեզում

Ամինաթթուների և պեպտիդների սիլիլային ածանցյալները հետաքրքիր են երկու տեսակետից. նախ՝ տարրօրգանական մնացորդների ներմուծումը ամինաթթվի կամ պեպտիդի կառուցվածքի մեջ էապես փոփոխում է նրանց ֆիզիկաքիմիական հատկությունները (լուծելիությունը, ցնդելիությունը և այլն), և մյուս կողմից՝ դրանք նոր հնարավորություններ են բացում պեպտիդային սինթեզի գործըն-





## Սխեմա 78



Այս մեթոդով սինթեզվել են մի շարք դի- և տրիպեպտիդներ, ընդ որում՝ ցույց է տրվել, որ  $(\text{CH}_3)_3\text{Si}$  խումբը հաջողությամբ կարող է օգտագործվել նաև SH և OH խմբերի պաշտպանման համար: Բացի դրանից՝ մեթոդի հիմնական առավելություններից է այն, որ տրիմեթիլսիլիլալին խումբը հեշտությամբ հեռացվում է սինթեզված պեպտիդից՝ այն ջրով կամ սպիրտով մշակելու արդյունքում, և այդ ընթացքում ելալին ամինաթթվի կամ առաջացած պեպտիդի ռացեմացում չի դիտվում:

### 3.4. Պեպտիդային սինթեզի ընդհանուր խնդիրները

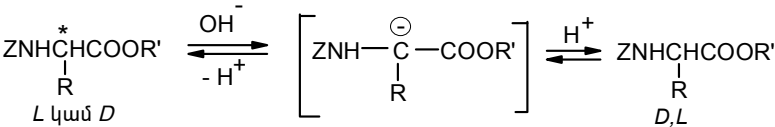
Պեպտիդային սինթեզի ընդհանուր խնդիրներն են պեպտիդների ցածր լուծելիությունը, սինթեզի ընթացքում ռացեմացման հնարավորությունը և նպատակային արգասիքների ցածր ելքերը: Բոլոր նշված խնդիրները փոքր պեպտիդների սինթեզի դեպքում լուծելի են: Ավելի խոշոր պեպտիդների սինթեզին անցնելուց առաջանում են լրացուցիչ դժվարություններ, որոնք կապված են նրանց լուծելիության կտրուկ անկման հետ: Ազատ հեքսա- և նույնիսկ պենտապեպտիդները գործնականում չեն լուծվում օրգանական լուծիչներում: Որպես կանոն, պաշտպանված պեպտիդները լուծվում են ավելի լավ, քան ազատ պեպտիդները: Լուծելիության խնդիրը ծագում է նաև սինթեզված պեպտիդների անջատման ժամանակ, օրինակ՝ պաշտպանված տրի-, տետրա- և պենտապեպտիդները հեշտությամբ անջատվում են բյուրեղական վիճակով, իսկ բարձր պեպտիդները,

որոնք հիմնականում ամորֆ միացություններ են, բավականին դժվարությամբ են անջատվում և մաքրվում:

Հաջորդ լուրջ խնդիրը պեպտիդային սինթեզում հանդիսանում է ամինաթթվային մնացորդների ռացեմացումը: Պեպտիդային կապի առաջացումը գրեթե բոլոր մեթոդներով, բացի ազիդային մեթոդից, ուղեկցվում է մասնակի կամ լրիվ ռացեմացմամբ: Ռ-ացեմացում ավելի հաճախ տեղի է ունենում սինթեզի ընթացքում հիմքերի կիրառման դեպքում: Օրինակ՝ ազատ հիմքի տեսքով ամինաթթվի մեթիլային կամ էթիլային էսթերները անկայունության պատճառով սովորաբար հաջորդ ակտիվացված ամինաթթվի հետ կոնդենսման ռեակցիայի մեջ են դրվում հիդրոքլորիդի տեսքով: Այդ դեպքում անջատված քլորաջրածնի կապման համար ավելացվում է տրիէթիլամին, որը կարող է հարուցել առաջացած պեպտիդի մասնակի ռացեմացում:

Ռ-ացեմացման հնարավորություն է ծագում նաև հիմնային հիդրոլիզի եղանակով էսթերային խմբերի հեռացման գործընթացներում: Ընդհանրապես հիմքերի ներկայությամբ հնարավոր է ամինաթթվային մնացորդների  $\alpha$ -պրոտոնի պոկում, որի հետադարձ միացումը կարբանիոնին բերում է ռացեմացման (սխեմա 79):

**Սխեմա 79**



Ռ-ացեմացում հնարավոր է նաև կարբօքսիլային բաղադրիչների ակտիվացման ժամանակ: Այդ պրոցեսի մեխանիզմը մինչև վերջ պարզաբանված չէ, սակայն առավել ընդունված է այն վարկածը, որ ռացեմացումն ընթանում է ամինաթթուների N-ացիլտեղակալված ածանցյալներից միջանկյալ ազլակտոնների առաջացմամբ: Վերջիններս պարունակում են շարժունակ  $\alpha$ -H և ընդունակ են ենոլիզացման (սխեմա 80):



Սկզբունքորեն հնարավոր են դասական պեպտիդային սինթեզի հետևյալ երկու տարբերակները. 1. պեպտիդային շղթայի աստիճանական երկարացում (*աստիճանական պեպտիդային սինթեզ*) և 2. առանձին փոքր պեպտիդային ֆրագմենտների սինթեզ և իրար միացում (*ֆրագմենտների կոնդենսում*):

### 3.5. Աստիճանական պեպտիդային սինթեզ

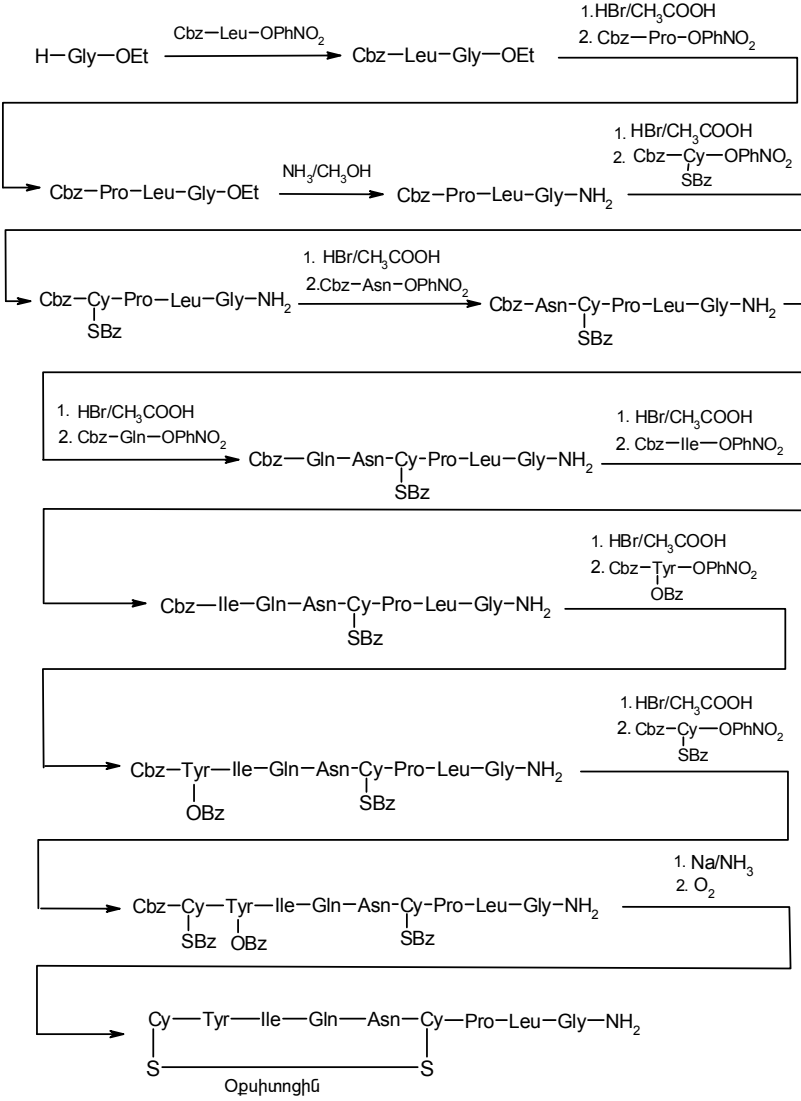
Այս տարբերակով, օրինակ, N-կարբոքսիլաբաժնաբաժնի տրանսֆորմացիայում է *p*-նիտրոֆենիլային էսթերի և կոնդենսվում հաջորդ ամինաթթվի ամինային բաղադրիչի հետ: Ստացված դիպեպտիդը վերածվում է նոր ամինային բաղադրիչի՝ պաշտպանող խմբի հեռացման ճանապարհով և կոնդենսվում է հաջորդ N-կարբոքսիլաբաժնի *p*-նիտրոֆենիլային էսթերի հետ՝ առաջացնելով տրիպեպտիդ, և այսպես շարունակ: Այս մեթոդի հիմնական թերությունը պաշտպանող խմբերի հեռացման բազմափուլությունն է, որի ընթացքում մեծանում է ոչ ցանկալի կողմնակի ռեակցիաների հավանականությունը, և անհրաժեշտ է յուրաքանչյուր փուլից հետո մաքրել միջանկյալ միացությունները: Հետևաբար, աստիճանական պեպտիդային սինթեզի ժամանակ պետք է ձգտել ամբողջ սինթեզի ընթացքում օգտագործել միևնույն պաշտպանող և ակտիվացնող խմբերը:

Աստիճանական պեպտիդային սինթեզի լավ օրինակ է համարվում *օքսիտոցինի* սինթեզը, որն իրականացրել է Բոդանսկին մինչև 30% քիմիական ելքով (մինչ այդ իրականացված օքսիտոցինի սինթեզի ելքը կազմել էր 5-10%) (սխեմա 81):

Նման կարգի բարձր քիմիական ելքեր հեղինակին հաջողվել է ստանալ ամբողջ սինթեզի ընթացքում ամինային խմբի միևնույն պաշտպանող Cbz և կարբօքսիլային խմբի միևնույն ակտիվացնող OPhNO<sub>2</sub> խմբերի կիրառման շնորհիվ: Բացի դրանից՝ սինթեզի ամբողջ ընթացքում կիրառվել է ամինային պաշտպանող խմբի հեռացման միևնույն տարբերակը՝ HBr քացախաթթվի միջավայրում: Հեղինակը սինթեզի փուլերից մեկում (տրիպեպտիդից տետրապեպտիդի սինթեզի փուլում) C-ծայրային ամինաթթվային մնացորդի էթիլէսթե-

րային ածանցյալը վերածել է ամիդի, ինչը նույնպես նպաստել է ընդհանուր ելքի բարձրացմանը:

**Սխեմա 81**



Լավագույն արդյունքներ են արձանագրվել նաև ամինաթթուների ամինային խումբը *N*-*t*-բուֆօքսիկարբոնիլային խմբով պաշտպանման, իսկ կարբօքսիլային խումբը *N*-օքսիտուկցինիմիդային էսթերների տեսքով ակտիվացման տարբերակով աստիճանական պեպտիդային սինթեզ իրականացնելու դեպքում:

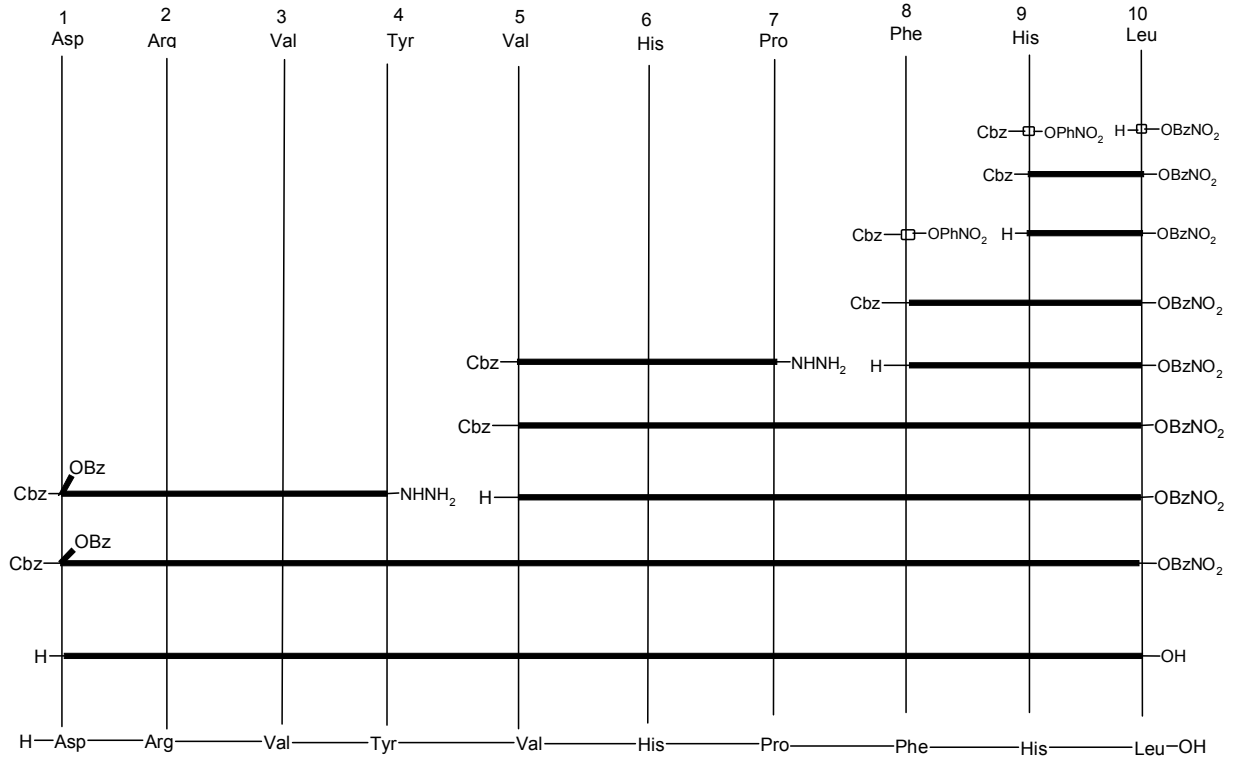
### 3.6. Ֆրագմենտների կոնդենսում

Ֆրագմենտների կոնդենսման տարբերակի դեպքում ամինային և կարբօքսիլային բաղադրիչները համարվում են պեպտիդներ՝ սինթեզված աստիճանական սինթեզի տարբերակով: Մեթոդի թերությունները համարվում են պեպտիդային կարբօքսիլային բաղադրիչների ռացեմացման ունակությունը և ինչպես ելային պեպտիդների, այնպես էլ նրանց կոնդենսման արգասիքների վատ լուծելիությունն օրգանական լուծիչներում:

Ֆրագմենտների կոնդենսման եղանակի լավ օրինակ է  $\text{Val}^5$ -անգլիտենզին-1 պեպտիդի սինթեզը, որն իրականացվել է Գուտմանի կողմից: Աստիճանական սինթեզի եղանակով սինթեզվել են երեք պեպտիդային ֆրագմենտներ՝ օգտագործելով ամինային խմբի պաշտպանման կարբոբենզօքսի (*Cbz*), կարբօքսիլային խմբի ակտիվացման *p*-նիտրոֆենիլային ( $\text{OPhNO}_2$ ) և կարբօքսիլային խմբի պաշտպանման *p*-նիտրոբենզիլային ( $\text{OBzNO}_2$ ) մեթոդները: Առաջացած պեպտիդային ֆրագմենտների կոնդենսման ռեակցիաներում  $\alpha\text{-NH}_2$  և  $\alpha\text{-COOH}$  խմբերի պաշտպանման համար օգտագործվել են համապատասխանաբար *Cbz* և  $\text{OBzNO}_2$  խմբերը, իսկ  $\alpha\text{-COOH}$  խմբի ակտիվացման համար կիրառվել է ազիդային մեթոդը (սխեմա 82):

Պեպտիդային սինթեզի ժամանակակից մեթոդները հնարավորություն են տալիս սինթեզելու բնական կենսաբանորեն ակտիվ պեպտիդների արհեստական նմանակներ: Աստիճանական սինթեզի և ֆրագմենտների կոնդենսման մեթոդների համակցված կիրառմամբ սինթեզվել են օքսիտոցինի, վազոպրեսինի, հիպերտենզինների, բրադիկինինի, գլյուկագոնի և այլ բնական պեպտիդների նմանակներ:

## Միսնա 82





Աստիճանական սինթեզի և ֆրագմենտների կոնդենսման մեթոդների կիրառմամբ հաջողվել է իրականացնել նաև առաջին բնական սպիտակուց ինսուլինի սինթեզը:

Սինթեզված պեպտիդային շղթաները անհրաժեշտ են նաև բնական անջատված պեպտիդների կառուցվածքի վերջնական նույնականացման համար: Սակայն տասնյակ տարիների ընթացքում մշակված դասական պեպտիդային սինթեզի մեթոդներն այսօր չեն բավարարում դեղագործության, բժշկության և տնտեսության այլ ոլորտների ժամանակակից պահանջներին: Այդ պատճառով ելքերի բարձրացման, լուծելիության և արգասիքների անջատման հետ կապված խնդիրների լուծման համար վերջին ժամանակներս հաջողությամբ կիրառում են տարբեր յուրօրինակ մոտեցումներ, օրինակ՝ պեպտիդային սինթեզը պոլիմերային հենքի վրա, ֆերմենտային կատալիզի համակցումը քիմիական սինթեզի հետ և այլն:

Առավել հեռանկարային է համարվում աստիճանական սինթեզի տարբերակով պեպտիդային ֆրագմենտների ստացումն ամինաթթուների N-կարբօքսանհիդրիդների կոնդենսման մեթոդի կիրառմամբ: Այդ մեթոդի դեպքում պրոցեսի մեջ են դրվում հնարավորինս քիչ քանակությամբ պաշտպանող խմբեր, լուծվում են լուծելիության և ելքի խնդիրները, ինչպես նաև հիմնականում բացառվում է ռացեմացումը: Նման ճանապարհով 1969 թ.-ին սինթեզվել է 104 ամինաթթվային մնացորդներից կազմված ***ռիբոնուկլեազ S*** պոլիպեպտիդը:

### **3.7. Պեպտիդային սինթեզ պոլիմերային հենքի վրա**

Պեպտիդային սինթեզի հեռանկարային տարբերակներից է սինթեզը պոլիմերային հենքի վրա կամ պինդֆազային սինթեզը, որն առաջարկվել է Մերիֆիլդի կողմից: Մեթոդի էությունը կայանում է նրանում, որ պեպտիդային շղթան ամբողջ երկարությամբ սինթեզվում է պոլիմերային մատրիցայի վրա, որը պեպտիդի մոլեկուլի համեմատ այնքան խոշոր է, որ միանշանակ որոշում է ամբողջական մոլեկուլի ֆիզիկաքիմիական հատկությունները: Դա լուծում է պեպտիդի լուծելիության, ինչպես նաև նպատակային և միջանկյալ արգասիքների

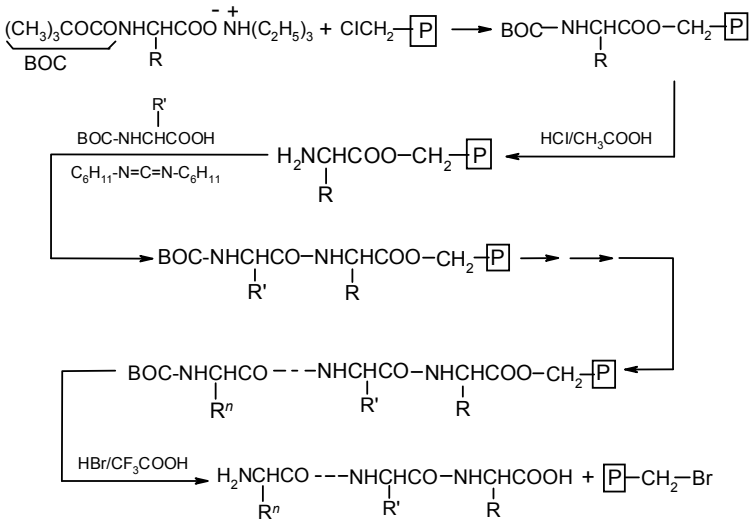
անջատման և մաքրման խնդիրները: Մասնավորապես, քանի որ բարձրամոլեկուլային պոլիմերը ջրում չի լուծվում, սովորական ֆիլտրմամբ այն անջատվում է ռեակցիոն միջավայրից, իսկ նրա հետ միասին նաև կովալենտային կապով նրան միացած սինթեզված պեպտիդային շղթան:

Պոլիմերային հենքի վրա պեպտիդային սինթեզը կարելի է իրականացնել երկու տարբերակով. 1. պոլիմերը ռեակցիայի մեջ է դրվում որպես ամինային բաղադրիչի կարբօքսիլային խմբի պաշտպանող խումբ, 2. պոլիմերը հանդես է գալիս որպես կարբօքսիլային խմբի ակտիվացնող խումբ, այսինքն՝ պեպտիդային սինթեզին պոլիմերը կարող է մասնակցել Y կամ X խմբերի դերում: Ավելի տարածված է առաջին տարբերակը, երբ պոլիմերը մասնակցում է պեպտիդային սինթեզին որպես ամինային բաղադրիչի կարբօքսիլային խմբի պաշտպանող խումբ (Y):

Որպես պոլիմերային հիմք՝ Մերիֆիլդը ընտրել է ստիրոլի և դիվինիլբենզոլի նախօրոք քլորմենթիլացված համապոլիմերը: Պոլիմերի քլորմենթիլային խմբի և ամինաթթվի N-*t*-բուօքսիկարբոնիլային ածանցյալի տրիէթիլամոնիումային աղի փոխազդեցության արդյունքում ամինաթթվի և պոլիմերի միջև առաջացնում է կովալենտ բարդ էսթերային կապ: Այնուհետև հեռացնում են *t*-բուօքսիկարբոնիլային պաշտպանող խումբը և առաջացած պոլիմերը օգտագործում են որպես ամինային բաղադրիչ պեպտիդային սինթեզի հաջորդ փուլում: Նման կարգով շարունակվում է պեպտիդի աստիճանական սինթեզը, մինչև անհրաժեշտ երկարության պեպտիդային շղթայի առաջացումը: Վերջին փուլում ճեղքում են պոլիմերի էսթերային կապը և անջատում են սինթեզված պեպտիդը (սխեմա 83):

Մեթոդի հիմնական առավելությունները համարվում են բարձր ելքերը և ավտոմատացման հնարավորությունը, ինչը բավականին կրճատում է սինթեզի ընդհանուր տևողությունը: Այդ մեթոդի պիտանելիությունը կենսաբանորեն ակտիվ պեպտիդների սինթեզի գործընթացներում կիրառելու համար ապացուցվել է *բրադիկինին* և նրա մմանակ *մեթիոնիլլիզիլբրադիկինին* սինթեզի ռեակցիաներում: Ամբողջ սինթեզը տևել է 8 օր՝ մինչև 65% քիմիական ելքով:

### Սխեմա 83

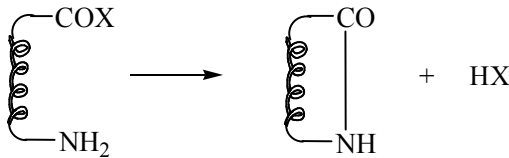


Մեթոդի հիման վրա ներկայումս մշակված է ավտոմատ պեպտիդային սինթեզի մեթոդ հատուկ պեպտիդասինթեզատոր սարքի կիրառմամբ: Դժվարություններն այստեղ կապված են այսպես կոչված «կեղծ» պեպտիդների առաջացման հետ, որոնց նախատեսված կառուցվածքից դուրս են մնացած, բացակայում են որոշ ամինաթթվային մնացորդներ, կամ հակառակը, պարունակվում են լրացուցիչ ամինաթթվային մնացորդներ: Փորձնական եղանակով պարզաբանված է, որ այս մեթոդի դեպքում նախատեսված ճիշտ առաջնային կառուցվածքից շեղման աստիճանը կարող է հասնել մինչև 10%: Մյուս ոչ ցանկալի երևույթը, որը նկատվում է այս մեթոդի դեպքում, պոլիմերի ուռեցումն է, ինչը որոշակի դժվարություններ է առաջացնում ֆիլտրման ժամանակ:

Մերիֆիլդը օգտագործել է ջրում և օրգանական լուծիչներում չլուծվող պինդ պոլիմեր: Ավելի ուշ ռուս գիտնականներն օգտագործել են ջրում չլուծվող, սակայն օրգանական լուծիչներում լավ լուծվող էմուլսիոն պոլիստիրոլ, որի կիրառման դեպքում բացառվում է պոլիմերային հենքի ուռեցումը, և բավականին նվազում է «կեղծ» պեպտիդների առաջացման հավանականությունը:

### 3.8. Ֆիկլիկ պեպտիդների սինթեզը

Ֆիկլիկ պեպտիդների սինթեզի ժամանակ նախ ստանում են ազատ ամինային խմբով և ակտիվացված կարբօքսիլային խմբով գծային պեպտիդային շղթան և այնուհետև իրականացնում են ներմոլեկուլային ցիկլում այնպիսի պայմաններում, որպեսզի բացառվի ակտիվացված բաղադրիչների գծային կոնդենսումը:

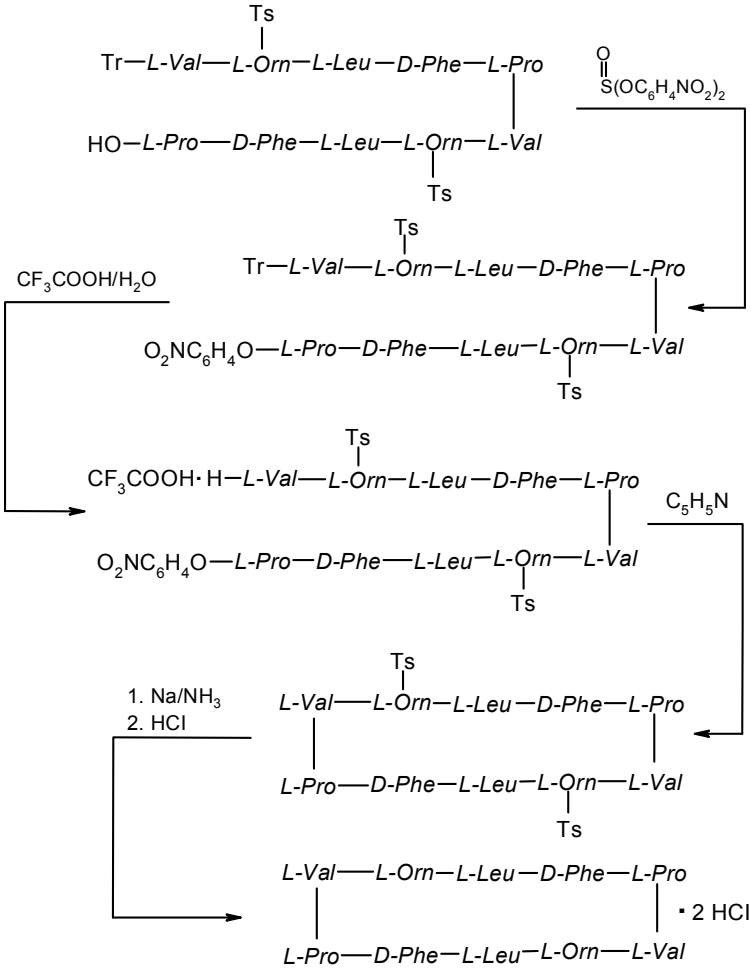


Սինթեզն իրականացվում է երեք փուլով: Առաջին փուլում կառուցում են գծային պեպտիդային շղթան հարմար N-պաշտպանող խմբով, այնուհետև ակտիվացնում են կարբօքսիլային խումբը և վերջում հեռացնում են N-պաշտպանող խումբը այնպես, որ բացառվի կարբօքսիլային խմբի դեզակտիվացումը: Որպեսզի պաշտպանող խմբի հեռացման ժամանակ բացառվի գծային պոլիկոնդենսումը, հեռացումն իրականացնում են կամ շատ նոսր լուծույթներում կամ էլ ժամանակավորապես շրջափակում են ազատված ամինային խումբը՝ նրան կապելով որևէ աղի տեսքով, օրինակ՝ հիդրոքլորիդի կամ հիդրոբրոմիդի տեսքով: Այդ աղերը հեշտությամբ անջատվում են բյուրեղական ձևով, օրինակ՝ օրգանական հիմքի ավելացմամբ (տրիէթիլամին, պիրիդին և այլն):

Ամինային խումբը ավելի հաճախ պաշտպանում են տրիտիլային (Tr) ածանցյալի տեսքով, որը հեշտությամբ հեռացվում է թույլ թթվային միջավայրում: Կարբօքսիլային խմբի ակտիվացման համար այն վերածվում է ազիդի կամ քլորանհիդրիդի, կամ նրա կոնդենսումը ամինային խմբի հետ իրականացվում է առանց լրացուցիչ ակտիվացման դիցիկլոհեքսիլկարբոդիմիդի ներկայությամբ: Սովորաբար ռեակցիաներն իրականացվում են մինչև  $10^{-3}$ - $10^{-4}$  մոլ/լ նոսրացված լուծույթներում:

Այս սկզբունքով սինթեզվել է Գրամիցիդին C հակաբիոտիկը, ինչի համար օգտագործվել է աստիճանական սինթեզի և ֆրագմենտների կոնդենսման մեթոդների համակցված կիրառմամբ սինթեզված գծային դեկապեպտիդը (սխեմա 84):

**Սխեմա 84**



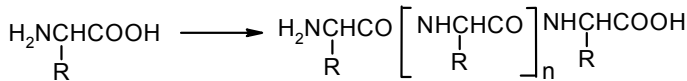
Գրամիցիդին C հիդրոքլորիդ

### 3.9. Պոլիպեպտիդների սինթեզ (պոլիկոնդենսում)

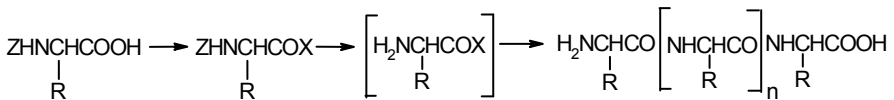
Պեպտիդների սինթեզի համար սովորաբար կիրառվում են աս-տիճանական սինթեզի և ֆրագմենտների կոնդենսման տարբերակ-ները: Սակայն խնդիրը բարդանում է բարձր պեպտիդների (մինչև 500 և ավելի ամինաթթու պարունակող) դեպքում: Մինույն ամի-նաթթվի մնացորդներից կազմված բարձրամոլեկուլային հոմոպեպ-տիդները կարելի է սինթեզել համապատասխան մոնոմերներից պո-լիկոնդենսման եղանակով:

Սկզբունքորեն պոլիկոնդենսումը կարելի է իրականացնել 3 տարբերակներով:

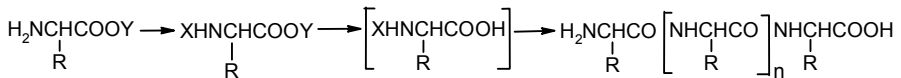
1. Պոլիկոնդենսում առանց ֆունկցիոնալ խմբերի նախնական պաշտպանման և ակտիվացման.



2. Պոլիկոնդենսում կարբօքսիլային խմբի ակտիվացմամբ (ամինային խումբը նախօրոք պաշտպանում են և պաշտպանող խումբը հեռացնում պոլիկոնդենսման պահին).



3. Պոլիկոնդենսում ամինային խմբի ակտիվացմամբ (ակտիվա-ցումը իրականացվում է նախօրոք կարբօքսիլային խմբի պաշտպա-նումից հետո, որը հեռացվում է պոլիկոնդենսման պահին).



Պոլիկոնդենսումը չակտիվացված ամինաթթվային մնացորդնե-րով կիրառվում է բավականին հազվադյուտ. օրինակ՝ այս տարբե-

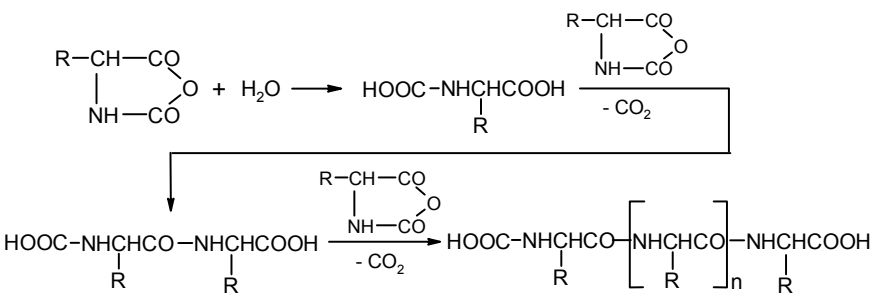
րակով իրականացվել է գլիցինի պոլիկոնդենսումը ջրային ամոնիակում 140°C ջերմաստիճանում ավտոկլավում: Արդյունքում ստացվել է n=6, 12 և 18 պոլիմերման աստիճանով գծային հոմոպոլիպեպտիդ:

Ավելի հաճախ կիրառվում է ակտիվացված կարբօքսիլային խմբով ամինաթթուների պոլիկոնդենսումը: Դրա համար հիմնականում օգտագործում են ամինաթթուների էսթերներ: Օրինակ՝ ամինաթթուների թիոֆենիլային էսթերները ենթարկել են պոլիկոնդենսման 18-20°C ջերմաստիճանում, ինչի արդյունքում անջատվել է թիոֆենոլ, և առաջացել է պոլիպեպտիդթիոֆենիլային էսթերի տեսքով մինչև n=50-60 պոլիմերման աստիճանով:

Բավականին հաջող է ընթանում ակտիվացված ամինային խմբով ամինաթթուների պոլիկոնդենսումը, օրինակ՝ ֆոսֆիտամիդային ակտիվացմամբ: Այս մեթոդի դեպքում պոլիկոնդենսումն ընթանում է ածխաթթու գազի անջատմամբ, ինչի արդյունքում հաջողվել է ստանալ մինչև մի քանի տասնյակ ամինաթթվային մնացորդներով պոլիպեպտիդ:

Տարբեր մոլեկուլային զանգվածով բազմաթիվ պոլիպեպտիդների ստացման գործընթացներում առավել գործնական կիրառություն են ստացել ամինաթթուների N-կարբօքսանհիդրիդները (սխեմա 85): Որպես կատալիզատոր՝ պոլիկոնդենսման ռեակցիաներում կարող են ծառայել ջուրը, ուժեղ հիմքերը, առաջնային կամ երկրորդային ամինները, չորրորդային ամոնիումային աղերը և այլն:

**Սխեմա 85**



N-կարբօքսանհիդրիդային մեթոդի կիրառմամբ սինթեզվել են պոլիլիզին, պոլիթիրոզին, պոլի-S-ալկիլցիստեին, պոլիգլուտամինաթթու, պոլիսերին և այլ հոմոպոլիպեպտիդներ, ինչպես նաև որոշ հետերոպոլիպեպտիդներ, օրինակ՝ գլիցինի համապոլիմերը թիրոզինի հետ, ֆենիլալանինի համապոլիմերը ալանինի հետ, գլուտամինաթթվի համապոլիմերը ցիստեինի և սերինի հետ, լիզինի համապոլիմերը թիրոզինի հետ և այլն:

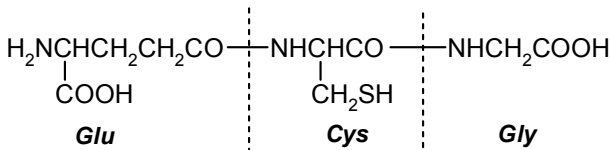


#### Գլուխ 4. Հայտնի կառուցվածքով որոշ պեպտիդներ

Պեպտիդները բաժանվում են երկու դասի՝ **հոմոմեր** և **հետերոմեր**: Հոմոմեր են կոչվում այն պեպտիդները, որոնք կազմված են բացառապես ամինաթթուներից, իսկ հետերոմերպեպտիդները, բացի ամինաթթուներից, պարունակում են նաև ոչ ամինաթթվային բնույթի մնացորդներ: Երկու դասի պեպտիդներն էլ կարող են լինել գծային կամ ցիկլիկ կառուցվածքի: Ցիկլիկ պեպտիդները հաճախ են հանդիպում բնության մեջ: Դրանց շարքին են դասվում ուժեղ բակտերիալ թույլները, հորմոնները և հակաբիոտիկները:

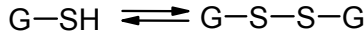
Կախված պեպտիդային շղթա առաջացրած կապերի բնույթից՝ ցիկլիկ պեպտիդները նույնպես ստորաբաժանվում են երկու դասի՝ **հոմոդետային** և **հետերոդետային**: Հոմոդետային պեպտիդները ցիկլում պարունակում են միայն պեպտիդային կապեր, իսկ հետերոդետային պեպտիդները, բացի պեպտիդային կապերից, պարունակում են նաև դիսուլֆիդային, բարդ եթերային և այլ ոչ պեպտիդային բնույթի կապեր:

**Գլուտաթիոն**: Դա լավ ուսումնասիրված տրիպեպտիդ է, որը պարունակվում է գրեթե բոլոր օրգանիզմների բջջային հեղուկում: Գլուտաթիոնի մոլեկուլում պարունակվում է գլուտամինաթթվի  $\gamma$ -կարբօքսիլային և ցիստեինի ամինային խմբերի հաշվին առաջացած  $\gamma$ -պեպտիդային կապ: Մոլեկուլի C-ծայրային ամինաթթվային մնացորդը գլիցինն է:



Գլուտաթիոնը, որը պայմանականորեն նշանակվում է **G-SH**, պարունակում է ազատ սուլֆիդրիլային խումբ, որն ընդունակ է օքսիդանալու և տրանսֆորմացվելու դիսուլֆիդային կամրջակ պարունակող դիմեր միացության՝ **G-S-S-G**: Մասնավորապես դրանով են

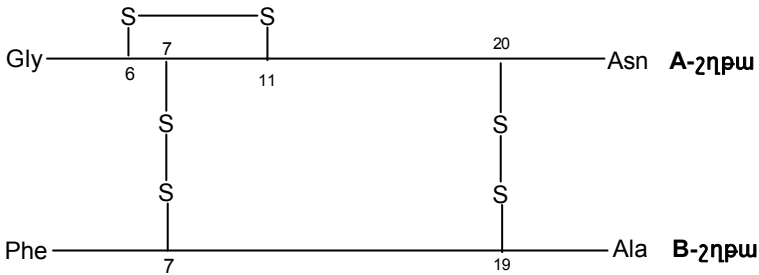
պայմանավորված գլուտաթիոնի կենսաբանական հատկությունները՝ որպես մեթիլգլիօքսիլազ ֆերմենտի կոֆերմենտ:



Գլուտաթիոնի կառուցվածքը հաստատվել է նրա մոլեկուլի քիմիական սինթեզով:

**Ինսուլին:** Դա ենթաստամոքսային գեղձի համեմատաբար լավ ուսումնասիրված հորմոնային պատրաստուկն է: Ինսուլինի հիմնական կենսաբանական հատկությունը արյան մեջ շաքարի քանակության կարգավորումն է: Ընդունված է, որ ինսուլինն օժանդակ դեր է կատարում արյունից արյան անոթների պատերի միջով դեպի հյուսվածքների մկանային համակարգ գլյուկոզի տեղափոխման պրոցեսում, որտեղ նա ծախսվում է էներգիական նպատակով, ինչպես նաև դեպի լյարդի բջիջներ գլյուկոզի տեղափոխման պրոցեսում, որտեղ գլյուկոզից սինթեզվում է պահեստային պոլիսախարիդ գլիկոգենը: Ենթադրվում է, որ ինսուլինը նպաստում է արյունից գլյուկոզի հեռացմանը շնորհիվ բջջային թաղանթի մակերևույթին նրա յուրահատուկ կողմնորոշմանը, ինչը հեշտացնում է գլյուկոզի թափանցումը թաղանթի միջով: Ինսուլինի անբավարարության դեպքում գլյուկոզի կոնցենտրացիան արյան մեջ սկսում է բարձրանալ: Հաստատված է նաև, որ ինսուլինին է պատկանում նաև օրգանիզմում գլյուկոզի կենսասինթեզի պրոցեսի կարգավորման կարևոր կենսաբանական դերը:

Ինսուլինի կառուցվածքը հաստատվել է Սենդերի կողմից: Այն ցիկլիկ հետերոդետային պեպտիդ է՝ կազմված երկու շղթաներից (A և B), որոնք կապված են իրար հետ երկու դիսուլֆիդային կամրջակներով: Բացի դրանից՝ շղթաներից մեկում առկա է ներքին դիսուլֆիդային կամրջակ: Ինսուլինի կառուցվածքը վերջնականապես հաստատվել է ռենտգենկառուցվածքային անալիզի մեթոդով: Մխեմատիկորեն ինսուլինի կառուցվածքը կարելի է ներկայացնել հետևյալ կերպ.



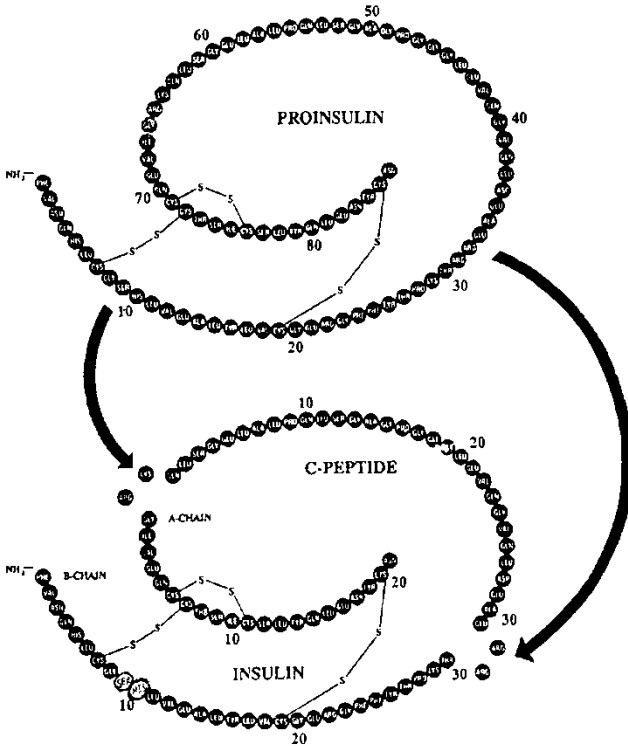
A-շղթան պարունակում է 21, իսկ B-շղթան՝ 31 ամինաթթվային մնացորդ:

Ինսուլինը սինթեզվում է բջջում 86 ամինաթթուներից կազմված պոլիպեպտիդային նախանյութի՝ պրոինսուլինի տեսքով: Պրոինսուլինը իր հերթին սինթեզվում է  $\beta$ -բջջիջների հատիկավոր էնդոպլազմային շղթայի պոլիռիբոսոմներում ավելի խոշոր պոլիպեպտիդային նախանյութից՝ պրեպրոինսուլինից: Պրեպրոինսուլինի B-շղթան  $\text{NH}_2$  ծայրից կրճատվում է մինչև 23 ամինաթթվային մնացորդով՝ առաջացնելով պրոինսուլին: Այնուհետև պրոինսուլինն անցնում է Գոլջիի սպարատ և մտնում պահեստային հատիկներ, որտեղ և տեղի է ունենում պրոինսուլինի տրանսֆորմացումը ինսուլինի: Պրոինսուլինի պրոտեոլիտիկ ճեղքումը ինսուլինի ավարտվում է 31 ու 32 դիրքերում Arg-Arg և 64 ու 65 դիրքերում Arg-Lys կապերի խզմամբ՝ էնդոպեպտիդազ ֆերմենտների ազդեցությամբ, ինչն իր ազդեցության մեխանիզմով և սպեցիֆիկությամբ նմանվում է տրիպսինին: Նշված պրոտեոլիտիկ ֆերմենտները ազդեցությունը պրոինսուլինի վրա բերում է էկվիմոլային քանակությամբ ինսուլինի և կապված C-պեպտիդի առաջացմանը: Սխեմա 86-ում ներկայացված է պրոինսուլինի տրանսֆորմացումը ինսուլինի:

Ինսուլինի կառուցվածքի պարզաբանման համար նախ բոլոր դիսուլֆիդային կամրջակները ճեղքվել են մրջնաթթվով, քանի որ այն չի պարունակում Met և Try, որոնք մրջնաթթվի ազդեցությամբ կարող են ենթարկվել մասնակի քայքայման: Դիսուլֆիդային կամրջակների քանդման արդյունքում անջատվել են առանձին A և B շղթաները, որոնք այնուհետև ենթարկվել են մասնակի պրոտեոլիզի՝ ավելի

փոքր ֆրագմենտների առաջացմամբ: Առանձին ֆրագմենտների ամինաթթվային հաջորդականությունը որոշվել է դինիտրոֆենիլային մեթոդով (տե՛ս գլուխ 5.2.2.1.):

**Սխեմա 86**



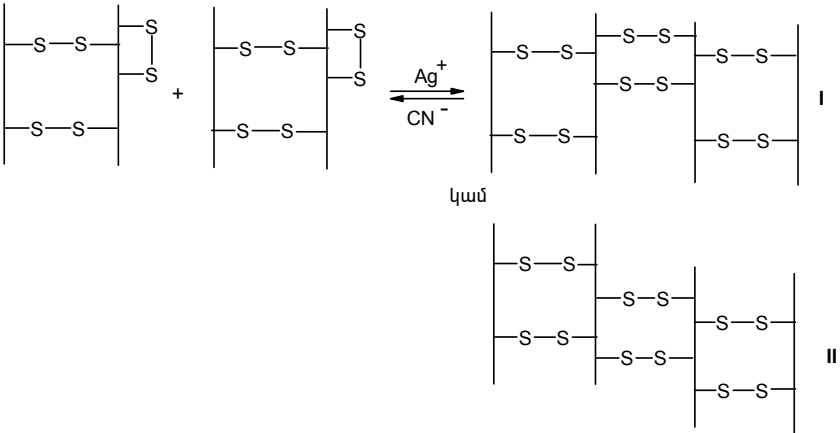
Ինսուլինի մոլեկուլի թթվային հիդրոլիզի արդյունքում անջատվել է 6 մոլ NH<sub>3</sub>, ինչը վկայում է նրա կառուցվածքում 6 ամիդային ամինաթթուների (Asn, Gln) առկայության մասին: Բացի դրանից՝ թթվային հիդրոլիզատներում ամինասպիրտների քանակության որոշմամբ բացահայտվել է, որ ինսուլինի մոլեկուլը պարունակում է 4 գլուտամինաթթվի (Glu) մնացորդ և չի պարունակում ասպարազինաթթու (Asp): Հետագայում որոշվել է, որ ինսուլինի կառուցվածքում գտնվող ամիդային ամինաթթուներից 3-ը ասպարազին են (Asn), իսկ

3-ը՝ գլուտամին (Gln), որոնք բաշխված են A շղթայի 5, 15, 18 և 21 և B շղթայի 3 և 4 դիրքերում: Ինսուլինի կառուցվածքում դիսուլֆիդային կապերի դիրքը որոշվել է ֆերմենտային հիդրոլիզի եղանակով:

Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ ինսուլինի բարձր կենսաբանական ակտիվությունը պայմանավորված է նրա մոլեկուլի կառուցվածքային ամբողջականությամբ: Ենթադրվում է, որ ռեցեպտորի հետ կապվող հատվածներն ինսուլինի կառուցվածքում համարվում են A-1 Gly, A-4 Gln, A-5 Gln, A-19 Tyr, A-21 Asn, B-12 Val, B-16 Tyr, B-24 Phe և B-26 Tyr մնացորդները: Պարզվել է, որ ինսուլինի եռաչափ բյուրեղական կառուցվածքը պահպանվում է նաև լուծույթում և ռեցեպտորի հետ փոխազդեցության ժամանակ:

Հայտնաբերվել է նաև, որ ինսուլինն ընդունակ է փոխազդելու  $Zn^{2+}$  իոնների հետ՝ հավանաբար B շղթայի 5 և 10 դիրքերում գտնվող His ամինաթթվի իմիդազոլային օղակի հաշվին: Բացի դրանից՝  $Ag^+$  իոնի ազդեցությամբ տեղի է ունենում ինսուլինի մոլեկուլի դիմերում, ինչը դարձել է  $CN^-$  իոնի (ցիանիդների) ներկայությամբ (սխեմա 87): Ընդ որում՝ դիմերը պահպանում է ինսուլին հորմոնին բնորոշ ֆիզիոլոգիական հատկությունները:

**Սխեմա 87**

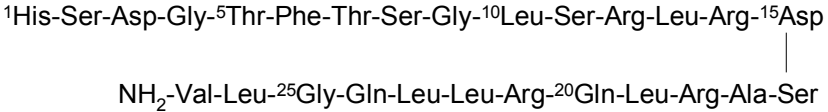






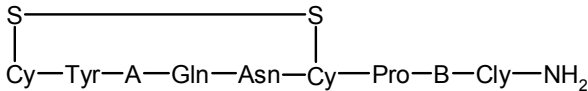
ազատ կարբօքսիլային ձևով փոխարինելու դեպքում հորմոնն անբողջությամբ կորցնում է իր կենսաբանական ակտիվությունը:

**Սեկրետին:** Սեկրետինը 27 ամինաթթուներից կազմված պոլիպեպտիդ է, որը կառուցվածքով շատ նման է գլյուկագոնին:



Սեկրետինի հիմնական ազդեցությունը ուղղված է ենթաստամոքսային գեղձի աջինար բջիջների վրա, որոնք կարգավորում են ջրի և բիկարբոնատի անջատման պրոցեսները: Սեկրետինը նպաստում է նաև պանկրեատիկ ֆերմենտների անջատմանը, ինհիբացնում է գաստրինի, հետևաբար նաև՝ ստամոքսահյուսքի անջատման պրոցեսները, ինչպես նաև երկարաձգում է ստամոքսի դատարկման ժամանակը ստամոքսաէլքի հատվածի կրճատման անկման հետևանքով:

**Օքսիտոցին և վազոպրեսին:** Հիպոֆիզի հետին բլթի կողմից արտազատվում են երկու հորմոնային պեպտիդներ՝ օքսիտոցինը և վազոպրեսինը, որոնք օկտապեպտիդներ են և առաջին անգամ անջատվել են Դյու Վինյեի կողմից: Դրանք համարվում են առաջին բնական պեպտիդային միացությունները, որոնց կառուցվածքը հաստատվել է հանդիպակաց քիմիական սինթեզի եղանակով: Օքսիտոցինը և վազոպրեսինը համարվում են ցիկլիկ հետերոդետային պեպտիդներ հետևյալ ընդհանուր բանաձևով.



- Օքսիտոցին՝ A = Ile, B = Leu
- Ցուլի Arg-վազոպրեսին՝ A = Phe, B = Arg
- Խոզի Lys-վազոպրեսին՝ A = Phe, B = Lys



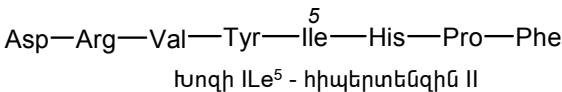
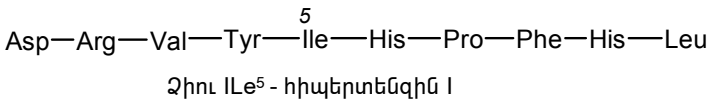
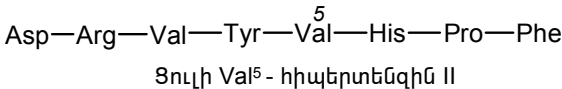
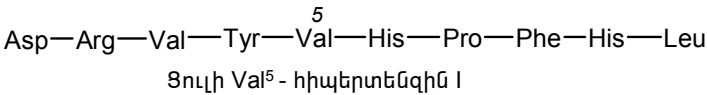
Գրանք պարունակում են վեց միևնույն ամինաթթուները և տարբերվում են իրարից 3-րդ և 7-րդ դիրքերի ամինաթթվային մնացորդներով: Մարդու և կենդանիների մոտ օքսիտոցինը ունի միևնույն կառուցվածքը և ամինաթթվային կազմը, իսկ վազոպրեսինը տարբեր կենդանիների օրգանիզմում հայտնաբերվել է տարբեր կառուցվածքով: Մասնավորապես խոզի վազոպրեսինի 7-րդ դիրքում պարունակվում է լիզին, իսկ ցուլի վազոպրեսինի պեպտիդային շղթայի այդ նույն դիրքում՝ արգինին:

Նշված հորմոնները բնութագրվում են բարձր կենսաբանական ակտիվությամբ: Օքսիտոցինը ցուցաբերում է խթանիչ ազդեցություն արգանդի հարթ մկանների և կաթնագեղձերի վրա հետծննդյան փուլում: Այն կիրառվում է որպես այլընտրանքային պատրաստուկ ծննդաբերության խթանման համար, հատկապես հիպոտոնիկ ինտրանատալային իներցիայի դեպքում, ինչպես նաև օգտագործվում է արյունահոսության կանխման և արգանդի հիպոտոնիկ (hypotonicity) կարգավորման համար: Որոշ դեպքերում օքսիտոցինը կիրառվում է նաև հետծննդյան շրջանում կաթի արտադրության կարգավորման համար՝ կաթնագեղձերի միոէպիթելերի կրճատման միջոցով: Օքսիտոցինը հիմնականում կիրառվում է պարենտերալ ներերակային և ներմկանային սնուցման ճանապարհով: Վազոպրեսինը հայտնի է որպես հակադիուրետային հորմոնային պատրաստուկ, որը կարող է ազդել կաթնասունների նեֆրոնի ծայրային հատվածում, ջրի թափանցելիության փոփոխության փուլերի վրա, ինչը կարող է բերել կամ ջրի պահպանմանը կամ էլ անջատմանը: Պարզվել է, որ վազոպրեսինը՝ որպես հակադիուրետիկ պատրաստուկ, ուժեղացնում է ցիկլիկ ադենոզինմոնոֆոսֆատի արտադրությունը որոշ հյուսվածքներում, ինչն իր հերթին ազդում է ջրի թափանցելիության վրա, ազդում է արյան անոթների հարթ մկանների վրա՝ առաջացնելով այսպես կոչված պրեսորային էֆեկտ:

Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ պեպտիդային շղթայի դիսուլֆիդային կամրջակի ճեղքումը բերում է հորմոնի ակտիվության լրիվ անկմանը: Նշված պեպտիդները ստացվել են նաև քիմիական սինթեզի եղանակով:

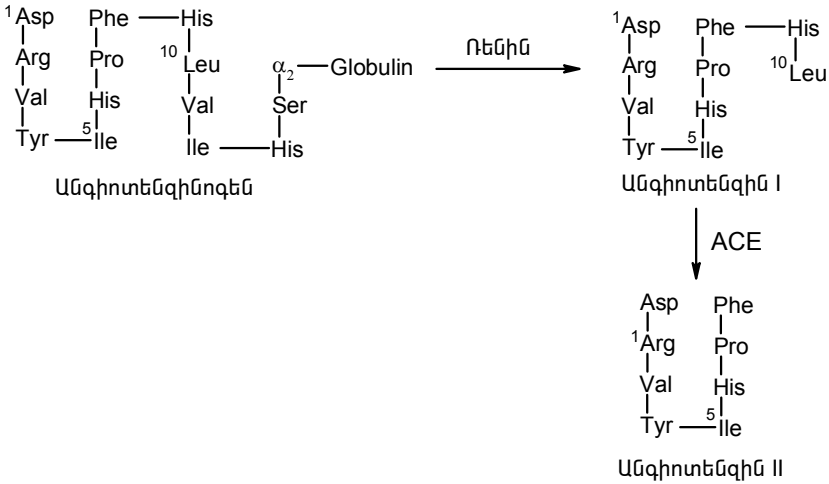
**Հիպերտենզիոններ (անգիոպենզիոններ):** Դեռևս IX դարի վերջում հայտնի էր, որ երիկամները պարունակում են նյութ, որը ներերակային ներարկման ժամանակ բարձրացնում է արյան ճնշումը: Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ այդ երևույթը հարուցում է ռենին կոչվող ֆերմենտը, որը փոխազդում է արյան գլոբուլինային ֆրակցիայում պարունակվող հիպերտենզինոգեն ոչ ակտիվ սպիտակուցի հետ: Արդյունքում հիպերտենզինոգեն ոչ ակտիվ սպիտակուցից անջատվում է հիպերտենզին ակտիվ պեպտիդը, որը նույնիսկ չնչին կոնցենտրացիայի դեպքում բարձրացնում է արյան ճնշումը:

Հետազոտվել և պարզաբանվել է խոշոր եղջերավոր անասունների, ձիու և խոզի արյունից անջատված հիպերտենզինների կառուցվածքը: Պարզվել է, որ ցուլի արյունը պարունակում է դեկապեպտիդ և օկտապեպտիդ, որոնց պեպտիդային շղթայի 5-րդ դիրքում պարունակվում են վալին՝ Val<sup>5</sup>-հիպերտենզին I (դեկապեպտիդ) և Val<sup>5</sup>-հիպերտենզին II (օկտապեպտիդ): Չիու արյան պեպտիդային հորմոնը շղթայի 5-րդ դիրքում վալինի փոխարեն պարունակում է իզոլեյցին՝ Ile<sup>5</sup>-հիպերտենզին I (դեկապեպտիդ), իսկ խոզի արյունից անջատված Ile<sup>5</sup>-հիպերտենզին II հորմոնը համարվում է ձիու նույն հիպերտենզինի օկտապեպտիդը (առանց C-ծայրային երկու ամինաթթուների):



Հիպերտենզիոն I դեկապեպտիդը օժտված է համեմատաբար թույլ դեղաբանական ազդեցությամբ: Այն փոխանակվում է առավել ակտիվ հիպերտենզիոն II օկտապեպտիդի անգիոտենզին փոխարկող ֆերմենտների (ACE) կատալիտիկ ազդեցությամբ (սխեմա 88):

### Սխեմա 88



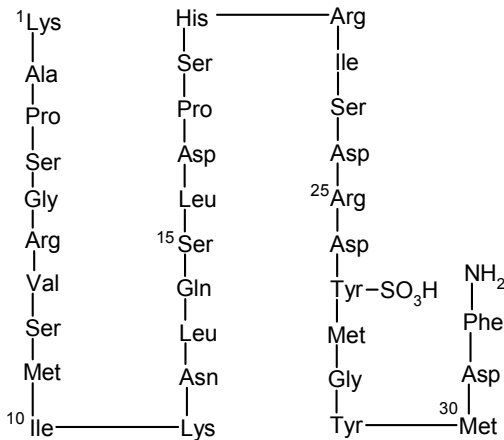
Բարձր ակտիվությամբ օժտված հիպերտենզին II օկտապեպտիդն իր հերթին ամինապեպտիդազ դասի ֆերմենտների ազդեցությամբ մասնակիորեն ճեղքվում է՝ առաջացնելով հիպերտենզին III պենտապեպտիդը, պահպանելով հորմոնի հիմնական դեղաբանական ակտիվությունը: Հիպերտենզին III պենտապեպտիդի հետագա դեգրադացիան բերում է դեղաբանորեն ոչ ակտիվ պեպտիդային ֆրագմենտների առաջացման:

Այսպիսով՝ առավել ակտիվ և լավ ուսումնասիրված հիպերտենզինը համարվում է հիպերտենզին II-ը, որը օժտված է երկու հիմնական ազդեցությամբ՝ անոթների նեղացման և մակերիկամի կեղևի ալդոստերոնի սինթեզի ու սեկրեցիայի խթանման ազդեցությամբ: Այդ երկու ազդեցություններն էլ բերում են հիպերտոնիայի: Հետևաբար, միացությունները, որոնք ընդունակ են ճնշելու անգիոտենզին-կոն-

վերտացնող ֆերմենտին, կիրառություն են գտել բժշկության մեջ որպես հակահիպերտոնիկ միջոցներ (օրինակ՝ կապտոպրիլը):

Այդ բոլոր հորմոնները սինթեզվել են, և սինթետիկ մմանակների վրա հետազոտվել է կենսաբանական ակտիվության կախվածությունը հորմոնի կառուցվածքից:

**Խոլեցիստոկինին-պանկրեոզին:** Սկզբնական շրջանում խոլեցիստոկենինը և պանկրեոզինը համարվել են երկու տարբեր հորմոններ: Խոլեցիստոկենինը համարվել է լեղապարկի կրճատման համար պատասխանատու հորմոնը, իսկ պանկրեոզինը դիտարկվել է որպես ենթաստամոքսային գեղձի ֆերմենտի սեկրեցիայի խթանիչ: Ներկայումս պարզված է, որ այդ երկու ազդեցություններն էլ հարուցվում են միևնույն 33 ամինաթթվային մնացորդ պարունակող պեպտիդով, որը կոչվում է խոլեցիստոկինին-պանկրեոզին (CCK-PZ):



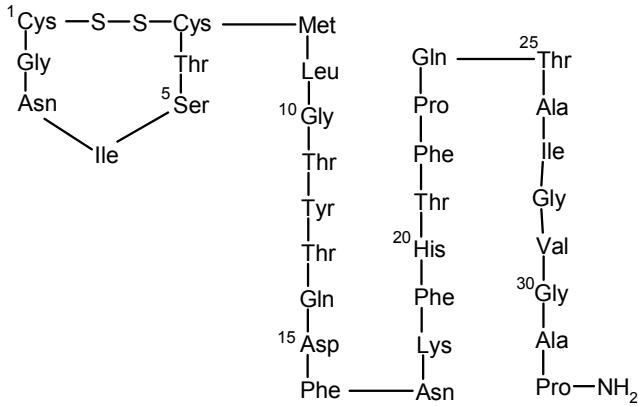
խոլեցիստոկինին

CCK-PZ-ն անջատվում է արյան մեջ՝ ի պատասխան տասներկումատնյա ադիբում սմնդի առկայության (հատկապես երկար շղթայով ճարպաթթուների). ընդ որում՝ նրա պեպտիդային շղթայի C-ծայրային հինգ ամինաթթվային մնացորդները նույնական են

գասարինում գտնվող մնացորդներին, իսկ C-ծայրային օկտապեպտիդը լրիվ պահպանում է մայր հորմոնի ակտիվությունը:

Օկտապեպտիդը գտնվում է աղիներում և կենտրոնական նյարդային համակարգում: C-ծայրային օկտապեպտիդը բարձր կոնցենտրացիաներով առկա է հատկապես կենտրոնական նյարդային համակարգում: Հետազոտվել են այդ պատրաստուկի հնարավոր բարձր ակտիվությունը, բուժական ազդեցությունը Պարկինսոնի հիվանդության և շիզոֆրենիայի բուժման գործընթացներում:

**Կալցիտոնին:** Կալցիտոնինը կամ տիրոկալցիտոնինը համարվում է 32 ամինաթթվային մնացորդներից կազմված պոլիպեպտիդային հորմոն, որն արտադրվում է վահանաձև գեղձի պարաֆոլիկուլյար բջիջների կողմից՝ ի պատասխան հիպոկալցիեմիայի: Պեպտիդի բոլոր 32 ամինաթթվային մնացորդներն էլ անհրաժեշտ են ակտիվության արտահայտման համար, քանի որ ավելի փոքր ֆրագմենտները լրիվությամբ ինակտիվ են:



Կալցիտոնին

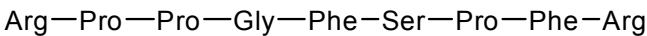
Տարբեր աղբյուրներից անջատված կալցիտոնինների կառուցվածքում ընդհանուրը համարվում են C-ծայրային պրոլինամիդի մնացորդը, 1 և 7 մնացորդների միջև դիսուլֆիդային կապը (NH<sub>2</sub> ծայրից հաշված) և 32 ամինաթթվային շղթայի երկարությունը: Կալցի-

տոնիները ինհիբացնում է ոսկորներից կալցիումի կլանումը, ինչն առաջացնում է հիպոկալցեմիա՝ զուգահեռաբար փոփոխելով շիճուկում ֆոսֆատների պարունակությունը: Սովորաբար կալցիտոնինը վերացնում է պարաթիրոիդային հորմոնի օստեոլեաիկ էֆեկտը:

Կալցիտոնինի պոտենցիալ բուժական կիրառությունն ուղղված է հիպերպարաթիրեոզի, օստեոպորոզի և այլ ոսկրային խանգարումների, չարորակ գոյացումների և իդիոպատիկ հիպերկալցեմիայի բուժմանը:

**Պլազմակլինիններ:** Բրադիկլինինը և կալիդինը համարվում են պոտենցիալ անոթալայնացնող և հիպերտենզիվ պատրաստուկներ, որոնք ունեն տարբեր պեպտիդային կառուցվածքներ: Բրադիկլինինը դասվում է հայտնի ամենաուժեղ անոթալայնացնող միջոցների շարքին: Նրա 0,05-0,5 մկգր/կգ քանակությունը ներերակային ներարկման դեպքում գրեթե բոլոր կաթնասունների մոտ բերում է արյան ճնշման կտրուկ իջեցման:

Բրադիկլինինը նոնապեպտիդ է, իսկ կալիդինը՝ դեկապեպտիդ: Կալիդինն այլ կերպ կոչվում է լիզինիբրադիկլինին, իսկ դա նշանակում է բրադիկլինինի NH<sub>2</sub> ծայրում լրացուցիչ լիզինի մնացորդ: Բրադիկլինինի կառուցվածքը վերջնականապես հաստատվել է 1960 թ.-ին:



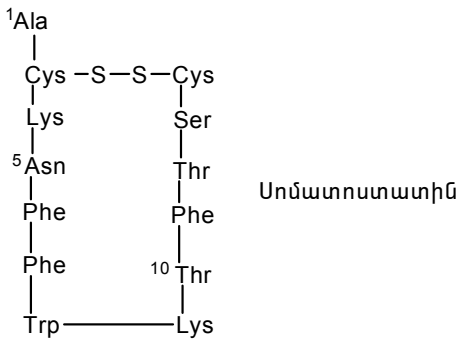
Բրադիկլինին

Այդ երկու միացություններն էլ անջատվել են կինինոզենի (արյան գլոբուլինի) հիդրոլիզից՝ տրիպսինի, պլազմինի կամ օձի թույնի որոշ պրոտեազների ազդեցությամբ: Բրադիկլինինը հայտնաբերված է նաև արյան պլազմայի գլոբուլինային ֆրակցիայում, ինչպես նաև ենթաստամոքսային գեղձում և ոսկորներում ոչ ակտիվ սպիտակուց բրադիկլինինոզենի տեսքով, որը տրիպսինի ազդեցությամբ ենթարկվում է մասնակի պրոտեոլիզի և վերածվում է ակտիվ բրադիկլինին պեպտիդի: Վերջինս մասնակցում է ցավի հաղորդմանը և ցուցաբերում է անոթների լայնացնող ազդեցություն: Բրադիկլինինի անջատումը մարդու կամ ցուլի արյան պլազմայից իրականացվել է տրիպ-

սինի կամ օձի թույնի միջոցով գլոբուլինի ֆերմենտային ճեղքման ճանապարհով: Սինթեզվել և հետագոտվել են բրադիկինինի մի շարք սինթետիկ նմանակներ:

**Սոմատոստատին:** Սոմատոստատինը հայտնաբերվել է հիպոթալամուսում: Ներկայումս հաստատված է, որ այն արտադրվում է ենթաստամոքսային գեղձի  $\beta$ -բջջիցներում և օրգանիզմի այլ հատվածներում: Սոմատոստատինը 14 ամինաթթվային մնացորդներից կազմված օլիգոպեպտիդ է:

Նրա հիմնական ազդեցությունը համարվում է հիպոֆիզից աճի հորմոնի անջատման արգելակումը: Սոմատոստատինը ճնշում է նաև ինսուլինի և գլյուկագոնի անջատումը, իջեցնում է ցիկլիկ ադենոզինմոնոֆոսֆատի (ԱՄՖ) մակարդակը և ադենիլատցիկլազ ֆերմենտի ակտիվությունը: Հայտնաբերված է նաև, որ սոմատոստատինը արգելակում է  $Ca^{2+}$  իոնների մուտքը հիպոֆիզի բջջիցներ և ճնշում է գլյուկոզով հարուցված ենթաստամոքսային ինսուլինի սեկրեցիան՝ համապատասխանաբար ակտիվացնելով և դեգակտիվացնելով  $K^+$  և  $Ca^{2+}$  իոնների թափանցելիությունը:

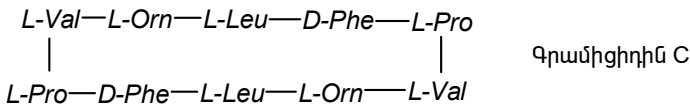


Վերջերս սինթեզվել է սոմատոստատինի ազդեցությունը նմանակող նոր հզոր պեպտիդ սանդոստատինը, որը թույլատրված է բժշկության մեջ կիրառելու համար՝ որպես դեղամիջոց էնդոկրինային քաղցկեղի հազվագյուտ տեսակների, մասնավորապես չարորակ կարցենոմային և վազոակտիվ ինտեստինալ սեկրետորային ուռուցքների բուժման համար:

**Պեպտիդային հակաբիոտիկներ:** Վերջին ժամանակներս բուռն հետազոտվում են ցիկլիկ պեպտիդները, որոնք համարվում են միկրոօրգանիզմների և սնկերի գոյատևման արգասիքներ: Դրանք գրեթե բոլորը թունավոր են բարձրագույն օրգանիզմների և բակտերիաների համար: Դրանց կայունությունը նորմալ բջիջներին ճեղքող ֆերմենտների հանդեպ բացատրվում է ոչ միայն ցիկլիկ կառուցվածքով, այլ նաև նրանց կառուցվածքի մեջ օրգանզիմի ֆերմենտային համակարգի համար ոչ սովորական *D*-ամինաթթուների և ոչ սպիտակուցային ամինաթթուների պարունակությամբ:

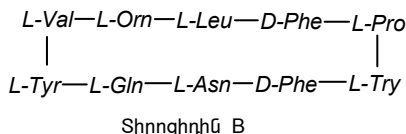
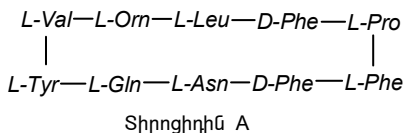
1939 թ.-ին *Bacillus brevis* օրգանիզմներից անջատվել է հակաբակտերիալ ակտիվությամբ օժտված նյութ, որն անվանվել է Տիրոտրիցին: Հետագայում Կրեյզը ցույց է տվել, որ այդ հակաբիոտիկը հոմոգեն չէ, և այն բաժանել է չեզոք և հիմնային բնույթի երկու ֆրակցիաների: Սակայն պարզվել է, որ այդ ֆրակցիաները նույնպես հոմոգեն չեն:

Առաջին անհատական մաքուր պեպտիդային կառուցվածքի հակաբիոտիկը անջատվել է 1942 թ.-ին Գաուզեի կողմից, և այն անվանվել է Գրամիցիդին C: Ավելի ուշ անջատվել են Գրամիցիդին J<sub>1</sub> և Գրամիցիդին J<sub>2</sub>, որոնք այլ կերպ կոչվում են ճապոնական գրամիցիդիններ: Դրանց կառուցվածքը մանրամասն ուսումնասիրվել և հաստատվել է քիմիական սինթեզի եղանակով:



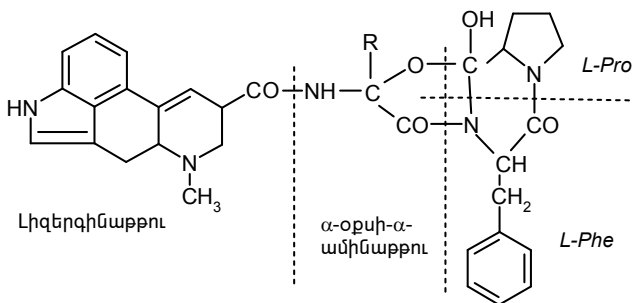
Տիրոտրիցինի հիմնական ֆրակցիայից անջատվել են երկու դեկապեպտիդներ՝ Տիրոցիդին A և Տիրոցիդին B: Հայտնի է, որ տիրոցիդինների կառուցվածքային տարբերությունը մեծ չէ, դրանք տարբերվում են ընդհամենը մեկ ամինաթթվային մնացորդով: Պեպտիդային շղթայի նույն դիրքում Տիրոցիդին A-ի դեպքում *L*-ֆենիլալանին է, իսկ Տիրոցիդին B-ի կառուցվածքում՝ *L*-տրիպտոֆան: Բացի դրանից՝ կառուցվածքով և ամինաթթվային կազմով իրար մոտ են նաև տիրոցիդինները և գրամիցիդինները:





Ավելի ուշ իրականացվել է Տիրոցիդին A պեպտիդային հակաբիոտիկի կենսասինթեզը: Ներկայումս ցիկլիկ պեպտիդային հակաբիոտիկները գտնվում են հետազոտողների ուշադրության կենտրոնում, ուսումնասիրվում են նրանց ազդեցության մեխանիզմները, կառուցվածքի և կենսաբանական ակտիվության կապը:

**Ալկալոիդներ (երգոսիկալոիդներ):** Ալկալոիդները հայտնի են վաղուց և մանրամասն ուսումնասիրված են: Հայտնի է, որ երգոտամինը և երգոքրիստինը պարունակում են եռպեպտիդային ցիկլ՝ ոչ սովորական  $\alpha$ -ամինո- $\alpha$ -օքսիթթվի պարունակությամբ, որի շնորհիվ լրացուցիչ կապ է առաջանում պրոլինի COOH և ֆենիլալանինի NH<sub>2</sub> խմբերի միջև:

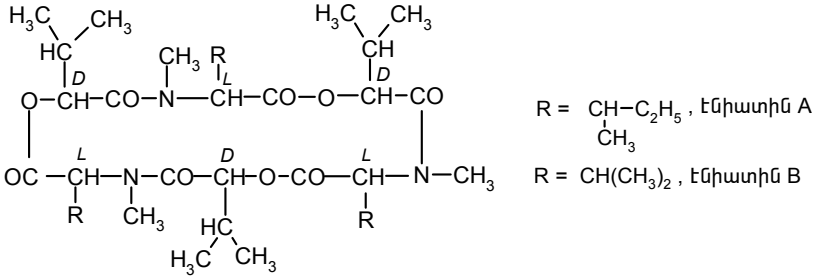


R = CH<sub>3</sub>՝ երգոտամին, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>՝ երգոքրիստին

Երգոտամինի ամբողջական սինթեզն իրականացվել է 1961 թ.-ին Հոֆմանի կողմից:

**Էնիափիններ:** *Fusarium* դասի սնկերի շտամների կուլտուրալ հեղուկներից անջատվել են կառուցվածքով իրար մոտ հակաբակտերիալ ակտիվությամբ օժտված հետերոդետային ցիկլիկ հեքսապեպտիդներ, որոնք ցիկլում, բացի պեպտիդային կապից, պարունակում

են նաև էսթերային կապեր: Դրանք անվանվել են էնիատիններ: Պեպտիդները, որոնց կառուցվածքի մեջ, բացի  $\alpha$ -ամինաթթուներից, մտնում են նաև  $\alpha$ -օքսիթթուներ, կոչվում են դեպսիպեպտիդներ:

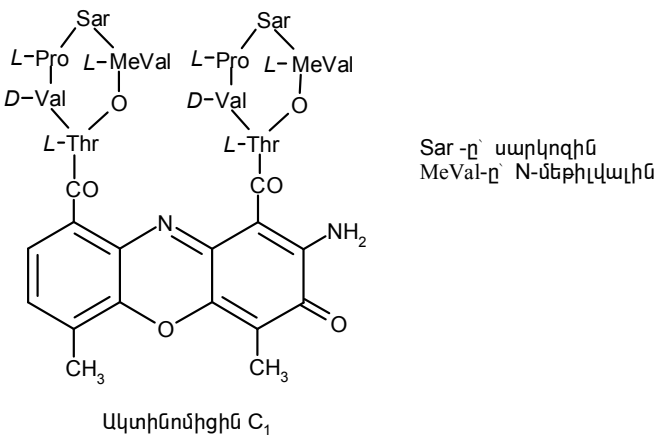


Վերոհիշյալ հակաբիոտիկների կառուցվածքն ապացուցված է նրանց քիմիական սինթեզի ճանապարհով: Պարզվել է, որ սինթեզի ընթացքում առավել արդյունավետ է N-մեթիլ-L-վալինի և N-մեթիլ-L-իզովելյցինի իմինոխմբի պաշտպանումը նիտրոզացմամբ:

Իրականացվել է էնիատինների տարբեր ստերեոիզոմերների նպատակաուղղված սինթեզը, և հայտնաբերվել է, որ բնական էնիատինների անտիպոդները, այսպես կոչված էնանտիոէնիատիններ A և B, օժտված են նույն հակամիկրոբային ակտիվությամբ, ինչ բնական հակաբիոտիկները: Հավանաբար, նման կարգի մոդիֆիկացիաների դեպքում (օրինակ՝ D-օքսիիզովալերիանաթթուն L-օքսիիզովալերիանաթթվով կամ L-մեթիլվալինը D-մեթիլվալինով փոխարինելու դեպքում) պեպտիդի մոլեկուլը հիմնականում կոնֆորմացիոն փոփոխության չի ենթարկվում և պահպանվում է ռեցեպտորի մոլեկուլի նկատմամբ կոմպլեքսնադրության (համապատասխանելիության) բարձր աստիճանը: Պեպտիդային հակաբիոտիկների մոլեկուլների մոդիֆիկացման նման սկզբունքը կարևոր դրական դեր է խաղացել բջջաթաղանթով իոնների տրանսպորտի մեխանիզմների պարզաբանման գործընթացներում:

**Ակտինոմիցիններ:** Ակտինոմիցինները համարվում են քրոմոպեպտիդներ, պարունակում են քրոմոֆոր խումբ և ամինաթթվային շարք: Անջատված են մի ամբողջ խումբ ակտինոմիցինային հակա-

բիոտիկներ, որոնցից առավել լավ ուսումնասիրված են ակտինոմիցին C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> և C<sub>3</sub>: Պարզաբանված է, որ այդ ակտինոմիցինների քրոմոֆորային խումբը համարվում է 1,8-դիմեթիլ-3-ամինոֆենոքսազոն-2-դիկարբոնա-4,5-թթուն, իսկ պեպտիդային մասը իրենից ներկայացնում է բիս-պենտապեպտիդ, որի կազմի մեջ մտնում են L-թրեոնին, L-պրովին, երկու N-մեթիլացված ամինաթթուներ՝ N-մեթիլգլիցին (սարկոզին) և L-N-մեթիլվալին, ինչպես նաև մեկ D-ամինաթթու:



Տարբեր ակտինոմիցինների կառուցվածքում D-ամինաթթուն տարբեր է, օրինակ՝ ակտինոմիցին C<sub>1</sub>-ն պարունակում է D-վալին: Ակտինոմիցինների կառուցվածքը պարզաբանվել է հիդրոագինոլիզի մեթոդով, որը վերջնականորեն հաստատվել է քիմիական սինթեզի միջոցով:

**Օգտագործված գրականություն**

1. Преображенский Н. А., Евстигнеева Р. П., «Химия биологически активных природных соединений», Изд. «Химия», Москва, 1970.
2. Delgado S. N., Remers W. A., “Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry”, New-York, 1998.

3. Weygand F., Geiger R. // *Angew. Chem.*, v. 89, p. 647, 1956.
4. Anderson G. W., Callahan F. M. // *J. Am. Chem. Soc.*, v. 82, 1960, p. 3359.
5. Scopes P. M., Walshaw K. B., Welford M., Young G. T. // *J. Chem. Soc.*, 1965, p. 782.
6. Weygand F., Steglich W., Pietta P. // *Chem. Ber.*, v. 100, 1967, p. 3841.
7. Sachs H., Brand E. // *J. Am. Chem. Soc.*, 1953, v. 75, p. 4608.
8. Максимов В. И., Порошин К. Т. // *Изв. АН СССР, отд. хим. наук*, 1961, с. 186, Schwartz H., Arakawa K. // *J. Am. Chem. Soc.*, v. 81, 1959, p. 5691.
9. Levy A. L. // *Nature*, v. 165, 1950, p. 152.
10. Шубина Т. Н., Кнорре Д. Г. // *ЖОХ*, т. 36, 1966, с. 656.
11. Birkofer L., Ritter A. // *Angew. Chem.*, v. 68, 1956, p. 461, Birkofer L., Ritter A. // *Ann.*, v. 612, 1958, p. 22, Henglein F. A., Knoch W. // *Makromol. Chem.*, v. 28, 1958, p. 10, Rühlmann K. // *Chem. Ber.*, v. 94, 1961, p. 1876, Rühlmann K., Kaufmann U. // *Ann.*, v. 656, 1962, p. 22, Rühlmann K., Hils J. // *Ann.*, v. 683, 1965, p. 211.
12. Bodanszky M., Du Vigneaud V. // *J. Am. Chem. Soc.*, v. 81, 1959, p. 5688.
13. Merrifield R. B. // *Fed. Proc.*, v. 21, 1962, p. 412; *J. Am. Chem. Soc.*, v. 85, 1963, p. 2149.
14. В. С. // *Усп. хим.*, т. 37, 1968, с. 246.
15. Merrifield R. B. // *J. Am. Chem. Soc.*, v. 86, 1964, p. 304, *Biochemistry*, v. 3, 1964, p. 1385.
16. Шемякин М. М., Овчинников Ю. А., Кирюшкин А. А., Кожевникова И. В. // *Tetrahedron, Letters*, 1965, с. 2323.
17. Самсонов Г. В. и др. // *Биохимия*, т. 25, 1960, с. 964.
18. Ralat L. A., Misquitta S. A., Manevich Y., Fisher A. B., Colman R. F. // *ArchBiochemBiophys*, v. 474, N 1, 2008, p. 109.
19. Meienhoffer J., Peptide and protein hormones, In Wolff M. E. (ed.). *Burger's Medicinal*.

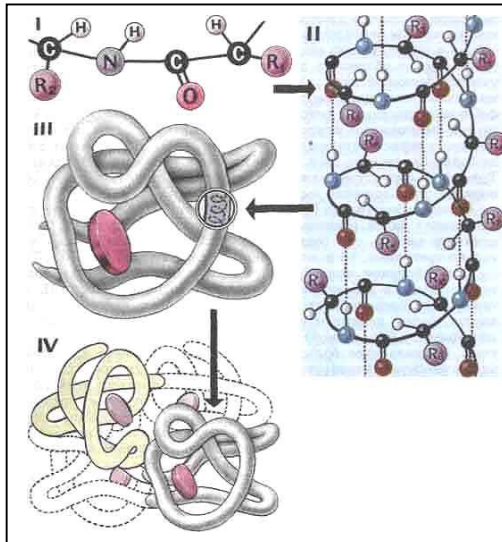
20. Chemistry, 4<sup>th</sup> ed., Part 2, p. 751. New York, John Wiley & Sons, 1979.
21. Saunders W. B. // *American Medical Association Department of Drugs: Drug Evaluations*, 6<sup>th</sup> e d., 1986, p. 815.
22. Suarez-Pinzon W. L., Lakey J. R., Rabinovitch A. // *Cell Transplant*, v. 17, N 6, 2008, p. 631.
23. Degan S., Lopez G. Y., Kevill K., Sunday M. E.// *Ann N. Y. Acad. Sci*, 2008, v. 11, N 44, p. 136.
24. Nouwen N., Stahlberg H., Pugsley A. P., Engel A.// *EMBO J.*, v. 15, N 19, 2000, p. 2229.
25. Wallis M., Howell S. L. and Taylor K.W., In *The Biochemistry of the Peptide Hormones*, 1985, p. 318, Chichester, John Wiley & Sons.
26. Schlienger N. et al.// *Am. J. Matern. Child. Nurs*, v. 34, 2009, p. 16.
27. Miller M. // *J. Am. Geriatr. Soc.*, v. 54, N 2, 2006, p. 345.
28. Wilkes B. C., Masaro L., Schiller P. W., Carpenter K. A.// *J. Med. Chem*, v. 26, N 45, 2002, p. 4410.
29. Miller L. J., Gao F. // *Pharmacol. Ther.*, v. 119, N 1, 2008, p. 83.
30. Costante G., Durante C., Francis Z., Schlumberger M., Filetti S. // *Nat. Clin. Pract. Endocrinol Metab.*, v. 5, 2009, p. 35.
31. Yong E. X., Huynh J., Farmer P., Ong S. Y., Sourial M., Donath S., Ting A. Y., Chow Y., Hutson J. M. // *J. Pediatr. Surg.*, v. 43, 2008, N 8, p. 1533.
32. Chee J., Naran A., Misso N. L., Thompson P. J., Bhoola K. D. // *Biol. Chem.*, v. 389, 2008, p. 1225.
33. Tfelt-Hanson P. C., Koehler P. J. // *Cephalagia*, v. 28, N 8, 2008, p. 877.
34. Шемякин М. М., Овчинников Ю. А., Иванов В. Т., Кирюшкин А. А., Жданов Г. Л., Рябова И. Д. // *Experientia*, v. 19, 1963, p. 566.
35. Feifel S. C., Schmiederer T., Hornbogen T., Berg H, Sussmuth R. D., Zocher R. // *Chembiochem*, v. 8, N 15, 2007, p. 1767.
36. Bonazzi S., Guttinger S., Zemp I., Kutay U., Gademann K. // *Angew Chem Int Ed Engl.*, v. 46, 2007, p. 45.

# ԲԱԺԻՆ III ՍՊԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐ

## Գլուխ 5. Սպիտակուցի կառուցվածքը

Սպիտակուցները երկար և ճկուն պոլիպեպտիդային շղթաներից կազմված կենսապոլիմերներ են, որոնք օժտված են տարածական կազմավորման, ծոման և պտտման անսահմանափակ հնարավորություններով: Սակայն հնարավոր բազմաթիվ տարածական կոնֆորմներից միայն մեկն է համապատասխանում բնական կենսաբանորեն ակտիվ ձևին, որը կոչվում է «նատիվ» սպիտակուց:

Սպիտակուցի կենսաբանական հատկություններն առաջին հերթին պայմանավորված են նրա կառուցվածքային առանձնահատկություններով, որոնք արտահայտվում են առաջնային, երկրորդային, երրորդային և չորրորդային կառուցվածքների տեսքով (նկար 30):



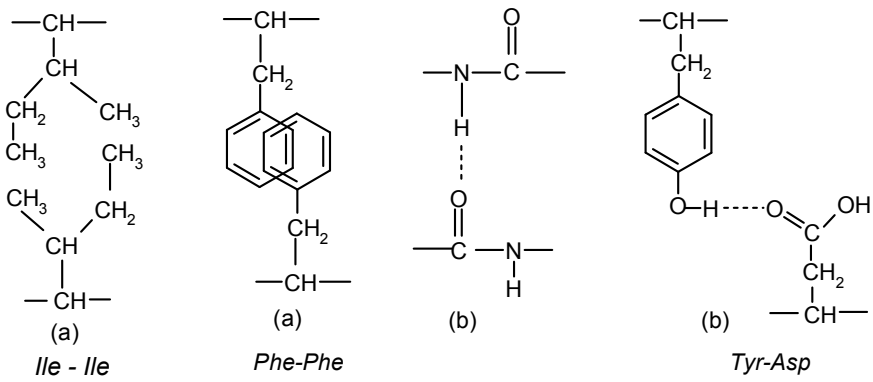
**Նկար 30.** Սպիտակուցի պոլիպեպտիդային շղթայի կառուցվածքը.

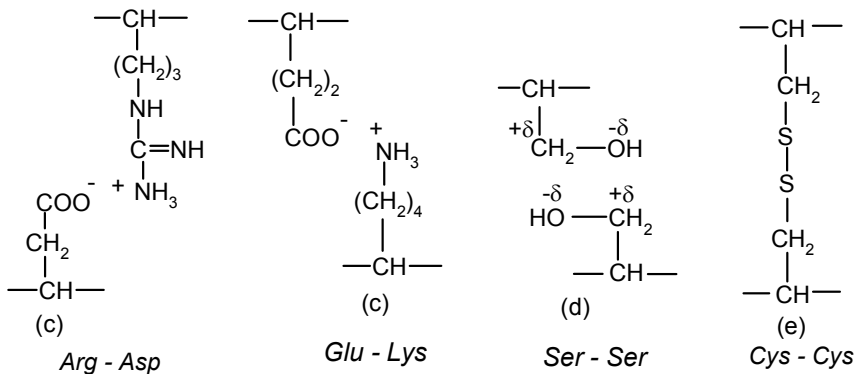
I - առաջնային, II - երկրորդային,

III - երրորդային, IV - չորրորդային

Սպիտակուցի **առաջնային** կառուցվածքն իրենից ներկայացնում է պոլիպեպտիդային շղթայի ամինաթթվային կազմը և հաջորդականությունը, որոնք իրար կապված են պեպտիդային կապով: **Երկրորդային** կառուցվածքն առաջանում է շղթայում պեպտիդային կապ առաջացրած տարբեր ամինաթթվային մնացորդների *խիլևային* (NH) և *կարբոնիլային* (CO) խմբերի միջև ջրածնական կապերի առաջացման հաշվին: Սպիտակուցի **երրորդային** կառուցվածքն առաջանում է միևնույն պոլիպեպտիդային շղթայում ամինաթթվային մնացորդների ռադիկալի ֆունկցիոնալ խմբերի միջև տարբեր բնույթի կովալենտային և ոչ կովալենտային փոխազդեցությունների հաշվին: **Չորրորդային** կառուցվածքը պայմանավորված է նույն ոչ կովալենտային փոխազդեցություններով, ինչ երրորդային կառուցվածքի դեպքում, սակայն տարբեր պոլիպեպտիդային շղթաների ռադիկալի ֆունկցիոնալ խմբերի միջև:

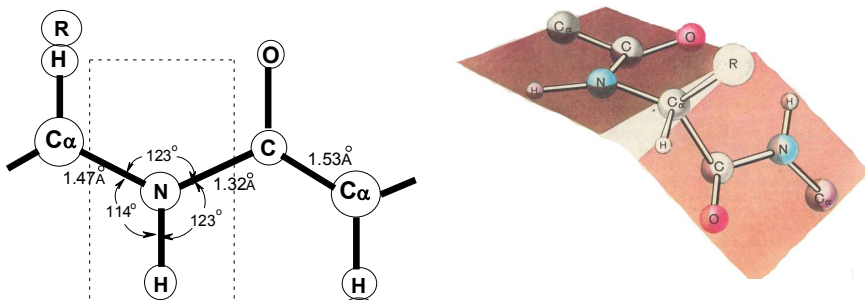
Սպիտակուցի տարածական կառուցվածքը պայմանավորող ոչ կովալենտային փոխազդեցությունները բնույթով կարող են լինել հիդրոֆոբ (a), ջրածնական (b), էլեկտրոստատիկ (c) և դիպոլ-դիպոլային (d) փոխազդեցություններ:





Բացի դրանից՝ սպիտակուցի տարածական կառուցվածքի կազմավորման պրոցեսում որոշիչ դեր են խաղում նաև կովալենտային բնույթի դիսուլֆիդային կապերը (e), որոնք կապող կամրջակի դեր են կատարում ինչպես տարբեր պոլիպեպտիդային շղթաների միջև, այնպես էլ միևնույն պոլիպեպտիդային շղթայի տարբեր հատվածների միջև:

Ընդհանուր առմամբ՝ պոլիպեպտիդային շղթան առաջին հերթին դիտարկվում է որպես  $\alpha$ -ածխածնի ատոմների ( $C_\alpha$ ) հաջորդականություն, որոնք կրում են կողքային ռադիկալները և ամիդային խմբերը՝  $-\text{CO}-\text{NH}-$  (նկար 31):



**Նկար 31.** Պոլիպեպտիդային շղթայի հատվածն ըստ ռենտգենկառուցվածքային անալիզի տվյալների



Միանշանակ հաստատված է, որ գծային պոլիպեպտիդներում պեպտիդային կապը ունի *հարթ տրանս* կոնֆիգուրացիա: Պեպտիդային կապի երկարությունը (NH-CO) հավասար է 1,32 Å, որը փոքր է առաջնային ամիններում սովորական C-N կապի երկարությունից (1,47 Å), սակայն մեծ է C=N կապի երկարությունից (1,24 Å), ինչը վկայում է համակարգում զուգորդման էֆեկտի առկայության մասին:

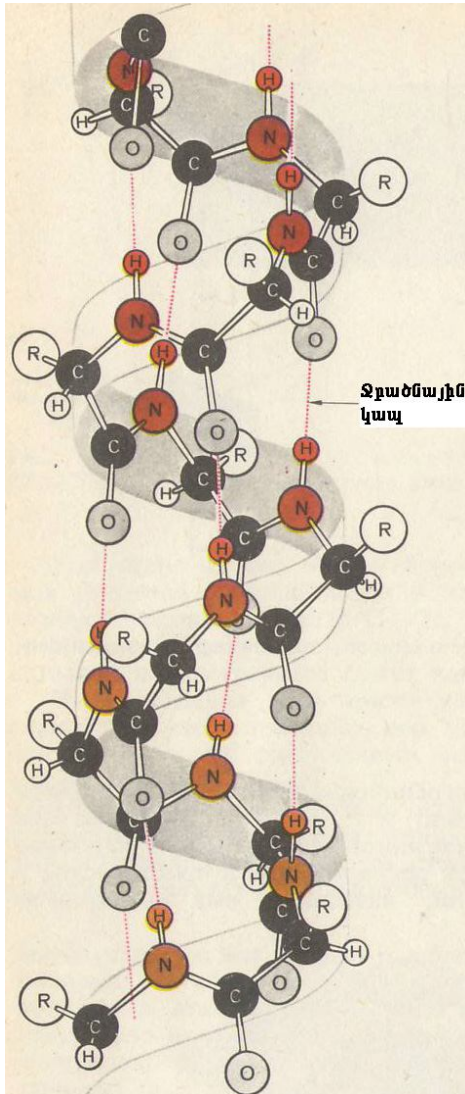
Պարզաբանված է, որ սպիտակուցներում հստակ պահպանվում է պեպտիդային կապի հանդեպ երկու հարևան  $\alpha$ -ածխածնի ատոմների *տրանս* բաշխումը: Բացառություն են կազմում միայն դիկետոպիպերազինները և ցածր ցիկլիկ պեպտիդները, որոնց մոտ հանդիպում է նաև պեպտիդային կապի հանդեպ հարևան խմբերի *ցիս* բաշխում:

Հարթ տրանս պեպտիդային խումբը համարվում է ամբողջ կառուցվածքի կոշտ հատվածը, և ազատ պտույտ հնարավոր է N-C $\alpha$  և C-C $\alpha$  կապերի շուրջը, ինչով էլ պայմանավորված է պեպտիդային շղթայի ճկունությունը:

1951 թ.-ին Պոլինգը և Կորնը առաջարկել են պեպտիդային շղթայի երկու հնարավոր կոնֆորմացիա՝  $\alpha$ -պարուրային և  $\beta$ -ծալքային, որոնք բնորոշում են սպիտակուցի երկրորդային կառուցվածքը:

### 5.1. $\alpha$ -պարուրային և $\beta$ -ծալքային կառուցվածքներ

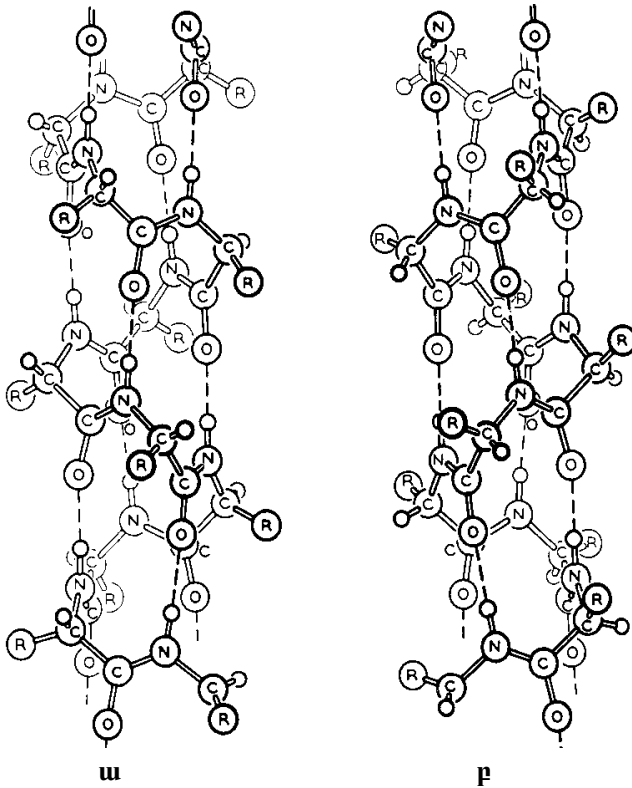
**Պարուրյի** քայլի երկարությունը կազմում է 5,44 Å, տրամագիծը՝ 10,5 Å, և պարուրյի յուրաքանչյուր քայլ համապատասխանում է 3,7 ամինաթթվային մնացորդի: Ջրածնական կապերը, որոնք առաջանում են պոլիպեպտիդային շղթայի պարուրածև կառուցվածքի կազմավորման ժամանակ, միացնում են յուրաքանչյուր պեպտիդային կապի կարբոնիլային թթվածնին իրենից հետո երրորդ ամինաթթվային մնացորդի առաջացրած պեպտիդային կապի իմինո խմբի ջրածնի հետ և ուղղված են պարուրյի առանցքի ուղղությամբ (նկար 32):



**Նկար 32.** Պոլիպեպտիդային շղթայի  $\alpha$ -պարուրածն կառուցվածքը

Բոլոր ամինաթթվային մնացորդների կողքային խմբերը բաշխված են պարույրի արտաքին մասում, որոնց միջև հեռավորությունը բավականին մեծ է, և բացառվում է նրանց փոխազդեցությունը նույն պարույրի ներսում:

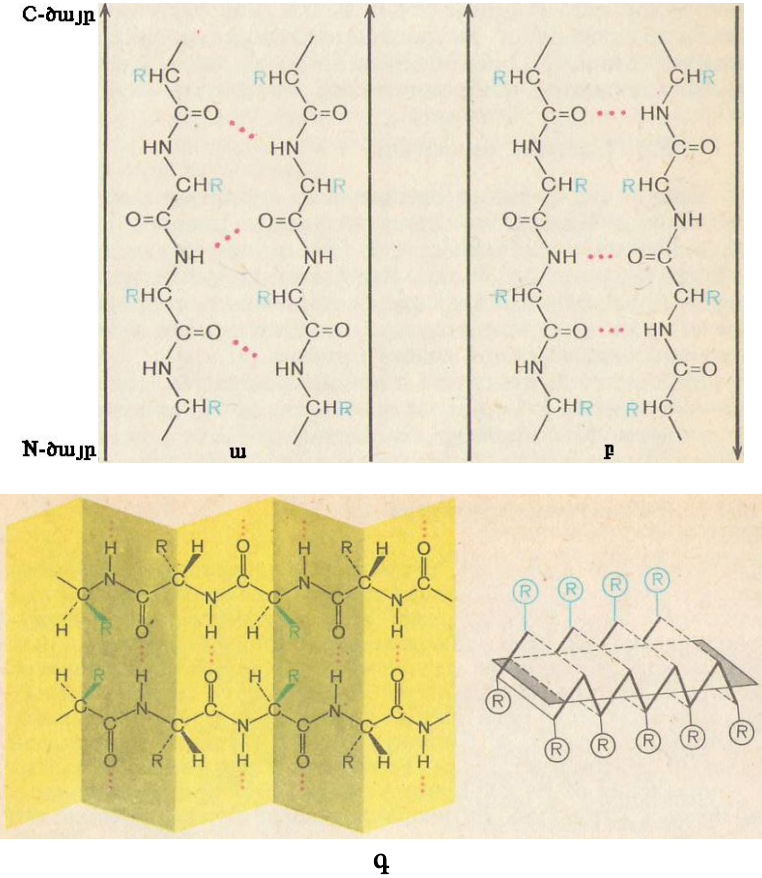
Տեսականորեն հնարավոր են ինչպես աջ, այնպես էլ ձախ  $\alpha$ -պարույրային կառուցվածքներ (նկար 33): Սակայն պարզաբանված է, որ *L*-ամինաթթուներից կազմված պոլիպեպտիդային շղթաներում ձախ  $\alpha$ -պարույրի կոնֆորմացիաներն ավելի քիչ կայուն են, քան աջ  $\alpha$ -պարույրի շղթաները:



**Նկար 33.** Պոլիպեպտիդային շղթայի  $\alpha$ -պարուրածն կառուցվածքը.

**ա.** ձախ պարույր, **բ.** աջ պարույր

*β-ժաքային կառուցվածքն* իրենից ներկայացնում է համա-կարգ, որը կազմված է մինևույն պոլիպեպտիդային շղթայի իրար զուգահեռ կամ հակառակ ուղղված հատվածներից կամ մի քանի պոլիպեպտիդային շղթաներից, որոնք կապված են ջրածնական կապերով (նկար 34):



**Նկար 34.** Պոլիպեպտիդային շղթայի առաջնային  $\beta$ -ժաքային կառուցվածքը.

**ա.** զուգահեռ շղթաներով ծալք, **բ.** հակառակ ուղղված շղթաներով ծալք, **գ.** պոլիպեպտիդային շղթայի երկրորդային  $\beta$ -ժաքային կառուցվածքը

Ի տարբերություն  $\alpha$ -պարույրի՝  $\beta$ -ծալքային կառուցվածքում ջրածնական կապերն ուղղված են ուղղահայաց պոլիպեպտիդային շղթաների առանցքներին: Քանի որ երկու հարևան պեպտիդային կապերի հարթություններն իրար նկատմամբ դասավորված են որոշակի (ոչ մեծ) անկյան տակ, համակարգը ձեռք է բերում ծալքային կառուցվածքի տեսք: Ծալքի արտաքին մասում բաշխված են  $\alpha$ -ածխածնի ատոմները, որոնք կրում են կողքային ռադիկալները: Կողքային ռադիկալների միջև հեռավորությունն այնպիսին է, որ ծավալուն ռադիկալների դեպքում հնարավոր է նրանց միջև թույլ վանողական փոխազդեցություն:

$\beta$ -ծալքային կառուցվածքում նույնականությունների կրկնությունն առանցքի ուղղությամբ (քայլի երկարությունը) կազմում է 7,00 Å՝ իրար գուգահեռ շղթաների դեպքում և 6,50 Å՝ հակառակ ուղղված շղթաների դեպքում, իսկ շղթաների միջև հեռավորությունը 9,5 Å է:

Սկզբնական շրջանում ենթադրվել է, որ  $\alpha$ -պարուրածն և  $\beta$ -ծալքային կոնֆորմացիաները պայմանավորված են միայն ջրածնական կապերով: Սակայն հետագայում պարզվել է, որ պարույրները և ծալքերը հանդիսանում են տարածական արգելքների արդյունքներ, որոնք ծագում են պոլիպեպտիդային շղթաներում  $C_{\alpha}$ -C և  $C_{\alpha}$ -N կապերի շուրջը ազատ պտույտի շնորհիվ, ինչպես նաև շղթայի բոլոր ատոմների միջև ոչ կովալենտային փոխազդեցությունների հետևանքով: Սպիտակուցի կառուցվածքի հետազոտումն առաջին հերթին նշանակում է առաջնային կառուցվածքի պարզաբանում:

## 5.2. Սպիտակուցի առաջնային կառուցվածքի որոշումը

Սպիտակուցի առաջնային կառուցվածքի հետազոտումը ներգրավում է հետևյալ հիմնական էտապները.

1. *ամինաթթուների քանակական անալիզ,*
2. *ծայրային ամինաթթվային մնացորդների որոշում,*
3. *դիսուլֆիդային կապերի ճեղքում,*

4. մոլեկուլի սելեկտիվ ճեղքում ֆրագմենտների և ֆրագմենտների անջատում,
5. առանձին ֆրագմենտների ամինաթթվային հաջորդականությամբ որոշում,
6. որոշված ամինաթթվային հաջորդականության սինթեզ և նրա կենսաքանակական ակտիվության համեմատում բնական սպիրակուցի հետ:

### **5.2.1. Ամինաթթուների քանակական անալիզը**

Սպիտակուցի մոլեկուլում պարունակվող ամինաթթուների անջատման և հետազոտման համար նախ անհրաժեշտ է քանդել պեպտիդային կապերը, որոնք կապում են ամինաթթվային մնացորդներն իրար հետ: Դա իրականացվում է թթվային կամ հիմնային հիդրոլիզի եղանակով: Քանի որ հիդրոլիզն ընթանում է բավականին խիստ պայմաններում, անհրաժեշտ է պարզել, թե յուրաքանչյուր հիդրոլիզից հետո ինչ աստիճանով են ամինաթթուները ենթարկվում դեստրուկցիայի (քայքայման):

**Թթվային հիդրոլիզ:** Սպիտակուցային շղթայի լրիվ ճեղքման համար ավելի հաճախ օգտագործում են խիտ թթուներ, մասնավորապես 6N HCl: Պոլիպեպտիդային շղթայի ամբողջական հիդրոլիզ տեղի է ունենում սպիտակուցը 20-200 մոլային ավելցուկով աղաթթվի լուծույթում եռացնելու դեպքում: Ամինաթթուների դեստրուկցիան ճնշելու համար հիդրոլիզն իրականացվում է հերմետիկ փակված ապակյա սրվակներում՝ 12-48 ժամ տևողությամբ մինչև 105°C տաքացման պայմաններում: Հիդրոլիզն ավարտելուց հետո աղաթթուն հեռացվում է վակուումի պայմաններում գոլորշիացմամբ և ամինաթթուները անջատվում են հիդրոլորիդների տեսքով: Հաճախ հիդրոլիզի համար օգտագործվում է խիտ ծծմբական թթու, որի ավելցուկը հետագայում չեզոքացվում է բարիումի հիդրօքսիդով: Այս դեպքում ամինաթթուները անջատվում են ազատ հիմքի տեսքով:

Հաստատված է, որ աղաթթվով և ծծմբական թթվով հիդրոլիզի ժամանակ ամբողջությամբ քայքայվում են տրիպտոֆանը, մասամբ

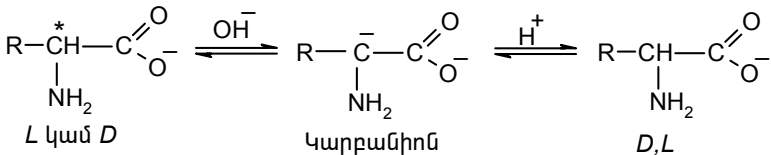
սերինը, թրեոնինը և ցիստինը: Այդ ամինաթթուները պահպանելու նպատակով հաճախ օգտագործում են այլ հիդրոլիզող ազենտներ, օրինակ՝ յոդաջրածնական թթվով հիդրոլիզի ժամանակ չի քայքայվում ցիստինը, իսկ տրիպտոֆանի քայքայումը հնարավոր է կանխել թրթնջկաթթվով հիդրոլիզը իրականացնելու դեպքում:

Որպես կանոն, թթվային հիդրոլիզից հետո հիդրոլիզատն առաջանում է մուգ շագանակագույն, իսկ հաճախ նաև՝ սև երանգով: Դա տեղի է ունենում քիչ կայուն ամինաթթուների քայքայման հետևանքով, հատկապես տրիպտոֆանի, ինչպես նաև շաքարների քայքայման պատճառով, որոնք առկա են մի շարք բնական սպիտակուցների կառուցվածքում:

**Հիմնային հիդրոլիզ:** Հիմքերի հիդրոլիզող ունակությունն ավելի ուժեղ է, քան նույն կոնցենտրացիայով թթուների դեպքում: Սակայն հիմնային հիդրոլիզի ժամանակ ամինաթթուների դեստրուկցիան ավելի խորն է տեղի ունենում:

Սովորաբար սպիտակուցի հիմնային հիդրոլիզն իրականացվում է 4-5 N NaOH-ի ջրային լուծույթում 6-24 ժամ տևողությամբ եռացնելու ընթացքում: Հարմար է օգտագործել նաև Ba(OH)<sub>2</sub>, որը հետագայում կարելի է քանակապես հեռացնել ծծմբական թթվով նստեցմամբ: Հիմնային հիդրոլիզի ժամանակ տեղի է ունենում ամինաթթուների ռացեմացում, ինչը հավանաբար պայմանավորված է հիմքի ազդեցությամբ α-ջրածնի պոկման արդյունքում հարթ կարբանիոնի առաջացմամբ, որին պրոտոնի հետադարձ միացումը հավասարազոր տեղի է ունենում հարթության երկու կողմերից՝ բերելով ռացեմատ խառնուրդների առաջացման (սխեմա 89):

**Սխեմա 89**



Ամինաթթուների դեստրուկցիայի բարձր աստիճանի պատճառով սպիտակուցի հիմնային հիդրոլիզը հազվադեպ է իրականացվում: Հիմնային միջավայրում ամբողջությամբ քայքայվում են օքսիամինաթթուները և ցիստեինը, իսկ արգինինը տրանսֆորմացվում է ցիտրուլինի, իսկ որոշ դեպքերում՝ մինչև օրնիթինի, տրիպտոֆանը ամբողջությամբ քիմիապես փոխվում է և այլն: Այդ պատճառով գործնականում սպիտակուցի քանակական անալիզի համար հիմնականում օգտագործվում է թթվային հիդրոլիզի տարբերակը:

Սպիտակուցի հիդրոլիզատում ամինաթթուները ենթարկվում են որակական և քանակական անալիզի նրբաշերտ և թղթային քրոմատոգրաֆիայի, ավտոմատ ամինաթթվային անալիզի և այլ մեթոդներով (տե՛ս գլուխ 1.5.): Ընդ որում՝ ամինաթթուներն անալիզվում են ինչպես հիդրոքլորիդների, այնպես էլ ազատ հիմքի տեսքով: Վերջին դեպքում հիդրոլիզատը մինչև անալիզը ենթարկվում են իոնափոխանակային սորբցիայի և դեսորբցիայի՝ կատիոնափոխանակային խեժերի կիրառմամբ:

### ***5.2.2. Ծայրային ամինաթթվային մնացորդների որոշումը***

Սպիտակուցի ամինաթթվային կազմը որոշելուց հետո հետագոտվում է պոլիպեպտիդային շղթայի ամինաթթվային հաջորդականությունը: Սպիտակուցի մոլեկուլում ամինաթթվային հաջորդականության որոշման առաջին փուլը ծայրային ամինաթթվային մնացորդների որոշումն է, որն իրականացվում է քիմիական և ֆերմենտային եղանակներով:

#### ***5.2.2.1. N-ծայրային ամինաթթվային մնացորդների որոշումը***

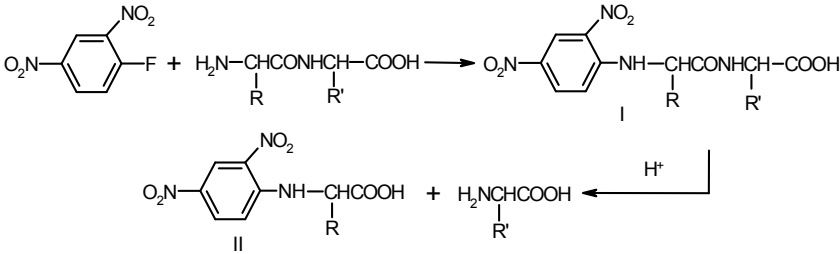
##### ***Գինիպրոֆենիլային (ԳՆՖ) մեթոդ:***

Մեթոդն առաջարկվել է 1945 թ.-ին Մենժերի կողմից, համաձայն որի՝ պեպտիդը կամ սպիտակուցը հիմքի ներկայությամբ սենյակային ջերմաստիճանում մշակվում է դինիտրոֆտորբենզոլով: Այդ ընթացքում տեղի է ունենում N-ծայրային ամինաթթվի  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> խմբի ա-



րիլացում համապատասխան դինիտրոֆենիլային ածանցյալի (I) առաջացմամբ, որն այնուհետև ենթարկվում է թթվային հիդրոլիզի: Հիդրոլիզի արդյունքում առաջանում է N-ծայրային ամինաթթվի ԳՆՖ-ածանցյալի (II) և մյուս բոլոր ամինաթթուների խառնուրդը (սխեմա 90):

**Սխեմա 90**



Առաջացած ԳՆՖ-ամինաթթուն ունի դեղին գույն և հեշտությամբ առանձնացվում է ամինաթթվային խառնուրդից թղթային քրոմատոգրաֆիայի եղանակով: Բացի  $\alpha$ -ամինային խմբից՝ դինիտրոֆտորբենզոլի հետ փոխազդում են նաև լիզինի  $\omega$ -ամինային, ցիստեինի սուլֆիդիլային, սերինի և թրեոնինի հիդրօքսիլային, հիստիդինի իմիդազոլային խմբերը:

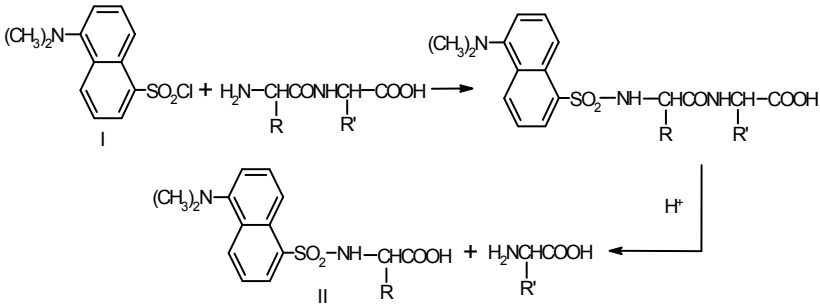
Ամինաթթուների ԳՆՖ-ածանցյալները քայքայվում են տեսանելի լույսի տակ, այդ պատճառով բոլոր ռեակցիաները պետք է իրականացվեն մութ պայմաններում: Այս մեթոդի թերությունը կայանում է նրանում, որ որոշ ամինաթթուների ԳՆՖ-ածանցյալներ, օրինակ՝ պրովինի, գլիցինի, տրիպտոֆանի և ցիստեինի ԳՆՖ-ածանցյալները, հիդրոլիզի պայմաններում քայքայվում են: Սակայն, չնայած դրան, ԳՆՖ-մեթոդը լայնորեն կիրառվում է սպիտակուցի առաջնային կառուցվածքի որոշման գործընթացներում:

**Դանսիլային (ԴՆՍ) մեթոդ:**

Համաձայն այս մեթոդի՝ սպիտակուցը կամ պեպտիդը մշակվում է դիմեթիլամինանաֆտալինսուլֆոբուրիդով (կամ դանսիլբուրիդով) (I): Առաջացած սպիտակուցի ԴՆՍ-ածանցյալը ենթարկվում է

թթվային հիդրոլիզի, որի ընթացքում ճեղքվում են բոլոր պեպտիդային կապերը, իսկ NH-SO<sub>2</sub> կապը կայուն է թթվային ազեոնների հանդեպ և չի հիդրոլիզվում: Հիդրոլիզատում նրբաշերտ քրոմատոգրաֆիայի մեթոդով SiO<sub>2</sub> շերտի վրա հայտնաբերվում է N-ծայրային ամինաթթվի դանսիլային ածանցյալը (II) (սխեմա 91):

**Սխեմա 91**

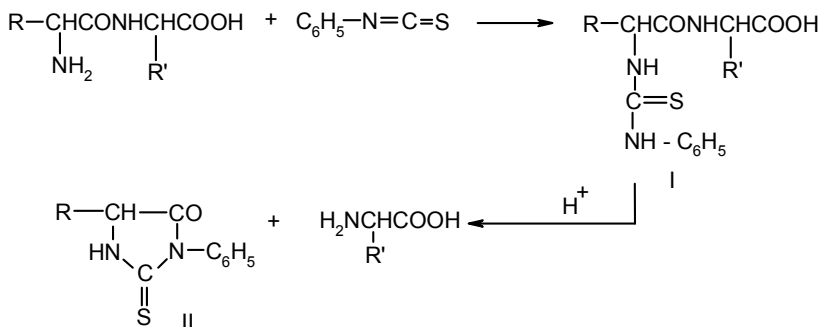


Ամինաթթուների դանսիլային ածանցյալները ներկվում են ուլտրամանուշակագույն լույսի տակ, ինչը օգտագործում են ՆՇՔ մեթոդով նրանց հայտնաբերման համար: Մեթոդի զգայունությունը բավականին բարձր է, և այն հնարավորություն է տալիս հիդրոլիզատում անալիզելու անջատված ԴՆԱ-ամինաթթուն նույնիսկ նրա չնչին կոնցենտրացիաների դեպքում (մինչև 10<sup>-11</sup> մոլ/լ):

**Ֆենիլիզոթիոցիանադային (ՖԹՅ) մեթոդ:**

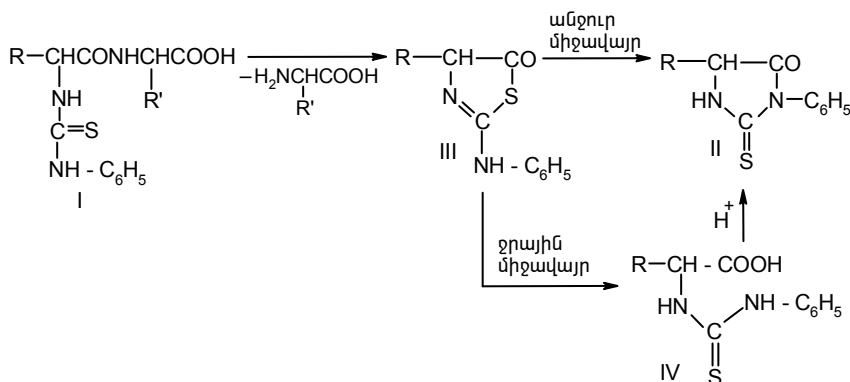
Այս մեթոդը առաջարկել է Էդմանը 1945 թ.-ին, համաձայն որի՝ սպիտակուցը կամ պեպտիդը ջուր-դիօքսան կամ ջուր-պիրիդին միջավայրում (pH 8-9) մշակվում է ֆենիլիզոթիոցիանատով: Արդյունքում առաջացած թիոմիզանյութի ածանցյալը (I) նիտրոմեթանի միջավայրում քլորաջրածնի ազդեցությամբ ենթարկվում է ցիկլման, և շղթայից անջատվում է N-ծայրային ամինաթթուն ֆենիլթիոհիդանտոինի տեսքով (II) (սխեմա 92):

## Սխեմա 92



Էդմանը հետազոտել է ցիկլման ռեակցիայի մեխանիզմը և պարզել, որ այն ընթանում է միջամկյալ թիազոլինոնի (III) առաջացմամբ, որն անջուր միջավայրում անմիջապես տրանսֆորմացվում է ֆենիլթիոհիդանտոինի (II), իսկ ջրային միջավայրում սկզբից փոխարինվում է ՖԹՅ-ամինաթթվի (IV), որն այնուհետև դանդաղ ցիկլվում է՝ առաջացնելով թիոհիդանտոինային ածանցյալ (II) (սխեմա 93):

## Սխեմա 93



Սկզբնական ռեակցիան, որը բերում է պեպտիդային շղթայից N-ծայրային ամինաթթվային մնացորդի պոկմանը, ընթանում է բավականին մեղմ պայմաններում: Խիտ թթվի հետագա օգտագործումն անհրաժեշտ է թիազոլինոնը (III) ֆենիլթիոհիդանտոինի (II) տրանսֆորմացվելու համար: Ֆենիլթիոհիդանտոինները համեմատաբար

կայուն են թթուների նկատմամբ, և նրանց կարելի է անջատել հիդրոլիզատից ու նույնականացնել ըստ հալման ջերմաստիճանի կամ քրոմատոգրաֆիական եղանակով:

Մնացած պեպտիդը կարելի է նորից մշակել ֆենիլիզոթիոցիանատով, անջատել և նույնականացնել երկրորդ ամինաթթվային մնացորդը N-ծայրից, այնուհետև երրորդ ամինաթթվային մնացորդը և այսպես շարունակ: Այդ պատճառով էլ այս մեթոդը հաճախ անվանում են «Էդմանի աստիճանական դեգրադացիայի մեթոդ»:

Ի տարբերություն նախորդ մեթոդների (ԴՆՖ, դանսիլային)՝ ՖԹՅ մեթոդի դեպքում առաջին ամինաթթվային մնացորդի նույնականացման պրոցեսում բոլոր պեպտիդային կապերը չեն ճեղքվում, այլ շղթայից պոկվում է միայն N-ծայրային ամինաթթուն, և մնացած պեպտիդային շղթան անջատվում և հետագոտվում է աստիճանաբար N-ծայրից մյուս ամինաթթուների նույնականացման համար: Դ-ա համարվում է մեթոդի հիմնական առավելությունը, ինչը հնարավորություն է տվել ստեղծելու ավտոմատ սարք սպիտակուցի N-ծայրից ամինաթթվային մնացորդների անալիզի (նույնականացման) համար, որը կոչվում է սեկվենատոր (անգլիական *sequence* բառից, որը նշանակում է հաջորդականություն): Էդմանի կողմից ստեղծված այս սարքը հնարավորություն է տալիս աշխատելու 0,25 մկմոլ քանակությամբ սպիտակուցի հետ և որոշելու մի քանի տասնյակ ամինաթթուներ շղթայի N-ծայրից:

**Ամինոպեպտիդազային մեթոդ:** Սպիտակուցի N-ծայրային ամինաթթուները կարելի է որոշել ֆերմենտային հիդրոլիզի մեթոդով ամինոպեպտիդազ ֆերմենտների կիրառմամբ: Ամինոպեպտիդազները ֆերմենտներ են, որոնք սպեցիֆիկ ձևով հիդրոլիզում են N-ծայրային ամինաթթվային մնացորդի կարբօքսիլային խմբի մասնակցությամբ առաջացած պեպտիդային կապերը: Այս մեթոդը լայն կիրառություն է ստացել սկսած 1955 թ.-ից, երբ առաջին անգամ հաջողվել է խոզի երիկամներից մաքուր վիճակում անջատել լեյցինամինոպեպտիդազ ֆերմենտը: Այս մեթոդը հաջողությամբ կիրառվել է ինսուլինի և պապահինի առաջնային կառուցվածքի որոշման գործընթացներում:

### **5.2.2.2. C-ծայրային ամինաթթվային մնացորդների որոշումը**

**Կարբօքսիպեպտիդազային մեթոդ:** Կարբօքսիպեպտիդազները ֆերմենտներ են, որոնք յուրահատուկ ձևով ճեղքում են C-ծայրային պեպտիդային կապերը և առաջին անգամ կիրառվել են սպիտակուցի հիդրոլիզի համար 1949 թ.-ին: Սպիտակուցը ենթարկվում է ֆերմենտի ազդեցությանը, և որոշակի ժամանակահատվածներում իրականացվում է հիդրոլիզատի քրոմատոգրաֆացումը: Այդ ընթացքում տեղի է ունենում շղթայի C-ծայրից ամինաթթուների աստիճանաբար պոկում: Առաջացած ազատ ամինաթթուներն անջատվում են հիդրոլիզատից, վերածվում ԴՆՖ-ածանցյալների և նույնականացվում թղթային քրոմատոգրաֆիայի մեթոդով:

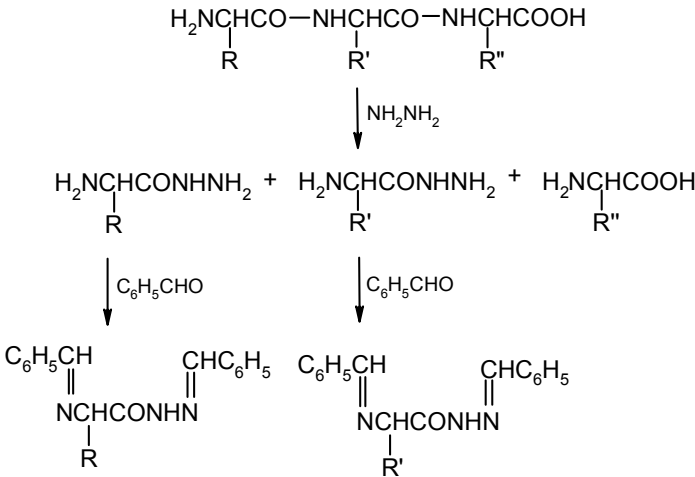
Հայտնի են մի քանի տեսակի կարբօքսիպեպտիդազներ, օրինակ՝ կարբօքսիպեպտիդազ A ֆերմենտի ազդեցությամբ առանձին ամինաթթուների պոկման արագությունները կախված են մի շարք գործոններից, առաջին հերթին՝ պոկվող C-ծայրային ամինաթթվի կողքային ռադիկալի բնույթից և ինչ որ չափով նաև հարևան ամինաթթվի ռադիկալի բնույթից: Ավելի արագ են խզվում արոմատիկ ամինաթթուների առաջացրած պեպտիդային կապերը, այնուհետև՝ երկար կողքային ռադիկալով ամինաթթուների պեպտիդային կապերը: Դ-անդաղ են ճեղքվում փոքր ռադիկալով ամինաթթուների առաջացրած C-ծայրային պեպտիդային կապերը, իսկ առավել դանդաղ՝ թթվային և հիմնային ամինաթթուների պեպտիդային կապերը:

Կարբօքսիպեպտիդազ A ֆերմենտի ազդեցությամբ գործնականում չեն ճեղքվում պրոլինի և օքսիպրոլինի, ինչպես նաև ամիդի տեսքով գտնվող C-ծայրային ամինաթթուների առաջացրած պեպտիդային կապերը:

Կարբօքսիպեպտիդազային մեթոդի հիմնական թերությունը համարվում է գերմաքուր ֆերմենտային պատրաստուկի կիրառման անհրաժեշտությունը, քանի որ նույնիսկ չնչին քանակությամբ այլ պրոտեազների առկայությունը տալիս է ոչ ստույգ տվյալներ:

**Հիդրազինոլիզ:** Այս մեթոդը առաջարկել է Ակոբարին 1952 թ.-ին, համաձայն որի՝ սպիտակուցը կամ պեպտիդը մինչև 110-120°C տաքացման պայմաններում մշակվում է անջուր հիդրազինով՝ 8-10 ժամ տևողությամբ: Այդ ընթացքում պեպտիդային կապերը քանդվում են բոլոր ամինաթթուների հիդրազիդների առաջացմամբ, բացառությամբ C-ծայրային ամինաթթվի, որն անջատվում է ազատ ձևով (սխեմա 94):

**Սխեմա 94**



Հիդրազիդները հեռացվում են ռեակցիոն միջավայրից բենզալդեհիդով մշակմամբ, ինչի արդյունքում դրանք վերածվում են դիբենզիլիդենային ածանցյալների և նստում լուծույթից, իսկ ազատ ձևով C-ծայրային ամինաթթուն Շիֆի հիմք չի առաջացնում և մնում է լուծույթում, այն կարելի է նույնականացնել թղթային քրոմատոգրաֆիայի մեթոդով:

Մեթոդի թերությունը համարվում է ամինաթթուների համեմատաբար մեծ կորուստը բենզալդեհիդով բազմակի մշակման պատճառով, քանի որ ամինաթթուների հիդրազիդները բավականին դանդաղ են փոխազդում բենզալդեհիդի հետ: Բացի դրանից՝ որոշ ամինա-

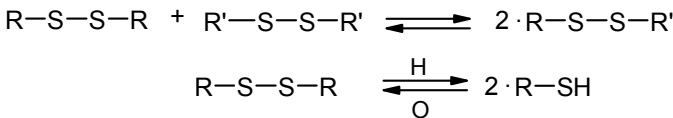
թթուներ, օրինակ՝ ցիստինը, ցիստեինը, արգինինը, գլուտամինը և ասպարագինը, հիդրազինոլիզի պայմաններում քայքայվում են:

Մեթոդի թերություններից է նաև հիդրոլիզատում ազատ այլ ամինաթթուների (ոչ C-ծայրային) առաջացման հնարավորությունը, հավանաբար հիդրազիդների անկայունության պատճառով: Օրինակ՝ սերինի, թրեոնինի և գլիցինի հիդրազիդները լաբիլ են և հեշտությամբ վերածվում են ազատ ամինաթթուների: Սակայն, չնայած նշված թերություններին, այս մեթոդը որոշ դեպքերում տալիս է ճշգրիտ արդյունքներ և մասնավորապես այն կիրառվել է ձվի ալբումինի կառուցվածքի պարզաբանման ժամանակ:

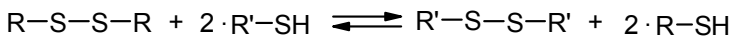
Բացի նշված մեթոդներից՝ սպիտակուցի C-ծայրային ամինաթթուների որոշման համար օգտագործվել են նաև մետաղների հիդրիդներով սպիտակուցի վերականգնման և ամոնիումի իզոթիոցիանատով սպիտակուցի մշակման մեթոդները: Սակայն երկու մեթոդներն էլ գերծ չեն թերություններից և գործնական կիրառություն չեն ստացել:

### 5.2.3. Ղիսուլֆիդային կապերի ճեղքումը

Սպիտակուցի մոլեկուլում ցիստինի և ցիստեինի առկայությունը որոշակի խնդիրներ է առաջացնում նրա առաջնային կառուցվածքի վերծանման ժամանակ: Առաջին հերթին դա կապված է սուլֆիդիդիլային և ղիսուլֆիդային կապերի լաբիլությամբ, որոնք ընդունակ են ղիսուլֆիդային փոխանակման և օքսիդավերականգնման ռեակցիաների:



Վերականգնիչի դերում կարող են հանդես գալ սպիտակուցի մոլեկուլի ազատ թիոլային խմբերը, իսկ օքսիդիչի դերում՝ այդ նույն մոլեկուլի ղիսուլֆիդային կապերը:

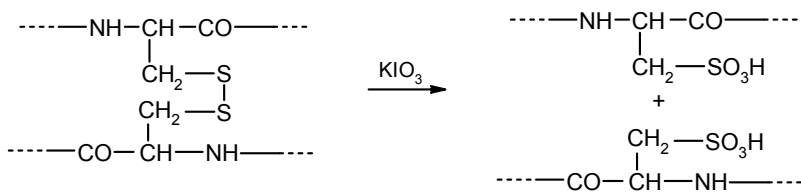


Նատիվ սպիտակուցում դիսուլֆիդային կապերը հիդրոլիզի պայմաններում հեշտությամբ ենթարկվում են վերախմբավորումների և դժվարացնում են ամինաթթվային հաջորդականության որոշումը, ինչի պատճառով մինչև սպիտակուցի հիդրոլիզը դիսուլֆիդային կապերը նախօրոք ճեղքում են:

Հայտնի է դիսուլֆիդային կապերի ճեղքման երեք մեթոդ, սակայն դրանցից ոչ մեկն էլ գերծ չէ թերություններից:

**Օքսիդացում:** Սպիտակուցի մոլեկուլում ցիստինի մնացորդի օքսիդացումը, օրինակ՝  $KIO_3$ -ի միջոցով, բերում է մոլեկուլի ճեղքման և ցիստեինաթթվի երկու մնացորդների առաջացման (սխեմա 95): Եթե դիսուլֆիդային կապը մոլեկուլում միացնում է երկու տարբեր շղթաներ, ապա օքսիդացման արդյունքում մոլեկուլային զանգվածը փոքրանում է, և առաջանում են երկու պոլիպեպտիդներ, որոնք կարելի է անջատել անհատական ձևով (օրինակ՝ ինսուլինի դեպքում): Եթե դիսուլֆիդային կապը միացնում է նույն մոլեկուլի երկու տարբեր հատվածներ, ապա օքսիդացման արդյունքում արգասիքի մոլեկուլային զանգվածը չի փոխվում (օրինակ՝ ռիբոնուկլեազի դեպքում):

### Սխեմա 95



Այդ ռեակցիան մասնավորապես օգտագործվել է ինսուլինի և ռիբոնուկլեազի կառուցվածքի պարզաբանման ժամանակ: Առաջացած ցիստեինաթթվի մնացորդները կայուն են, իսկ մոլեկուլում  $SO_3H$  խմբերի առկայությունը պեպտիդին տալիս է թթվային հատկություն, ինչը կարելի է օգտագործել օքսիդացված սպիտակուցների ամի-

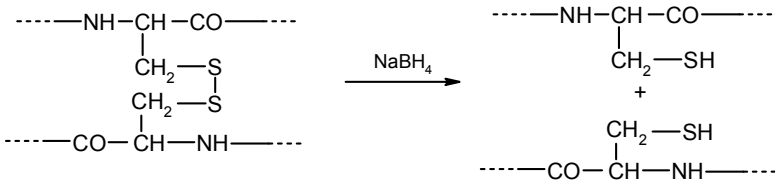


նաթթվային կազմի և հաջորդականության հետազոտման ժամանակ:

Մեթոդի թերություններից են տրիպտոֆանի ու մեթիոնինի քայքայումը և կողմնակի ռեակցիաների հնարավորությունը: Յիստեինաթթվի ելքը սովորաբար կազմում է 90%:

**Վերականգնում:** Դիսուլֆիդային կապի ճեղքման տարածված մեթոդներից է նրա վերականգնումը թիոգլիկոլաթթվի կամ նատրիումի բորհիդրիդի միջոցով (սխեմա 96):

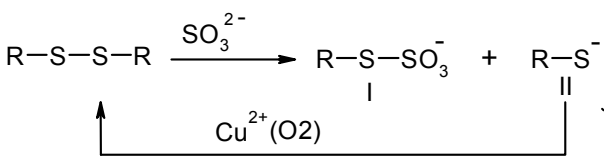
**Սխեմա 96**



Վերականգնման արդյունքում առաջացած լաբիլ SH-խմբերը պետք է պաշտպանել օքսիդացումից: Դա հնարավոր է իրականացնել, օրինակ, վերականգնված սպիտակուցի S-կարբօքսիմեթիլացմամբ (օրինակ՝ յոդքացախաթթվի ազդեցությամբ) կամ S-β-ամինո-էթիլմամբ (օրինակ՝ էթիլենհիմնի ազդեցությամբ):

**S-սուլֆոնապրային մեթոդ:** Համաձայն այս մեթոդի՝ դիսուլֆիդային կապի ճեղքումը իրականացվում է սպիտակուցը սուլֆիտով մշակելու ճանապարհով (սխեմա 97):

**Սխեմա 97**



Օքսիդիչի ներկայությամբ (օրինակ՝ Cu<sup>2+</sup>/O<sub>2</sub>) II միացությունը վերածվում է դիսուլֆիդի, որը կրկին ճեղքվում է սուլֆիտի ազդեցությամբ:

յամբ՝ ամբողջությամբ տրանսֆորմացվելով S-սուլֆոնատի (I): Բոլոր դիսուլֆիդային կապերի ճեղքման համար առաջարկվել է պրոցեսն իրականացնել ցիստեինի կամ β-մերկապտոէթանոլի կատալիտիկ քանակների ներկայությամբ:

Այդ ռեակցիան հաջողությամբ կիրառվել է ինսուլինի, լակտատ-դեհիդրոգենազի, պեպսինոգենի և այլ սպիտակուցների կառուցվածքի պարզաբանման ժամանակ: Մեթոդը համարվում է քանակական և յուրահատուկ: Հաշվի առնելով թթուների նկատմամբ S-SO<sub>3</sub> կապի անկայունությունը՝ չի երաշխավորվում սուլֆիտով մշակված սպիտակուցը (S-սուլֆոպրոտեինը) ենթարկել հետագա թթվային հիդրոլիզի:

Գիսուլֆիդային կապի ճեղքման S-սուլֆոնատային մեթոդի գլխավոր առավելությունը համարվում է ելային սպիտակուցի դիսուլֆիդային կառուցվածքի վերականգնման հնարավորությունը՝ առաջացած S-սուլֆոպրոտեինը ցածրամոլեկուլային թիոլի (օրինակ՝ մերկապտոէթանոլի կամ ցիստեինի) ավելցուկով մշակելու ճանապարհով: Սպիտակուցի դիսուլֆիդային կառուցվածքի վերականգնումը ցածրամոլեկուլային թիոլով S-սուլֆոնատային ածանցյալի վերականգնման ճանապարհով միանշանակ քանակապես է ընթանում, եթե պրոցեսին ավելացվում է նաև սպիտակուցներում դիսուլֆիդային փոխանակման ռեակցիաները ընտրողաբար կատալիզող լյարդից անջատված համապատասխան ֆերմենտը:

**5.2.4. Սպիտակուցի ընկրողական ճեղքումը ֆրագմենտների**

Սպիտակուցի մոլեկուլի բաղադրության մեջ մտնող ամինաթթուների բնույթի և քանակության, ինչպես նաև C- և N-ծայրային ամինաթթվային մնացորդների որոշումից հետո անհրաժեշտ է պարզել շղթայի ամբողջ երկարությամբ ամինաթթուների բաշխման հաջորդականությունը: Երկար պոլիպեպտիդային շղթաներում ամինաթթվային հաջորդականության անմիջական և ճշգրիտ որոշումը կապված է որոշակի դժվարությունների հետ: Խնդրի լուծման համար ընդունված ընդհանուր մոտեցում են համարվում երկար սպիտակուցա-

յին շղթաների կտրտումը ավելի կարճ ֆրագմենտների, նրանց առանձնացումը և ֆրագմենտների ամինաթթվային հաջորդականությունների որոշումը որևէ հայտնի մեթոդով, օրինակ՝ Էդմանի դեգրադացիայի մեթոդով:

Որպեսզի ֆրագմենտների հետազոտմամբ հնարավոր լինի որոշել սպիտակուցի ելային ամինաթթվային հաջորդականությունը, պետք է օգտագործել ֆրագմենտացման այնպիսի մեթոդներ, որոնք նախ կապահովեն պեպտիդային կապերի ճեղքումը սպիտակուցային շղթայի խիստ որոշակի հատվածներում, և երկրորդ՝ կառաջացնեն միևնույն ամինաթթվային հաջորդականությամբ տարբեր ֆրագմենտներ:

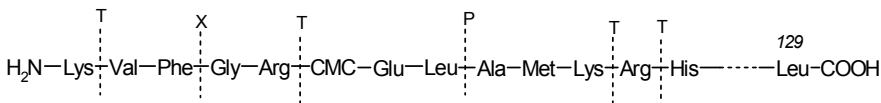
Այդ պայմաններից առաջինը՝ միանշանակությունը կամ յուրահատկությունը, ցանկալի է այն պատճառով, որ հետագա հետազոտման համար պահանջվում է քանակապես անջատել մոլեկուլի առանձին հատվածները, առանձին պեպտիդները: Մոլեկուլի ամբողջ հաջորդականության քառասային, ոչ կանոնակարգված մասնատման դեպքում կստացվեն տարբեր հաջորդականություններով ֆրագմենտներ, որոնց հետազոտումը և արդյունքների համադրումը ելային սպիտակուցի ամինաթթվային հաջորդականության պարզաբանման համար բավական բարդ են:

Երկրորդ պայմանի կատարումը նույնպես ունի սկզբունքային նշանակություն, քանի որ նույնիսկ իմանալով յուրաքանչյուր ֆրագմենտի ամինաթթվային հաջորդականությունը՝ հնարավոր չէ որոշել սպիտակուցային ամբողջական շղթայի լրիվ հաջորդականությունը, որովհետև հայտնի չէ, թե ինչպիսի հաջորդականությամբ էին բաշխված այդ ֆրագմենտները սպիտակուցի ելային մոլեկուլում: Խնդիրը հնարավոր է լուծել միևնույն մոլեկուլից տարբեր եղանակներով ստացված ֆրագմենտների՝ ներառյալ սինթետիկ եղանակով ստացված նույն ֆրագմենտների միաժամանակյա հետազոտմամբ: Բնականաբար, այս բոլորից հետևում է սպիտակուցի պոլիպեպտիդային շղթայի ընտրողական ֆրագմենտացման կարևորությունը:

Սպիտակուցի պոլիպեպտիդային շղթայի ընտրողական ճեղքման հայտնի մեթոդները բաժանվում են երկու խմբի՝ ֆերմենտատիվ և քիմիական:

**Ֆերմենտային ճեղքում:** Լավ արդյունքներ են արձանագրվել պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների դեպքում, օրինակ՝ տրիպսինի, քիմոտրիպսինի և պեպսինի: Հայտնի է, որ *տրիպսինը* քայքայում է սպիտակուցն առավելապես այն պեպտիդային կապերով, որոնք առաջացել են հիմնային ամինաթթուների (արգինին, լիզին) կարբօքսիլային խմբերի մասնակցությամբ, իսկ *քիմոտրիպսինը* հիդրոլիզում է արոմատիկ ամինաթթուների (տրիպտոֆան, քիրոզին, ֆենիլալանին) կարբօքսիլային խմբերի մասնակցությամբ առաջացած պեպտիդային կապերը: *Պեպսինի* սպեցիֆիկությունը ավելի թույլ է արտահայտված, սակայն այն ավելի մոտ է քիմոտրիպսինին:

Ֆերմենտային հիդրոլիզը իրականացվում է 37-40°C ջերմաստիճանի և տվյալ ֆերմենտի համար օպտիմալ pH-ի պայմաններում՝ մի քանի ժամվա ընթացքում: Նկար 35-ում բերված է ձվի սպիտակուցի վերականգնված լիզոցիմի պոլիպեպտիդային շղթայի վրա պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների ազդեցության սխեման (T-տրիպսին, X-քիմոտրիպսին, P-պեպսին, CMC-կարբօքսիմեթիլցիստեին):

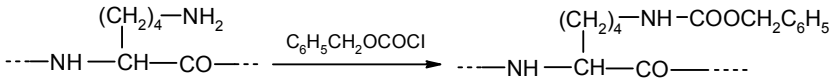


**Նկար 35.** Ձվի սպիտակուցի լիզոցիմի պոլիպեպտիդային շղթայի ընտրողական մասնատումը պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների ազդեցությամբ

Հաճախ անհրաժեշտ է լինում ստանալ ավելի խոշոր ֆրագմենտներ: Այդ նպատակով որոշ ամինաթթուների կողքային ռադիկալի ֆունկցիոնալ խմբերը քիմիապես մոդիֆիկացնում են և դրանով այդ ամինաթթուների առաջացրած պեպտիդային կապերը դարձնում «անճանաչելի» համապատասխան պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների համար: Օրինակ՝ սպիտակուցի պոլիպեպտիդային շղթայում լիզինի

մնացորդի ռադիկալի  $\omega$ -NH<sub>2</sub> խմբի պաշտպանմամբ սահմանափակվում է լիզինի կարբօքսիլային խմբի առաջացրած պեպտիդային կապի հանդեպ տրիպսինի յուրահատկությունը, և ֆերմենտը յուրահատուկ ձևով ճեղքում է միայն արգինինի պեպտիդային կապերը՝ առաջացնելով ավելի խոշոր պեպտիդային ֆրագմենտներ (սխեմա 98):

### Սխեմա 98



Որոշ սպիտակուցներ պարունակում են շղթայի երկար հատվածներ, որոնց բաղադրության մեջ չեն մտնում ոչ հիմնային և ոչ էլ արոմատիկ ամինաթթուներ: Այդ հատվածները չեն քայքայվում տրիպսինի և քիմոտրիպսինի ազդեցությամբ, ինչը դժվարացնում է նման սպիտակուցների կառուցվածքի հետազոտումը: Չնայած նման կարգի սահմանափակումների՝ ֆերմենտային հիդրոլիզը համարվում է սպիտակուցի պոլիպեպտիդային շղթայի սելեկտիվ ֆրագմենտացման հիմնական եղանակը:

**Քիմիական ճեղքում:** Մեղմ պայմաններում (37°C, մի քանի ժամ) սպիտակուցը հիդրոլիզելու դեպքում տեղի է ունենում սպիտակուցային շղթայի մասնակի ճեղքում՝ փոքր պեպտիդային ֆրագմենտների առաջացմամբ: Փորձնական եղանակով պարզվել է, որ սովորաբար հիդրոլիզի վերջում խառնուրդում կուտակվում են մեծ քանակով դիպեպտիդներ:

Մենդժերը ինսուլինի կառուցվածքը պարզելու համար շղթայի ընտրողական ֆրագմենտացման մեթոդի ընտրության ժամանակ որոշ դեպքերում առավելությունը տվել է թթվային հիդրոլիզի մեթոդներին: Դա պայմանավորված է այն հանգամանքով, որ ֆերմենտային ճեղքման ժամանակ ֆերմենտները կարող են կատալիզել պեպտիդի երկրորդային սինթեզի կամ պեպտիդային կապի վերախմբավորման ռեակցիաներ, որոնց հետևանքով կարող են արձանագրվել ոչ ճշգրիտ արդյունքներ: Չնայած դրան՝ սպիտակուցի ընտրողական

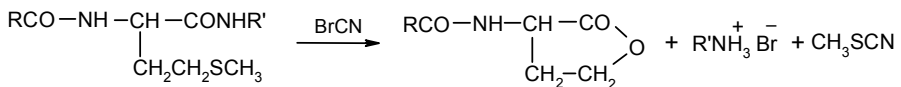
ճեղքման համար առավել շատ են օգտագործվում ֆերմենտային հիդրոլիզի մեթոդները:

Սպիտակուցի առաջնային կառուցվածքի որոշման գործընթացներում քիմիական մեթոդներից առավել գործնական կիրառություն են ստացել բրոմսուկցինիմիդով և բրոմցիանով սպիտակուցային շղթայի ընտրողական ճեղքման մեթոդները:

Համաձայն *N-բրոմսուկցինիմիդային* մեթոդի՝ սպիտակուցը կամ պեպտիդը *N-բրոմսուկցինիմիդով* մշակելու դեպքում ընտրողական ձևով տրոհվում են տրիպտոֆանի առաջացրած պեպտիդային կապերը: Ցույց է տրվել, որ բրոմսուկցինիմիդը ընտրողական ձևով կարող է ճեղքել նաև թիրոզինի առաջացրած պեպտիդային կապը: Ընդ որում՝ սպիտակուցի պոլիպեպտիդային շղթայում տրիպտոֆանի և թիրոզինի համատեղ ներկայության դեպքում բրոմսուկցինիմիդի հետ առաջին հերթին ռեակցում է տրիպտոֆանը, որից հետո՝ թիրոզինը: Փորձնական եղանակով պարզված է, որ միևնույն պայմաններում թիրոզինի առաջացրած պեպտիդային կապի ճեղքման արագությունը մինչև 200 անգամ փոքր է տրիպտոֆանից:

*Բրոմցիան* առաջին անգամ կիրառվել է ռիբոնուկլեազի և պեպսինի կառուցվածքի հետազոտման ժամանակ: Բրոմցիանը 18-20°C ջերմաստիճանում թթվային միջավայրում ընտրողական ձևով ճեղքում է մեթիոնինի կարբօքսիլային խմբի մասնակցությամբ առաջացած պեպտիդային կապը (սխեմա 99):

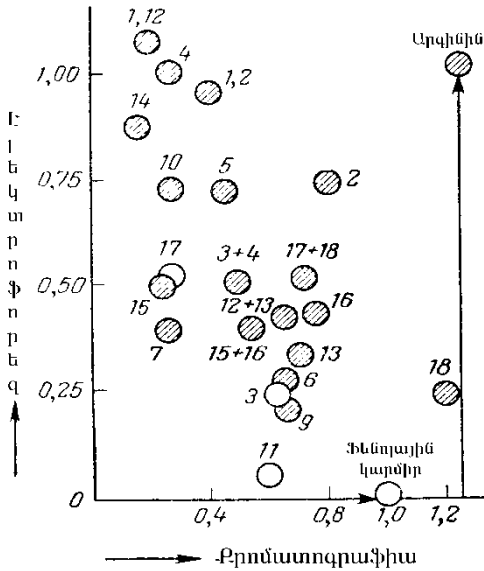
### Սխեմա 99



Ռիբոնուկլեազի կառուցվածքի հետազոտման ժամանակ օգտագործվել է նաև ցիստեինից դեհիդրոալանինի առաջացման ռեակցիան: Լրիվ վերականգնված պանկրեատիկ ռիբոնուկլեազի մոլեկուլը պարունակում է 8 ցիստեինի մնացորդ:



որ: Անջատված յուրաքանչյուր պեպտիդ հետազոտվում է առանձին-առանձին:



**Նկար 36.** Չվի սպիտակուցի լիզոցիմի հիդրոլիզատի պեպտիդային քարտեզը

Ֆրագմենտների ամինաթթվային հաջորդականության որոշման համար առավել հարմար են 4-ից մինչև 6 ամինաթթվային մնացորդներ պարունակող ֆրագմենտները: Դրանց համար հեշտ է որոշել N-և C-ծայրային ամինաթթվային մնացորդները, ինչպես նաև Էդմանի աստիճանական դեգրադացիայի մեթոդով որոշել ամինաթթվային հաջորդականությունը: Խոշոր ֆրագմենտները սովորաբար ծայրային ամինաթթվային մնացորդների որոշումից հետո ճեղքում են ավելի փոքր ֆրագմենտների (մինչև 4-6 ամինաթթուներից կազմված):

Պեպտիդային ֆրագմենտների ամինաթթվային հաջորդականության որոշման համար վերջին ժամանակներս հաջողությամբ կիրառում են մասսպեկտրադիտակային մեթոդը: Այս մեթոդով հիմնակա-



նում պեպտիդային ֆրագմենտները հետազոտվում են N-ացիլացված կամ N-մեթիլացված ածանցյալների տեսքով: Մեթոդի հիմնական առավելությունները համարվում են անալիզի արագընթացությունը (2-3 ժամ) և հետազոտվող նյութի պահանջվող նմուշի չնչին քանակությունը (10 մկգ): Մասսպեկտրադիտակահանման մեթոդի կիրառումը հնարավորություն է տալիս բավականին պարզեցնելու և կատարելազործելու ամինաթթվային հաջորդականության վերծանման ամբողջ գործընթացը՝ սկսած ֆրագմենտների կառուցվածքի հետազոտման փուլից: Ներկայումս հնարավոր է մասսպեկտրադիտակահանման եղանակով անմիջապես հետազոտել բարձրամոլեկուլային սպիտակուցների կառուցվածքը:

## Գլուխ 6. Ֆերմենտներ

**Ֆերմենտներ** կամ էնզիմներ են կոչվում այն յուրահատուկ սպիտակուցները, որոնք օժտված են կատալիտիկ ակտիվությամբ, տարածված են օրգանիզմի բոլոր բջիջներում ու հյուսվածքներում և կատարում են կենսաբանական կատալիզատորների դեր: Նյութերը, որոնք ֆերմենտների ազդեցությամբ ենթարկվում են բազմատեսակ փոխարկումների, կոչվում են **սուբստրատներ**:

Ֆերմենտների բնութագրական առանձնահատկությունը, որով նրանք տարբերվում են սովորական կատալիզատորներից, համարվում է նրանց արտակարգ բարձր ակտիվությունը: Օրինակ՝ կատալիզ ֆերմենտի (որը կատալիզում է ջրածնի պերօքսիդի ճեղքումը մինչև ջրի և ատոմական թթվածնի) մեկ մոլեկուլը ընդունակ է մեկ րոպեի ընթացքում ճեղքել ջրածնի պերօքսիդի մինչև 5 մլ մոլեկուլ: Եթե համեմատենք կատալիզի և  $Fe^{2+}$  իոնի կատալիտիկ ակտիվությունները այդ ռեակցիայում, ապա 1 մգ կատալիզ ֆերմենտին համարժեք է 2 կգ երկաթի իոնը (կատալիզ ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնը պարունակում է  $Fe^{2+}$ ):

Ֆերմենտներն օժտված են բարձր սուբստրատային սպեցիֆիկությամբ, այսինքն՝ յուրաքանչյուր ֆերմենտի ազդեցությունը խիստ սահմանափակվում է մեկ սուբստրատով կամ կառուցվածքով իրար մոտ մի քանի սուբստրատներով:

Ներկայումս հայտնի են 1000-ից ավելի ֆերմենտներ, որոնց գերակշռող մասը անջատված է անհատական, քիմիապես հոմոգեն մաքուր պատրաստուկների տեսքով: Ավելի քան 200 ֆերմենտներ անջատված են բյուրեղական տեսքով, և նրանց կառուցվածքը պարզաբանված է ռենտգենկառուցվածքային անալիզի եղանակով:

Ֆերմենտային պատրաստուկները կիրառություն են գտել տրնտեսության տարբեր ոլորտներում, մասնավորապես բժշկության, դեղագործության, սննդարդյունաբերության, գյուղատնտեսության և այլ բնագավառներում:

Անհրաժեշտ է նշել, որ բույսերն ու կենդանիները ֆերմենտների քանակությամբ, տարատեսակությամբ և ակտիվությամբ չեն կարող

մրցակցել միկրոօրգանիզմների հետ: Հավանաբար, միկրոօրգանիզմների մոտ ֆերմենտները հայտնվում են արտաքին միջավայրի տարբեր պայմաններին նրանց հարմարեցման արդյունքում: Օրինակ՝ հողի միկրոօրգանիզմները կարող են անմիջապես յուրացնել մթնոլորտային ազոտը, իսկ դա նշանակում է, որ նրանց մոտ առկա է համապատասխան ֆերմենտային համակարգը, այն դեպքում, երբ բույսերն ու կենդանիները օժտված չեն ազոտի կենսաբանական ֆիքսման հատկությամբ:

Հայտնի է, որ բազմաթիվ թունավորումներ, վարակիչ հիվանդություններ և կենդանի օրգանիզմում տեղի ունեցող այլ հիվանդագիւն խախտումներ կապված են մեկ կամ մի քանի ֆերմենտների ակտիվությունների արգելակման կամ կենսասինթեզի խախտման հետ: Օրինակ՝ ֆենիլկետոնուրիա հիվանդությունը պայմանավորված է նորածնի օրգանիզմում ֆերմենտի բացակայությամբ, որը կապում է սննդի հետ օրգանիզմ ներմուծվող ֆենիլալանինը, իսկ արյան մեջ ֆենիլալանինի քայքայման արգասիքների կուտակումը խանգարում է ուղեղի նորմալ զարգացմանը:

Վերջին ժամանակներս բազմաթիվ ֆերմենտային պատրաստուկներ լայնորեն կիրառվում են բժշկական պրակտիկայում մի շարք հիվանդությունների թերապիայի, վերքերի ախտազերծման և բուժման, տրոմբների ներծծման, բորբոքային հիվանդությունների բուժման, կլինիկական ախտորոշման և այլ գործընթացներում: Առավել կարևոր է ֆերմենտային պատրաստուկների դերը սրտի, երիկամների և այլ տեսակի չարորակ նորագոյացումների ախտորոշման պրակտիկայում: Օրինակ՝ կրեատինկլինազ ֆերմենտի (պարունակվում է մկանային հյուսվածքներում) քանակության ավելացումը մարդու արյան մեջ սրտի կաթվածից հետո առաջին ժամվա ընթացքում համարվում է որոշիչ տվյալ հիվանդության ախտորոշման ժամանակ: Մեկ այլ օրինակ՝ հիստիդին-ամիակլիազ ֆերմենտը պարունակվում է երիկամներում (այլ օրգաններում կամ հյուսվածքներում այդ ֆերմենտը հայտնաբերված չէ), և հիվանդի արյան մեջ նրա հայտնաբերումը և հիստիդազային ակտիվության մեծացումը վկայում են երիկամների բջիջների լուրջ դեստրուկտիվ փոփոխություններ:

րի մասին, ինչը բնորոշ է վարակիչ հեպատիտին (Բոտկինի հիվանդություն):

Ֆերմենտների ազդեցությամբ սենյակային ջերմաստիճանի և նորմալ մթնոլորտային ճնշման պայմաններում բավականին արագ և քանակական ելքերով են ընթանում այնպիսի ռեակցիաներ, ինչպիսիք են օդի ազոտի կապումը, երկաթի օքսիդներից երկաթի անջատումը, ծծմբի անջատումը ծծմբաջրածնից և այլ ծծումբ պարունակող միացություններից, նավթային ածխաջրածինների փոխարկումները և այլն: Նշված ռեակցիաները սովորական քիմիական կատալիզատորների ազդեցությամբ ընթանում են միայն բարձր ջերմաստիճանների և ճնշումների պայմաններում:

Հետևաբար, արհեստական բազմաֆունկցիոնալ կատալիզատորների սինթեզը, որոնք օժտված կլինեն ֆերմենտներին բնորոշ առանձնահատկություններով և կատալիտիկ ակտիվությամբ, կհանդիսանա «հեղափոխություն» քիմիական տեխնոլոգիայում, ինչով և զբաղվում է վերջին տարիներին կենսամիմետիկ քիմիան: Մասնավորապես վերջերս սինթեզվել են ֆերմենտներին բնորոշ որոշ հատկություններով օժտված պոլիֆունկցիոնալ մետաղակոմպլեքսային կատալիզատորներ, որոնց շնորհիվ արդյունաբերության մեջ ներդրվել են բազմաթիվ կենսաբանորեն և դեղաբանորեն ակտիվ պատրաստուկների արտադրական տեխնոլոգիաները:

### **6.1. Ֆերմենտների դասակարգումը**

Ֆերմենտների բազմազանությունը որոշակի դժվարություններ է առաջացրել նրանց ճիշտ դասակարգման համար: Որոշ հետազոտողներ նոր հայտնաբերված ֆերմենտներին տվել են անվանումներ, որոնք չէին արտացոլում ոչ սուբստրատի և ոչ էլ կատալիզող ռեակցիաների բնույթը, ինչի հետևանքով նույն ֆերմենտը տարբեր աշխատանքներում անվանվում էր տարբեր կերպ: Այդ պատճառով անհրաժեշտություն էր առաջացել մշակել որոշակի համակարգված կանոններ, որոնցով պետք է առաջնորդվեին ֆերմենտների անվանակարգման ժամանակ:

Ֆերմենտների ժամանակակից անվանակարգումը հիմնված է նրանց կողմից կատալիզվող քիմիական փոխարկումների բնույթի վրա: Համաձայն Միջազգային կենսաքիմիական միության ֆերմենտների գծով հանձնաժողովի 1961 թ.-ին կայացրած որոշման՝ բոլոր ֆերմենտները ստորաբաժանվում են 6 խմբի:

1. **Օքսիդառեդուկտազներ**, որոնք կատալիզում են օքսիդավերականգնման ռեակցիաները:

2. **Տրանսֆերազներ**, որոնք կատալիզում են տարբեր քիմիական խմբերի և մնացորդների միջնուկեկուլային տեղափոխությունները:

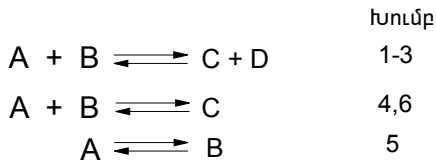
3. **Հիդրոլազներ**, որոնք կատալիզում են ներմուկեկուլային կապերի հիդրոլիտիկ ճեղքման պրոցեսները:

4. **Լիազներ**, որոնք կատալիզում են սուբստրատից ոչ հիդրոլիտիկ ճանապարհով որոշակի խմբերի պոկման ռեակցիաները՝ կրկնակի կապի առաջացմամբ (կամ խմբերի միացումը կրկնակի կապին):

5. **Իզոմերազներ**, որոնք կատալիզում են տարբեր խմբերի կամ կապերի ներմուկեկուլային տեղափոխման ռեակցիաները (իզոմերման ռեակցիաները):

6. **Լիզազներ (կամ սինթետազներ)**, որոնք կատալիզում են երկու մուկեկուլների միացման ռեակցիաները (սինթեզի ռեակցիաները):

Ֆերմենտների ազդեցությամբ կատալիզվող ռեակցիաներն ընդհանուր առմամբ կարելի է ներկայացնել հետևյալ բանաձևերով.



Յուրաքանչյուր խմբի ներսում ֆերմենտները ստորաբաժանվում են ենթախմբերի՝ կախված այն սուբստրատի տեսակից, որոնց հետ նրանք փոխազդում են: Օրինակ՝ օքսիդառեդուկտազները (I դաս)

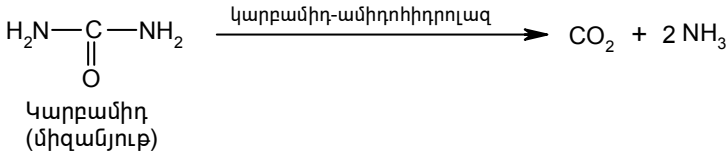
ստորաբաժանվում են ենթադասերի՝ կախված դոնորի մոլեկուլում ռեակցող ֆունկցիոնալ խմբի բնույթից (ապիրտային, կարբոնիլային, ամինային խումբ և այլն): Տրանսֆերազները տարբերվում են տեղափոխող խմբի բնույթով (ալդեհիդային, կետոնային, ացիլային և այլն), հիդրոլազները՝ ըստ հիդրոլիզվող կապի բնույթի (բարդ եթերային, պեպտիդային և այլն), լիազները՝ ըստ ճեղքման ենթարկվող կապի բնույթի (ածխածին-ածխածնային, ածխածին-ազոտային, ածխածին-թթվածնային և այլն), իզոմերազները՝ ըստ իզոմերման ռեակցիայի բնույթի (ռացեմացում, էպիմերում, ցիս-տրանս իզոմերում և այլն), լիզազները՝ ըստ նոր առաջացող կապի բնույթի (ածխածին-ածխածնային, ածխածին-ազոտային, ածխածին-թթվածնային և այլն):

Այդ ենթախմբերը իրենց հերթին ստորաբաժանվում են ենթաենթախմբերի:

Միջազգային հանձնաժողովի որոշմամբ ընդունված է ֆերմենտների անվանակարգման երկու համակարգ՝ **համակարգված** և **տրիվիալ** (աշխատանքային):

**Համակարգված անվանակարգումը** ներառում է տվյալ ֆերմենտի հիմնական սուբստրատի (կամ սուբստրատների) ռացիոնալ քիմիական անվանումը և հստակ բնորոշում է իր կողմից կատալիզող ռեակցիայի էությունը: Համաձայն ընդունված կանոնակարգի՝ ֆերմենտի անվանումը, ըստ սիստեմատիկ անվանակարգման, կազմըվում է երկու մասից. առաջին մասը արտահայտում է սուբստրատի անվանումը (քիմոլեկուլյար ռեակցիաների դեպքում՝ երկու սուբստրատների անվանումները՝ բաժանված իրարից գծիկով), իսկ երկրորդ մասը՝ «ազ» վերջավորությամբ՝ կատալիզող ռեակցիայի բնույթը: Օրինակ՝ կարբամիդ-ամիդոհիդրոլազ, բարբիտուրատ-ամիդոհիդրոլազ, L-լակտատ-ՆԱԳ-օքսիդոռեդուկտազ և այլն: Կարբամիդ-ամիդոհիդրոլազ ֆերմենտի անվանման մեջ առաջին մասը նշանակում է, որ տվյալ դեպքում սուբստրատը համարվում է կարբամիդը (միզանյութը), իսկ երկրորդ մասը ցույց է տալիս, որ տեղի է ունենում ամիդային կապի հիդրոլիզ (սխեմա 101):

## Մխենա 101



**Տրիվիալ անվանակարգումն** ավելի պակաս ստույգ է, սակայն ավելի կարճ է, քան համակարգվածը, ինչի պատճառով այն ավելի հաճախ է օգտագործվում պրակտիկայում և այլ կերպ կոչվում է աշխատանքային:

Նախկինում, երբ դեռ ֆերմենտային ռեակցիաների մեխանիզմները լուրջ հետազոտված չէին, ֆերմենտների անվանումը ընտրվում էր կամայական ձևով, օրինակ՝ պեպսին, տրիպսին, պապաին, քիմոտրիպսին և այլն:

Հետագայում հայտնի ֆերմենտների քանակի մեծացման և ֆերմենտային ռեակցիաների բնույթի բացահայտման հետևանքով էնզիմներն սկսել են անվանել՝ օգտագործելով սուբստրատի անվանումը, ավելացնելով «ազ» վերջավորությունը: Օրինակ՝ միզանյութին (urea) ճեղքող ֆերմենտը անվանվել է ուրեազ, արգինինին՝ արգինազ և այլն: Սակայն, հաշվի առնելով, որ մինևույն նյութի վրա կարող են ազդել մի քանի ֆերմենտներ, կատալիզելով տարբեր փոխարկումներ, հետագայում ֆերմենտի անվանման մեջ սկսել են ավելացնել ֆերմենտային ռեակցիայի անվանումը, օրինակ՝ պոլիֆենոլօքսիդազ, լակտատդեհիդրոգենազ, ադենինդեզամինազ և այլն:

Այն դեպքում, երբ սուբստրատը ռեակցիային մասնակցում է անիոնի տեսքով, ֆերմենտի անվանման ժամանակ նշվում է անիոնիանունը՝ ավելացնելով «ատ» վերջավորությունը և ոչ թե համապատասխան ազատ թթվի անվանումը, օրինակ՝ լակտատդեհիդրոգենազ և ոչ թե կաթնաթթվի դեհիդրոգենազ:

Ֆերմենտների նախորդների անվանակարգման ժամանակ Միջազգային հանձնաժողովը երաշխավորում է ֆերմենտի անվանմանն ավելացնել «պրե» նախածանցը և ոչ թե «պրո» նախածանցը

կամ «ոգեն» վերջածանցը, ինչպես դա արվում էր նախկինում: Սակայն ֆերմենտների նախորդների անվանակարգման պրակտիկայում հաճախ օգտագործվում են «պրո» նախածանցը և «ոգեն» վերջածանցը, օրինակ՝ «պրոտոմբին» կամ «տրիպսինոգեն»:

## 6.2. Ֆերմենտների կառուցվածքը

Ֆերմենտներն իրենցից ներկայացնում են կամ պարզ սպիտակուցներ (միաբաղադրիչ ֆերմենտներ) կամ էլ բարդ սպիտակուցներ՝ պրոտեիններ (երկ- և բազմաբաղադրիչ ֆերմենտներ): Ի տարբերություն ոչ ակտիվ սպիտակուցների՝ ֆերմենտներն իրենց կառուցվածքում պարունակում են հատուկ հատված, որը կոչվում է **ակտիվ կենտրոն**:

Միաբաղադրիչ ֆերմենտները կազմված են բացառապես ամինաթթվային մնացորդներից, օրինակ՝ պեպտիդոհիդրոլազները (տրիպսինը, քիմոտրիպսինը, պեպսինը, պապաինը), ռիբոնուկլեազը, ուրեազը և այլն: Երկ- և բազմաբաղադրիչ ֆերմենտների դասին են պատկանում այն ֆերմենտները, որոնք իրենց կառուցվածքում, բացի սպիտակուցային բաղադրիչից, պարունակում են նաև ոչ սպիտակուցային հատված, որը կարող է լինել օրգանական մոլեկուլ, մետաղի իոն կամ մետաղի իոնի հետ համակցված օրգանական մոլեկուլ: Ֆերմենտի ոչ սպիտակուցային հատվածը կոչվում է **կոֆերմենտ** կամ պրոստետիկ խումբ: Իսկ բարդ ֆերմենտների սպիտակուցային բաղադրիչը կոչվում է **սպոֆերմենտ**: Բազմաբաղադրիչ ֆերմենտների կոֆերմենտը (կամ պրոստետիկ խումբը) սովորաբար մտնում է ակտիվ կենտրոնի բաղադրության մեջ:

Ֆերմենտների մոլեկուլային զանգվածը տատանվում է բավականին լայն մարզում՝ 14.000-1.000.000: Յուրաքանչյուր ֆերմենտի համար բնութագրական են որոշակի ամինաթթվային բաղադրությունը, ամինաթթվային հաջորդականությունը և տարածական կառուցվածքը, ինչով այն տարբերվում է այլ ֆերմենտներից: Բյուրեղական ֆերմենտների գերակշռող մասի համար որոշված է ամինաթթվային բաղադրությունը, և հայտնի են ծայրային ամինաթթվային մնացորդ-



ները, իսկ ավելի լավ հետազոտված ֆերմենտների համար գրեթե ամբողջությամբ հաստատված է նաև պեպտիդային շղթայի ամինաթթվային հաջորդականությունը (տրիպսին, քիմոտրիպսին, պեպսին, պապաին, ռիբոնուկլեազ, լիզոցին, ցիտոքրոմ C և այլն):

Որոշ դեպքերում ֆերմենտի մոլեկուլը կազմված է մի քանի բաղադրիչներից: Օրինակ՝ գլիցերալդեհիդֆոսֆատդեհիդրոգենազի դեպքում առանձին բաղադրիչներն օժտված չեն ֆերմենտային ակտիվությամբ, և միայն մի քանի բաղադրիչներից կազմված բարդ մոլեկուլն է ընդունակ գործել որպես ֆերմենտ: Այլ դեպքերում բաղադրիչը կարող է լինել ակտիվ, օրինակ՝ տրիպտոֆանսինթետազի մոլեկուլը կազմված է երկու բաղադրիչներից, որոնցից յուրաքանչյուրն օժտված է սեփական ֆերմենտային ակտիվությամբ, որոնք տարբերվում են տրիպտոֆանսինթետազի ակտիվությունից: Այդ երկու բաղադրիչների միացման արգասիք մակրոմոլեկուլը ցուցաբերում է տրիպտոֆանսինթետազային ակտիվություն:

### **6.3. Իզոֆերմենտներ**

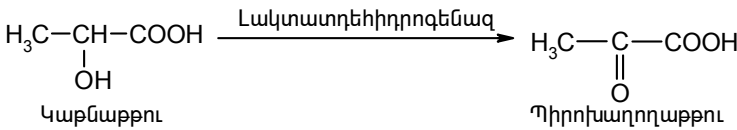
Իզոֆերմենտների շարքին են դասվում այն ֆերմենտները, որոնք կատալիզում են միևնույն ռեակցիան, օժտված են նույն սուբստրատային սպեցիֆիկությամբ, սակայն տարբերվում են իրարից որոշ ֆիզիկաքիմիական հատկություններով: Օրինակ՝ մարդու թքագեղձից և ենթաստամոքսային գեղձից անջատված  $\alpha$ -ամիլազ-ֆերմենտները կատալիզում են միևնույն ռեակցիան, սակայն տարբերվում են իրարից լուծելիությամբ, օպտիմալ pH-ի արժեքով և այլ հատկություններով:

Իզոֆերմենտները իրարից կարող են տարբերվել ամինաթթվային բաղադրությանը և հաջորդականությանը, ինհիբիտորների և ակտիվատորների նկատմամբ զգայունությամբ, ջերմակայունությամբ և այլ հատկություններով:

Իզոֆերմենտներն իրարից կարելի է բաժանել էլեկտրաֆորեզի, գել-ֆիլտրման, իոնափոխանակային քրոմատոգրաֆիայի և այլ մեթոդներով: Առաջին անգամ իզոֆերմենտ հայտնաբերվել է լակտատ-

դեհիդրոգենազի հատկությունների էլեկտրաֆորետիկ հետազոտման ժամանակ: Մարդու տարբեր հյուսվածքներում և օրգաններում հայտնաբերվել են լակտատդեհիդրոգենազի հինգ իզոֆերմենտներ՝ LD<sub>1</sub>, LD<sub>2</sub>, LD<sub>3</sub>, LD<sub>4</sub> և LD<sub>5</sub>: Դրանք կատալիզում են միևնույն ռեակցիան՝ կաթնաթթվի օքսիդացումը մինչև պիրուվատի (սխեմա 102), սակայն միմյանցից տարբերվում են ամինաթթվային կազմով, ջերմակայունությամբ, ինհիբիտորների նկատմամբ զգայունությամբ, էլեկտրաֆորետիկ և քրոմատոգրաֆիական շարժունակությամբ:

### Սխեմա 102



Ընդ որում՝ LD<sub>1</sub> սիմվոլով նշանակվել է իզոֆերմենտը, որը բնութագրվում է առավել էլեկտրաբացասական լիցքով, և դեպի անոդ-էլեկտրաֆորետիկ շարժունակությամբ:

Հետաքրքիր է նշել, որ միևնույն աղբյուրից անջատված լակտատդեհիդրոգենազի բոլոր իզոֆերմենտները ունեն նույն մոլեկուլային զանգվածը (M=135.000), սակայն բավականին տարբերվում են իրարից ամինաթթվային կազմով: Օրինակ՝ առնետի սրտից անջատված LD<sub>1</sub>-ը, ի տարբերություն առնետի մկաններից անջատված LD<sub>5</sub>-ի, պարունակում է ավելի շատ թթվային ամինաթթուներ, քան հիմնային (հաշված մոլերով 1 մոլ ֆերմենտի համար):

LD<sub>1</sub> (*առնետի սրտից*)-----138 (Asp) 89 (Lys)

LD<sub>5</sub> (*առնետի մկաններից*)-----118 (Asp) 100 (Lys)

Այդ տարբերությունն իր հերթին բնորոշում է իզոֆերմենտների ֆիզիկաքիմիական հատկությունների տարբերությունը:

Իզոֆերմենտները տարածված են օրգանիզմի տարբեր օրգաններում, օրինակ՝ LD<sub>1</sub> և LD<sub>2</sub> իզոֆերմենտները հայտնաբերվել են սրտում, էրիթրոցիտներում և երիկամներում, LD<sub>3</sub>-ը՝ ենթաստամոքսային գեղձում, վահանաձև գեղձում, մակերիկամում և լիմֆատիկ ուղիներում, իսկ LD<sub>4</sub> և LD<sub>5</sub>-ը՝ փայծաղում և մկաններում:

#### 6.4. Ֆերմենտի ակտիվության միավորները, ակտիվության որոշման մեթոդները

Ֆերմենտի ակտիվության չափանիշը համարվում է նրա կողմից կատալիզվող ռեակցիայի արագությունը, ինչը որոշվում է սուբստրատի ծախսման կամ ռեակցիայի արգասիքի կուտակման արագությամբ: Ֆերմենտի ակտիվության որոշման ժամանակ պետք է չափել սուբստրատի սկզբնական փոխարկման արագությունը և ոչ թե որոշակի ժամանակահատվածում սուբստրատի փոխարկված քանակությունը: Այդ դեպքում ֆերմենտի ազդեցությամբ փոխարկված սուբստրատի քանակությունը պետք է համարել համարժեք ֆերմենտի քանակությանը:

Ֆերմենտի ակտիվության գնահատման համար Կենսաքիմիկոսների միջազգային հանձնաժողովի կողմից ընդունվել է ֆերմենտի **ակտիվության ստանդարտ միավոր (E)**: Ակտիվության ստանդարտ միավոր (E) ընդունված է համարել ֆերմենտի այն քանակությունը, որը ընդունակ է կատալիզել 1 միկրոմոլ սուբստրատի ամբողջական փոխարկումն արգասիքի 1 թուպեի ընթացքում՝ տվյալ ֆերմենտի համար օպտիմալ պայմաններում: Ֆերմենտների ակտիվության արտահայտման համար սովորաբար օգտագործում են հետևյալ միավորները՝ միկրոմիավոր (**mkE**), նանոմիավոր (**nE**) և պիկոմիավոր (**pE**), որոնք արտահայտում են մեկ թուպեում համապատասխանաբար  $10^{-6}$ ,  $10^{-9}$  և  $10^{-12}$  մոլ սուբստրատի փոխարկումները արգասիքի:

1973 թ.-ին առաջարկվել է ֆերմենտի ակտիվության արտահայտման համար օգտագործել նոր միավոր՝ **կատալ (Kat)**: Կատալը համապատասխանում է կատալիզատորի այն քանակությանը, որն ընդունակ է 1 մոլ սուբստրատը 1 վայրկյանում փոխարկել արգասիքի: Ֆերմենտի ակտիվության Kat և E միավորների հարաբերությունը հետևյալն է՝  $1 \text{ kat} = 1 \text{ մոլ սուբստրատ } \times \text{վրկ}^{-1} = 60 \text{ մոլ } \times \text{րոպե}^{-1} = 60 \times 10^6 \text{ մկմոլ } \times \text{րոպե}^{-1} = 6 \times 10^7 \text{ E}$ , կամ  $1 \text{ E} = 1 \text{ մկմոլ } \times \text{րոպե}^{-1} = 1/60 \text{ մկմոլ } \times \text{վրկ}^{-1} = 1/60 \text{ mkKat} = 16,67 \text{ nKat} = 16670 \text{ pKat}$ :

Ֆերմենտային պատրաստուկի մաքրության աստիճանի որոշման ժամանակ անհրաժեշտ է հաշվարկել ֆերմենտի **տեսակարար ակտիվությունը**, որը բնութագրում է հետազոտվող նյութում ֆերմենտի պարունակությունը: Տեսակարար ակտիվությունը ֆերմենտային պատրաստուկի չոր նյութի զանգվածի մեկ միավորի ակտիվությունն է, և այն արտահայտվում է 1 մգ չոր սպիտակուցում ակտիվության միավորի արժեքով, իսկ լուծույթում՝ 1 մլ հեղուկի ծավալում ակտիվության միավորի արժեքով:

Ֆերմենտի ակտիվության որոշման համար օգտագործվում են մի շարք մեթոդներ:

1. *Քիմիական մեթոդ*: Իրականացվում է սուբստրատի կամ ֆերմենտային ռեակցիայի արդյունքում առաջացած արգասիքների քանակական որոշումը՝ տարբեր քիմիական ռեագենտների միջոցով:

2. *Սպեկտրալուսաչափական մեթոդ*: Որոշվում է ֆերմենտային ռեակցիայի արագությունը որոշակի բնութագրական ալիքի երկարության տակ՝ սուբստրատի կամ ֆերմենտային ռեակցիայի արդյունքում առաջացած արգասիքի էլեկտրոնային կլանումների փոփոխությամբ: Այս մեթոդը լայն կիրառություն է ստացել, օրինակ՝ օքսիդառեդուկտազների ակտիվության որոշման պրակտիկայում:

3. *Մանոմետրիկ եղանակ*: Չափվում է ֆերմենտային ռեակցիայի արդյունքում անջատված գազի քանակը: Այս մեթոդը կոչվում է Վար Բուրգի մեթոդ և կիրառվում է, օրինակ, օքսիդազների (ըստ կլանված թթվածնի քանակի) կամ դեկարբօքսիլազների (ըստ անջատված ածխաթթու գազի քանակի) ակտիվության որոշման պրակտիկայում:

4. *Պոլյարիմետրիկ մեթոդ*: Որոշվում է ֆերմենտային ռեակցիայի արդյունքում օպտիկական պտույտի արժեքի փոփոխությունը:

5. *Քրոմատոգրաֆիական մեթոդ*: Իրականացվում է սուբստրատի կամ ֆերմենտային ռեակցիայի արդյունքում առաջացած արգասիքների քանակական անալիզ քրոմատոգրաֆիական տարբեր մեթոդների կիրառմամբ:

## 6.5. Ֆերմենտների ակտիվ կենտրոնի կառուցվածքը

Բազմաթիվ հետազոտությունների արդյունքում հաստատվել է, որ ինչպես պարզ, այնպես էլ բարդ կենսակատալիտիկ պրոցեսներում ֆերմենտային ռեակցիային մասնակցում է ֆերմենտի ոչ թե ամբողջ սպիտակուցային մոլեկուլը, այլ նրա առանձին հատվածը, որն էնզիմալոգիայում անվանում են ֆերմենտի ակտիվ կենտրոն:

**Ակտիվ կենտրոնն** իրենից ներկայացնում է ֆերմենտի մոլեկուլի այն հատվածը, որին միանում է սուբստրատը, և որից կախված է մոլեկուլի ֆերմենտային հատկությունը: Ակտիվ կենտրոնն է պայմանավորում ֆերմենտի կատալիտիկ ակտիվությունը և սպեցիֆիկությունը: Հետևաբար, ակտիվ կենտրոնը պետք է իրենից ներկայացնի որոշակի աստիճանի բարդությամբ կառուցվածք, որը լավ հարմարեցված է սուբստրատի մոլեկուլի հետ արդյունավետ շփվելու և փոխազդելու համար:

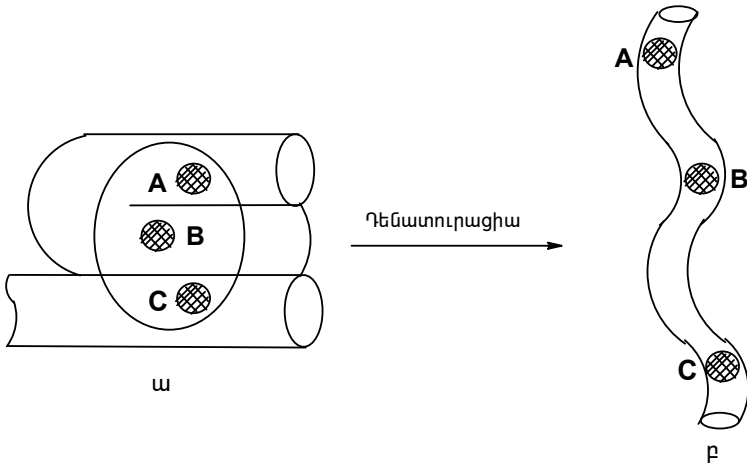
Ակտիվ կենտրոնում գտնվող ֆունկցիոնալ խմբերը բաժանվում են երկու հատվածի՝ **ակտիվ հատված** (խմբեր, որոնք անմիջապես մասնակցում են կատալիտիկ ակտին) և **կոնտակտային հատված** (խմբեր, որոնք անմիջապես չեն մասնակցում կատալիտիկ ակտին, սակայն նպաստում են դրան՝ ստեղծելով յուրահատուկ վերախմբավորումներ ակտիվ հատվածի շուրջը):

Ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի չափերը բավականին փոքր են սպիտակուցային մասի չափերից: Հետևաբար, սուբստրատի հետ սպիտակուց-ֆերմենտի անմիջական շփման մարզում գտնվում է ֆերմենտի մոլեկուլի համեմատաբար չնչին հատվածը: Ֆերմենտի սպիտակուցային մոլեկուլի մնացած հատվածը, հավանաբար, որոշիչ դեր է կատարում ֆերմենտի մակրոկառուցվածքի կայունացման, կենսասինթեզի պրոցեսում ֆերմենտի կազմավորման գործընթացում:

Ֆերմենտ-սպիտակուցի մեկ մոլեկուլում կարող են լինել մի քանի ակտիվ կենտրոններ, որոնք ազդում են մեկը մյուսից անկախ: Օրինակ՝ փայծաղի ալկահոլդեհիդրոգենազը (մոլային զանգվածը՝ 84.000) պարունակում է 2 ակտիվ կենտրոն, իսկ խմորիչներից ան-

ջատված ալկահոլդեհիդրոգենազը (մոլ. զանգվածը՝ 150.000)՝ 4 ակտիվ կենտրոն:

Պարզ միաբաղադրիչ ֆերմենտների մոտ ակտիվ կենտրոնի մեջ մտնող ֆունկցիոնալ խմբերը գծային պոլիպեպտիդային շղթայում գտնվում են բավականին հեռու իրարից և ֆերմենտի մակրոկառուցվածքում պեպտիդային շղթայի ճկունության շնորհիվ տարածապես իրար այնքան են մոտենում, որ կարողանում են միմյանց ակտիվացնել և կազմավորել ակտիվ կենտրոն (*Դիքսոնի մոդել*) (նկար 37):



**Նկար 37.** Ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի հնարավոր կառուցվածքն ըստ Դիքսոնի (**ա**), դենատուրացված (ինակտիվացված) ֆերմենտ (**բ**) (*A, B և C - ակտիվ կենտրոնի ֆունկցիոնալ խմբերը*)

Բարդ բազմաբաղադրիչ ֆերմենտների դեպքում ակտիվ կենտրոնի կազմի մեջ մտնում են մոլեկուլի ոչ սպիտակուցային հատվածը (կոֆերմենտը կամ պրոստետիկ խումբը) և պոլիպեպտիդային շղթայի հատուկ հատվածը: Օրինակ՝ դեհիդրոգենազների և ամինատրանսֆերազների դեպքում, որոնք պարունակում են միևնույն պրոստետիկ խումբը, ֆերմենտի սպեցիֆիկությունը որոշվում է նրա սպիտակուցային բաղադրիչի՝ ապոֆերմենտի բնույթով:

Ինչպես և մյուս սպիտակուցները, ֆերմենտները նույնպես հեշտությամբ դենատուրացվում են նույնիսկ բավականին թույլ արտաքին գործոնների ազդեցությամբ: Հայտնի է, որ սպիտակուցների դենատուրացման ժամանակ տեղի է ունենում երկրորդային, երրորդային և չորրորդային կառուցվածքների փոփոխություն: Այդ դեպքում ակտիվ կենտրոնի ֆունկցիոնալ խմբերը հեռանում են իրարից, և ֆերմենտը կորցնում է իր ակտիվությունը: Հետևաբար, ֆերմենտային ակտիվությունը պայմանավորված է պոլիպեպտիդային շղթայի խիստ որոշակի տարածական դասավորվածությամբ, այսինքն՝ սպիտակուցային մոլեկուլի յուրահատուկ մակրոկառուցվածքով:

Սուբստրատը, միանալով ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնին, հաճախ պաշտպանում է նրան դենատուրացումից, քանի որ սուբստրատի մոլեկուլը կարծես թե ձգտում է պահպանել սպիտակուց-ֆերմենտի երրորդային մակրոկառուցվածքը:

Անհրաժեշտ է նշել, որ որոշ ֆերմենտներ տարբեր արտաքին ազդեցությունների նկատմամբ կայուն են և պահպանում են իրենց ֆերմենտային ակտիվությունը: Օրինակ՝ տրիպսինը, քիմոտրիպսինը և ռիբոնուկլեազը կայուն են pH-ի ցածր արժեքների տակ (օրինակ՝ pH=2), տրիպսինը, պապաինը և պեպսինը պահպանում են իրենց ակտիվությունը միզանյութով ազդելու դեպքում, իսկ ռիբոնուկլեազը և լիզոցիմը կայուն են թերմիկ դենատուրացման նկատմամբ:

Դարձելի դենատուրացման դեպքում վերականգնվում են պոլիպեպտիդային շղթայի ելային խիստ որոշակի մակրոկառուցվածքը և հետևաբար նաև ֆերմենտի կատալիտիկ ակտիվությունը: Օրինակ՝ միզանյութի լուծույթում թիոգլիկոլաթթվի ազդեցությամբ ռիբոնուկլեազի երրորդային կառուցվածքի խախտումը 4 դիսուլֆիդային կապերի վերականգնմամբ բերում է ֆերմենտի լրիվ ինակտիվացմանը: Սակայն թթվածնով սուլֆիդիդրիլային խմբերի հետագա օքսիդացումը բերում է ֆերմենտի կատալիտիկ ակտիվության լրիվ վերականգնմանը, այսինքն՝ ռեզեներացվում է ֆերմենտի սպիտակուցային շղթայի ելային մակրոկառուցվածքը, քանի որ դիսուլֆիդային կապերը նորից առաջանում են շղթայի նույն հատվածներում, ինչ նատիվ սպիտակուցի մոտ:

## 6.6. Ֆերմենտների ակտիվ կենտրոնի ֆունկցիոնալ խմբերը

Ֆերմենտների ակտիվ կենտրոնի կառուցվածքի պարզաբանումը և նրա մեջ մտնող ֆունկցիոնալ խմբերի նույնականացումը կապված են լուրջ դժվարությունների հետ և պահանջում են երկարատև հետազոտություններ: Սակայն մի շարք դեպքերում հաջողվել է պարզաբանել ակտիվ կենտրոնի մեջ մտնող ֆունկցիոնալ խմբերի բնույթը: Տարբեր ֆերմենտների ակտիվ կենտրոններում հայտնաբերվել են ցիստեինի սուլֆիհիդրիլային, սերինի հիդրօքսիմեթիլային, հիստիդինի իմիդազոլային, լիզինի  $\epsilon$ -ամինո, ասպարազինաթթվի և գլուտամինաթթվի կարբօքսիլային և այլ խմբեր: Այդ ֆունկցիոնալ խմբերի հատկությունների ուսումնասիրումը հնարավորություն կտա ավելի հստակ պատկերացում կազմելու նրանց դերի մասին և հասկանալու նրանց ազդեցության մեխանիզմը:

**Ցիստեինի սուլֆիդրիլային խումբը:** Որոշ ֆերմենտների կատալիտիկ ակտիվությունը արգելակվում է նրանց կառուցվածքում պարունակվող ցիստեինի մնացորդների սուլֆիդրիլային խմբերի շրջափակման դեպքում: Այդպիսի ֆերմենտները կոչվում են թիոլային ֆերմենտներ, օրինակ՝  $\alpha$ -ամիլազը, պապաինը, ալդոլազը, որոշ դեհիդրոգենազներ և այլն:

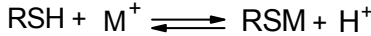
Սուլֆիդրիլային խումբն օժտված է բարձր ռեակցիոնունակությամբ: Շնորհիվ ծծմբի ատոմի ազատ էլեկտրոնային զույգի՝ այն կարող է հեշտությամբ փոխազդել համեմատաբար թույլ էլեկտրոֆիլ ազենտների հետ: Դրանով են պայմանավորված բազմաթիվ քիմիական ռեակցիաներ, որոնք ընթանում են սուլֆիդրիլային խմբի մասնակցությամբ՝ ացիլման, ալկիլման, ֆոսֆորիլացման, օքսիդացման, մերկապտիդների և ջրածնական կապերի առաջացման և այլն: Առավել կարևոր է սուլֆիդրիլային խմբի դերը ֆերմենտի բարդ մակրոկառուցվածքի կազմավորման և ֆերմենտային կատալիզի պրոցեսներում:

pH-ի ֆիզիոլոգիական արժեքի (7,4) պայմաններում սուլֆիդրիլային խումբը կարող է փոխազդեցության մեջ մտնել մետաղի իոններ-



րի հետ: Հատկապես SH խմբի հանդեպ բարձր խնամակցությամբ են օժտված միավալենտ  $Au^+$ ,  $Hg^+$ ,  $Ag^+$ ,  $Cu^+$  և երկվալենտ  $Hg^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  իոնները, որոնք առաջացնում են մերկապտիդներ (սխեմա 103):

### Սխեմա 103

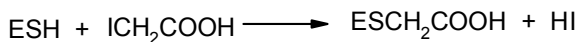
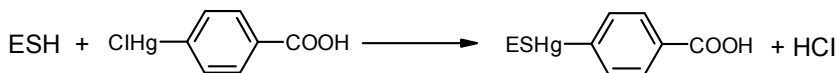


Մերկապտիդների առաջացման հեշտությունը (կամ ցիստեինի SH-խմբի թթվայնությունը) կախված է մոտակա էլեկտրոնասկցեպտոր ֆունկցիոնալ խմբերի ազդեցությունից: Մերկապտիդային կապերը լուրջ դեր են խաղում որոշ ֆերմենտների (գլուտամատդեհիդրոզենազ, ակահոլդեհիդրոզենազ և այլն) մակրոմոլեկուլային կառուցվածքների պահպանման գործում: Օրինակ՝ ակահոլդեհիդրոզենազի դեպքում  $Zn^{2+}$  իոնները մերկապտիդային կապերով կապում են ֆերմենտի առանձին բաղադրիչները՝ առաջացնելով կատալիտիկ ակտիվություն (չորրորդային կառուցվածք):

Ցիստեինի սուլֆիդիլային խումբն ընդունակ է առաջացնել դիսուլֆիդային (կովալենտային) և ջրածնական կապեր, որոնք նույնպես մասնակցում են ֆերմենտի մակրոկառուցվածքի կազմավորման և պահպանման գործընթացներին: Սուլֆիդիլային խմբի պրոտոնի հաշվին ջրածնական կապառաջանալու դեպքում մեծանում է ծծմբի ատոմի շուրջը էլեկտրոնային խտությունը, ինչը բերում է նրա նուկլեոֆիլության մեծացմանը: Բացի դրանից՝ ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնում սուլֆիդիլային խումբն ակտիվանում է մակրոկառուցվածքում հարևան ֆունկցիոնալ խմբերի ազդեցությամբ, օրինակ՝ հիստիդինի իմիդազոլային կամ կարբօքսիլային խմբերով:

Ֆերմենտային կատալիզում SH-խմբի դերը պարզելու և ֆերմենտի մոլեկուլում նրա քանակության որոշման համար օգտագործում են սնդիկի օրգանական միացություններ (ք-քլորմերկուրիբենզատ, ֆենիլմերկուրիացետատ, մեթիլմերկուրիոդիդ և այլն), ինչպես նաև յոդացետատ և բրոմացետատ: Այդ միացությունները փոխազդում են ֆերմենտի SH-խմբերի հետ և շրջափակում են նրանց (սխեմա 104):

### Սխեմա 104



ESH - ֆերմենտ

Նշված ռեագենտների ազդեցությամբ տեղի են ունենում SH-խմբերի շրջափակում և ֆերմենտի ինակտիվացում: Սակայն ֆերմենտային ակտիվության անկումը դեռ չի նշանակում, որ SH-խումբը գտնվում է ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնում, քանի որ այդ խմբերը մասնակցում են նաև ֆերմենտի մակրոկառուցվածքի պահպանմանը: SH-խմբերի շրջափակման դեպքում ֆերմենտի մակրոկառուցվածքի խախտումը կարող է բերել նրա ակտիվ կենտրոնի կոնֆորմացիայի փոփոխության և հետևաբար նաև ակտիվության անկման:

Ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնում սուլֆհիդրիլային խմբի առկայությունը ստուգելու համար իրականացվում են հետազոտություններ սուլֆատրատի, կոֆերմենտի կամ նրանց ածանցյալների ներկայությամբ, որոնք պաշտպանում են ակտիվ կենտրոնի SH-խումբը շրջափակող ռեագենտների ազդեցությունից: Իրոք, սուլֆատրատի կամ կոֆերմենտի ներկայությամբ ֆերմենտը *p*-քլորմերկուրիքենոգատտոլ տիտրելու դեպքում նվազում է տիտրվող խմբերի քանակը (տիտրվում են միայն ապոֆերմենտում գտնվող SH-խմբերը):

Ինչպես հետևում է վերոհիշյալից, սուլֆհիդրիլային խումբը ֆերմենտային կատալիզում կատարում է բազմատեսակ ֆունկցիաներ: Բազմաթիվ ֆերմենտների ակտիվությունը պայմանավորված է նրանց կառուցվածքում SH-խմբերի առկայությամբ, օրինակ՝ պապահինի, դեհիդրոգենազի, կրեատինկինազի և այլն: Դրանք անմիջապես մասնակցում են ֆերմենտի և սուլֆատրատի փոխազդեցությանը՝ առաջացնելով միջանկյալ ացիլթիոէթերներ, ինչպես նաև կարող են իրականացնել ֆերմենտի և սուլֆատրատի միջև կապը՝ գտնվելով ակտիվ կենտրոնի կոնտակտային մարզում: Բացի դրանից՝ հայտնի են ֆերմենտներ, որոնց ակտիվացման համար անհրաժեշտ են կոֆեր-

մենտներ, որոնք պարունակում են սուլֆիդիդիլային խումբ, օրինակ՝ կոէնզիմ A կոֆերմենտը: Եվ վերջապես, սուլֆիդիդիլային խմբերը որոշիչ դեր են կատարում ֆերմենտի մակրոկառուցվածքի պահպանման գործընթացում:

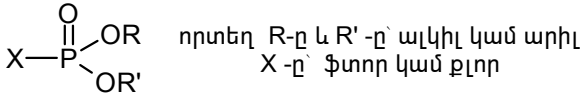
**Սերինի հիդրօքսիլային խումբը:** Պարզված է, որ սերինի մնացորդը մտնում է մի շարք կարևոր ֆերմենտների ակտիվ կենտրոնի կազմի մեջ, օրինակ՝ տրիպսինի, քիմոտրիպսինի, տրոմբինի, կարբոնաթթուների էսթերների հիդրոլազների, ագետիլխոլինհիդրոլազների և այլն:

Ազատ սերինի հիդրօքսիլային խումբը այլ առաջնային սպիրտային խմբերի նման քիմիապես քիչ է ակտիվ: Սակայն այն որոշիչ ազդեցություն է գործում սպիտակուցային շղթայում սերինի մնացորդի հարևանությամբ գտնվող հատվածի վրա, ինչի արդյունքում նրան մոտ բաշխված պեպտիդային կապը դառնում է քիչ կայուն և հեշտությամբ խզվում է թթվային հիդրոլիզի ժամանակ:

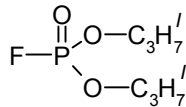
Սերինի մնացորդի հիդրօքսիլային խումբը հեշտությամբ առաջացնում է ջրածնական կապեր, որոնք անհրաժեշտ են ֆերմենտի կատալիտիկ ակտիվ մակրոկառուցվածքի պահպանման համար:

Ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնում սերինի մնացորդի հիդրօքսիլային խմբի ակտիվությունը կախված է այլ ֆունկցիոնալ խմբերից, որոնք տարածապես մոտ են բաշխված սերինի մնացորդի հիդրօքսիլային խմբին և նրա հետ փոխազդեցության մեջ են մտնում (ջրածնական կապերի առաջացում, արտաքին ինդուկտիվ էֆեկտ): Այդպիսի խմբերի դերում կարող են հանդես գալ հիստիդինի մնացորդի իմիդազոլային օղակը կամ հարևան կարբօքսիլային խմբերը, որոնք կարող են մեծացնել սերինի մնացորդի հիդրօքսիլային խմբի ջրածնի ատոմի շարժունակությունը: Ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի սերինի մնացորդի հիդրօքսիլային խումբն ընդունակ է մասնակցել ալկիլման և արիլման ռեակցիաների, ինչով և բացատրվում է նրա մասնակցությունը ֆոսֆորական խմբերի տեղափոխման ռեակցիաներին:

Ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնում սերինի մնացորդի հայտնաբերման համար, որպես ռեագենտ, օգտագործում են ֆոսֆորօրգանական միացություններ՝ հետևյալ ընդհանուր բանաձևով.

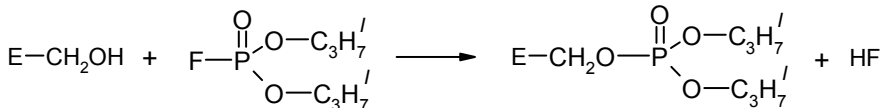


Այդ ռեագենտները, սպեցիֆիկ ձևով փոխազդելով սերինի հիդրօքսիլային խմբի հետ, հնարավորություն են տալիս որոշելու նրա առկայությունը ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնում: Նշված դասի ռեագենտներից էնզիմալոգիական հետազոտություններում առավել հաճախ են օգտագործում դիհոպրոպիլֆտորֆոսֆատը.



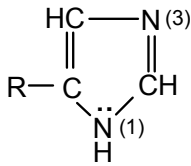
Փոխազդելով ակտիվ կենտրոնի սերինի մնացորդի հիդրօքսիլային խմբի հետ՝ դիհոպրոպիլֆտորֆոսֆատը ոչ դարձելի ձևով կապվում է ֆերմենտին և այն լրիվ ինակտիվացնում (սխեմա 105):

### Սխեմա 105



**Հիստիդինի իմիդազոլային խումբը:** Հիստիդինի իմիդազոլային խումբը մտնում է մի շարք ֆերմենտների ակտիվ կենտրոնների կառուցվածքի մեջ, օրինակ՝ տրիպսինի, քիմոտրիպսինի, ռիբոնուկլեազի, ացիլխոլինիդրոլազի, ֆումարատհիդրատազի, կրեատինկինազի և այլն:

Հիստիդինի հինգամրամանի իմիդազոլային հետերոցիկլիկ օդակը արոմատիկ է:



R = H, իմիդազոլ

R =  $\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$ , հիստիդին

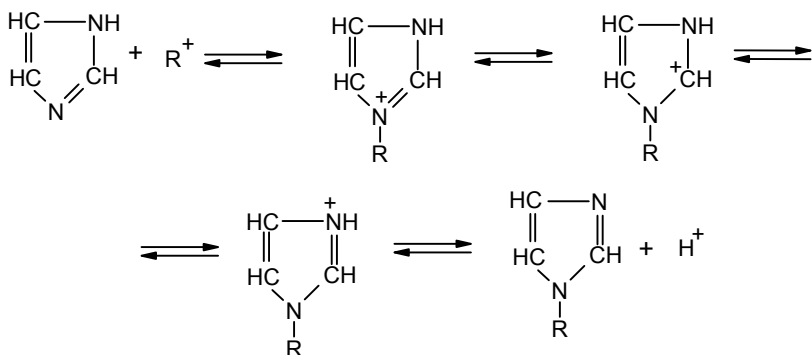
Իմիդազոլային օղակում գտնվող ազոտի երկու ատոմները հատկություններով իրարից բավականին տարբերվում են: Երկրորդային ազոտի ատոմը ( $\text{N}_1$ ) օժտված է թույլ թթվային էլեկտրոֆիլային հատկությամբ, և նրա պրոտոնը կարող է փոխանակվել այլ խմբերով, օրինակ՝ ացետիլային կամ ֆոսֆորիլային, ինչպես նաև կարող է մասնակցել ջրածնական կապերի առաջացմանը՝ որպես պրոտոնի դոնոր: Իսկ երրորդային ազոտի ատոմը ( $\text{N}_3$ ) օժտված է նուկլեոֆիլային հատկությամբ և հեշտությամբ կարող է միացնել պրոտոն, առաջացնել կոմպլեքսային միացություններ մետաղի իոնների հետ, ինչպես նաև մասնակցել ջրածնական կապերի առաջացմանը՝ որպես պրոտոնի ակցեպտոր:

Մետաղի իոնների հանդեպ իմիդազոլային օղակի բարձր խնամակցության մասին է վկայում ցիտոքրոմ C և այլ երկաթպորֆիրինային ֆերմենտների մոտ սպիտակուցային շղթայի հիստիդինի մնացորդի մասնակցությունը հեմ խմբի երկաթի ատոմի հետ կոորդինացիոն կապերով կոմպլեքսների առաջացմանը:

Շնորհիվ զուգորդված կրկնակի կապերի համակարգի առկայությանը՝ իմիդազոլային օղակը հեշտությամբ ենթարկվում է տատոմերային փոխարկումների, որոնք ուղեկցվում են երկրորդային և երրորդային ազոտի ատոմների փոխադարձ փոխարկումների, օրինակ՝ պրոտոնի կամ դրական լիցքավորված  $\text{R}^+$  խմբի գրոհման դեպքում (սխեմա 106):

Տաուտոմերման հետևանքով իմիդազոլային օղակի ազոտի յուրաքանչյուր ատոմ կարող է ցուցաբերել ինչպես նուկլեոֆիլ, այնպես էլ էլեկտրոֆիլ հատկություններ:

## Սխեմա 106



Ֆերմենտային ռեակցիաներում իմիդազոլը զուցաբերում է թթվահիմնային կատալիզատորի հատկություն և մասնակցում է էլեկտրոնների, պրոտոնների, ացիլային և ֆոսֆատային խմբերի տեղափոխման պրոցեսներին: Իմիդազոլային խմբի կատալիտիկ ակտիվությունը կախված է նրա հետ համակցված ֆունկցիոնալ խմբերի բնույթից:

Հիստիդինի մնացորդի իմիդազոլային խումբը, առաջացնելով ջրածնական կապեր սերինի մնացորդի հիդրօքսիլային և ցիստեինի մնացորդի սուլֆիդիլային խմբերի հետ, մեծ ազդեցություն է թողնում այդ խմբերի ռեակցիոնունակության վրա: Սակայն մինչ այժմ ֆերմենտներում իմիդազոլային խմբի դիրքի և դերի անմիջական որոշման համար հատուկ մեթոդներ չկան: Այդ նպատակի համար օգտագործում են ֆոտոօքսիդացման, ալկիլման, յոդացման և այլ մեթոդներ:

Բացի նշված խմբերից՝ ֆերմենտների ակտիվ կենտրոնում հայտնաբերված են նաև լիզինի  $\epsilon$ -ամինային, ասպարազինաթթվի և գլուտամինաթթվի կարբօքսիլային և այլ խմբեր, որոնք մասնակցում են ինչպես անմիջականորեն կատալիտիկ ակտին, այնպես էլ ֆերմենտի մակրոկառուցվածքի կազմավորմանը և պահպանմանը: Այս խմբերի դերը հիմնականում պայմանավորված է սպիտակուցային շղթայում նրանց կողմից տեղայնացված դրական և բացասական լիցքերով:

## **6.7. Որոշ ֆերմենտների ակտիվ կենտրոնի կառուցվածքը**

Ֆերմենտների ակտիվ կենտրոնի կառուցվածքի հետազոտումը հնարավորություն է տվել ավելի մանրամասն հասկանալու ֆերմենտի առանձնահատկությունները և կապ հաստատելու նրա կառուցվածքի ու կենսաբանական հատկությունների միջև: Ակտիվ կենտրոնի կառուցվածքի պարզաբանման համար օգտագործում են կինետիկական մեթոդներ, որոնք հնարավորություն են տալիս ստանալու միայն անուղղակի տվյալներ և քիմիական անալիզի մեթոդներ, որոնք անմիջապես հանգեցնում են կառուցվածքի մասին ստույգ տվյալների: Քիմիական մեթոդները հիմնականում հիմնված են ակտիվ կենտրոնի կազմի մեջ մտնող ֆունկցիոնալ խմբերի յուրահատուկ ռեակցիաների վրա:

### **6.7.1. $\alpha$ -քիմոտրիպսինի ակտիվ կենտրոնը**

$\alpha$ -քիմոտրիպսինը մարսողական տրակտի վրա ազդող պրոտեոլիտիկ ֆերմենտ է, որը կատալիզում է պեպտիդային և էսթերային կապերի հիդրոլիզը: Նրա մոլեկուլը կազմված է 246 ամինաթթվային մնացորդներից, իսկ առաջնային կառուցվածքն ամբողջությամբ պարզաբանված է:  $\alpha$ -քիմոտրիպսինը չի պարունակում ոչ սպիտակուցային պրոստետիկ խումբ, և նրա ակտիվ կենտրոնը կազմված է միայն ամինաթթվային մնացորդներից:

$\alpha$ -քիմոտրիպսինը դիհիզոպրոպիլֆտորֆոսֆատով մշակելու դեպքում նկատվում է ֆերմենտային ակտիվության անկում, ընդ որում այդ ընթացքում հավասար չափով ճնշվում է ֆերմենտի ինչպես պրոտեազային, այնպես էլ էսթերազային ակտիվությունը:

Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ դիհիզոպրոպիլֆտորֆոսֆատն իրականում ռեակցում է ակտիվ կենտրոնի հետ, քանի որ ֆերմենտի ակտիվությունը սկսվում է ճնշվել դիհիզոպրոպիլֆտորֆոսֆատի չնչին քանակությունների դեպքում, և այն լրիվ արգելակվում է 1 մոլ ֆերմենտի վրա 1 մոլ դիհիզոպրոպիլֆտորֆոսֆատով ազդելու դեպքում:

α-քիմոտրիպսինը դիհոպրոպիլֆտորֆոսֆատով ազդելու արդյունքում առաջացած ինակտիվ ֆերմենտի հիդրոլիզատից անջատվել է O-ֆոսֆորիլներին, ինչը վկայում է այն մասին, որ սերինի հիդրօքսիլային խումբը համարվում է այն կենտրոնը, որի հետ դիհոպրոպիլֆտորֆոսֆատի կապումը բերում է ֆերմենտի ակտիվության արգելակմանը:

Բազմաթիվ հետազոտությունների արդյունքում պարզաբանվել է α-քիմոտրիպսինի առաջնային կառուցվածքը, և որոշվել է սերինի ակտիվ մնացորդի մոտակա ամինաթթվային հաջորդականությունը:

**Gly—Asp—Ser—Gly—Glu—Ala**

Ֆոսֆորիլներին հայտնաբերվել է նաև դիհոպրոպիլֆտորֆոսֆատով ինակտիվացված այլ ֆերմենտների հիդրոլիզատներում՝ տրիպսինի, խոլինէստերազի, կարբօքսիլէստերազի, տրոմբինի և այլն: Բացի դրանից՝ սերինի ակտիվ մնացորդի հարևան չորս ամինաթթվային հաջորդականությունը հայտնաբերվել է նաև տրիպսինի և տրոմբինի մոտ:

Ստացված տվյալներից կարելի է եզրակացնել, որ պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների (α-քիմոտրիպսին, տրիպսին և այլն) ինակտիվացումը ֆոսֆոր պարունակող ինհիբիտորների ազդեցությամբ պայմանավորված է սերինի հիդրօքսիլային խմբի շրջափակմամբ, որը մտնում է այդ ֆերմենտներին բնորոշ միևնույն ամինաթթվային հաջորդականության մեջ:

**Gly—Asp—Ser—Gly**

Հետևաբար, սերինի մնացորդը կամ հանդիսանում է նշված պրոտեազների ակտիվ կենտրոնի մասը կամ էլ ֆերմենտի մոլեկուլում բաշխված է այնպես, որ նրա շրջափակումը տարածական դժվարություններ է ստեղծում ֆերմենտային ռեակցիայի նորմալ ընթացքի համար: Բացի դրանից՝ պարզվել է, որ այդ նույն սերինի մնացորդի հիդրօքսիլային խումբը մասնակցում է տրիպսինի և α-քիմոտրիպսինի մասնակցությամբ ընթացող ալիլացնող ազենտների հետ ռեակցիաներին, օրինակ՝ p-նիտրոֆենիլացետատի հետ:



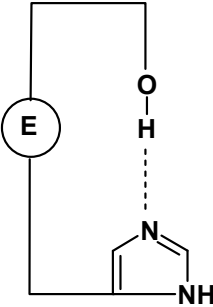
Սերինի հիդրօքսիլային խումբը, որը մասնակցում է այդ ռեակցիաներին, պետք է օժտված լինի բարձր ռեակցիոնունակությամբ, քանի որ  $\alpha$ -քիմոտրիպսինի մոլեկուլում պարունակվող սերինի 26 մնացորդներից միայն մեկն է ռեակցվում դիհոպրոպիլֆտորֆոսֆատի հետ կամ ենթարկվում O-ացիլման: Ընդ որում՝ ազատ սերինն ընդհանրապես չի փոխազդում դիհոպրոպիլֆտորֆոսֆատի հետ: Ֆերմենտների նախորդները (տրիպսինոգեն, քիմոտրիպսինոգեն), ինչպես նաև դենատուրացված տրիպսինը և  $\alpha$ -քիմոտրիպսինը նույնպես չեն փոխազդում դիհոպրոպիլֆտորֆոսֆատի հետ:

Արձանագրված տվյալների հիման վրա ենթադրվել է, որ հավանաբար սերինի ակտիվ մնացորդի հիդրօքսիլային խմբի բարձր ակտիվությունը պայմանավորված է այլ խմբերի հետ նրա փոխազդեցությամբ, որոնք ֆերմենտի գծային պոլիպեպտիդային շղթայում սերինից գտնվում են բավականին հեռու, սակայն շղթայի շարժունակության շնորհիվ ֆերմենտի մակրոկառուցվածքում տարածապես մոտ են բաշխված նրան:

Բազմաթիվ փորձնական տվյալների հիման վրա եզրակացվել է, որ խումբը, որն ակտիվացնում է սերինի մնացորդի հիդրօքսիլային խմբին, համարվում է հիստիդինի մնացորդի իմիդազոլային օղակը: Հիստիդինի իմիդազոլային խմբի մասնակցությունը ֆերմենտային պրոցեսին ապացուցվել է մեթիլեն կապույտի ներկայությամբ  $\alpha$ -քիմոտրիպսինի երկու հիստիդինի մնացորդներից մեկի ընտրողական ֆոտոօքսիդացմամբ: Հիստիդինի ֆոտոօքսիդացման և ֆերմենտի ինակտիվացման պրոցեսների արագությունները մոտավորապես հավասար են, և ֆերմենտային ակտիվության 50% կորուստը ժամանակի առումով համապատասխանել է 0,48 մոլ հիստիդինի քայքայմանը 1 մոլ ֆերմենտի հաշվարկով: Ֆերմենտի ֆոտոօքսիդացումը, ինչպես նաև հիստիդինի մնացորդներից մեկի փոխազդեցությունը դիմիտրոֆտորբենզոլի հետ բերում են դիհոպրոպիլֆտորֆոսֆատի հետ  $\alpha$ -քիմոտրիպսինի ռեակցիոնունակության անկման: Սակայն  $\alpha$ -քիմոտրիպսինի դիհոպրոպիլֆոսֆատային ածանցյալի հիդրոլիզատից անջատված O-ֆոսֆորիլսերին պարունակող պեպտիդների

հետազոտության ժամանակ նրանց կազմում հիստիդինի մնացորդ չի հայտնաբերվել:

Վերոնշյալից հետևում է, որ հավանաբար ֆերմենտի մակրոկառուցվածքում սերինի հիդրօքսիլային խումբը և հիստիդինի իմիդազոլային օղակը տարածապես մոտեցված են, և սերինի հիդրօքսիլի ու հիստիդինի մնացորդի իմիդազոլային օղակի երրորդային ազոտի ատոմի միջև առաջանում է ջրածնական կապ (նկար 38):



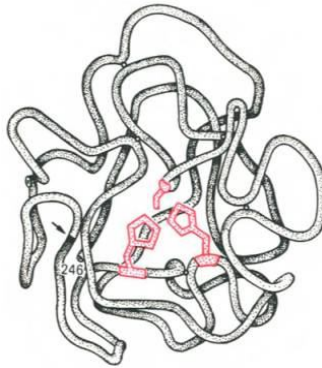
**Նկար 38.** Հիդրոլազ ֆերմենտների ակտիվ կենտրոնի կառուցվածքը

Նման կառուցվածքում սերինի մնացորդի հիդրօքսիլային խմբի թթվածինը ձեռք է բերում բավարար նուկլեոֆիլություն և կարող է հարձակվել սուբստրատի կարբօքսիլային խմբի ամիսածնի ատոմի վրա:

Հետազոտվել է նաև  $\alpha$ -քիմոտրիպսինի կատալիտիկ ակտիվության վրա ֆերմենտի այլ ֆունկցիոնալ խմբերի ազդեցությունը: Օրինակ՝  $\alpha$ -քիմոտրիպսինի  $\text{NH}_2$  խմբերի ընտրողական ացիլումը քացախամիդրիդով չի ազդում ֆերմենտի կատալիտիկ ակտիվության վրա: Հետևաբար, ազատ ամինային խմբերը չեն մտնում ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի մեջ: Հավանաբար դիսուլֆիդային և սուլֆիդիդիլային խմբերը նույնպես չեն մտնում ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի բաղադրության մեջ, քանի որ ֆերմենտի ակտիվությունը չի ճնշվում *p*-մերկուրիքլորբենզատի ազդեցությամբ: Ֆերմենտի կատալիտիկ ակտիվության վրա չեն ազդում նաև թիրոզինի մնացորդները, քանի

որ  $\alpha$ -քիմոտրիպսինը թիրոզինազով ազդելու դեպքում կատալիտիկ ակտիվության փոփոխություն չի նկատվում:

Բազմաթիվ հետազոտություններ վկայում են այն մասին, որ  $\alpha$ -քիմոտրիպսինի ակտիվ կենտրոնի կազմի մեջ մտնում են սերինի մեկ հիդրօքսիլային և հիստիդինի երկու իմիդազոլային խմբեր, որոնք գտնվում են ֆերմենտի գծային պոլիպեպտիդային շղթայի տարբեր հատվածներում, սակայն երրորդային և չորրորդային փոխազդեցությունների շնորհիվ նատիվ սպիտակուցային մոլեկուլի մակրոկառուցվածքում տարածապես մոտեցված են իրար: Նկար 39-ում բերված է  $\alpha$ -քիմոտրիպսինի երրորդային կառուցվածքի հիպոթետիկ մոդելը՝ ըստ Նեյրասի:

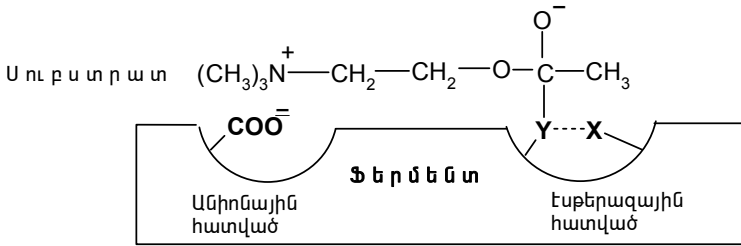


**Նկար 39.**  $\alpha$ -քիմոտրիպսինի մոլեկուլի երրորդային կառուցվածքի հիպոթետիկ մոդելը  
(կենսորոնում ներկայացված են ակտիվ կենտրոնի ֆունկցիոնալ խմբերը)

### 6.7.3. Ացեպիլխոլինհիդրոլազի ակտիվ կենտրոնը

Հաստատված է, որ ացեպիլխոլինհիդրոլազի ակտիվ կենտրոնը կազմված է իրարից 7 Å հեռավորության վրա գտնվող անիոնային և էսթերազային մարզերից: Էսթերազային մարզը, որտեղ գտնվում են Y նուկլեոֆիլային խումբը և նրա հետ կապված ակտիվացնող X խումբը, կապում և ճեղքում է սուբստրատի էսթերային խումբը, իսկ

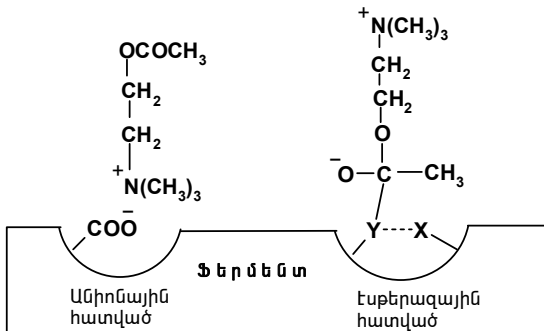
անիոնային մարզը փոխազդում է սուրստրատի (ացետիլխոլինի) դրական լիցքավորված խմբի հետ (նկար 40):



**Նկար 40.** Ացետիլխոլինի դրական (ացետիլխոլին էսթերազի) ակտիվ կենտրոնի կառուցվածքը

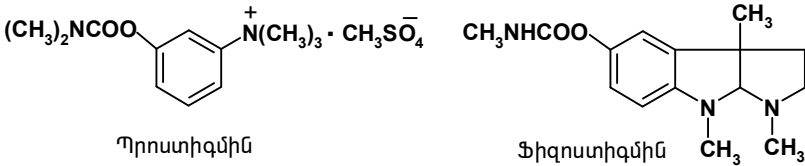
Ացետիլխոլին հիդրոլազ ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի նման կառուցվածքի մասին են վկայում ստորև բերված տվյալները:

- Սուրստրատի բարձր կոնցենտրացիաների դեպքում տեղի է ունենում ֆերմենտի ակտիվության անկում: Հավանաբար այդ դեպքում ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնին միանում են սուրստրատի երկու մոլեկուլներ՝ մեկը կատիոնային ծայրով, իսկ մյուսը՝ էսթերային (նկար 41): Նման դեպքում բացառվում է ֆերմենտատիվ ռեակցիայի ընթացքը:



**Նկար 41.** Ացետիլխոլինի փոխազդեցությունը ացետիլխոլին էսթերազի ակտիվ կենտրոնի հետ սուրստրատի բարձր կոնցենտրացիայի դեպքում

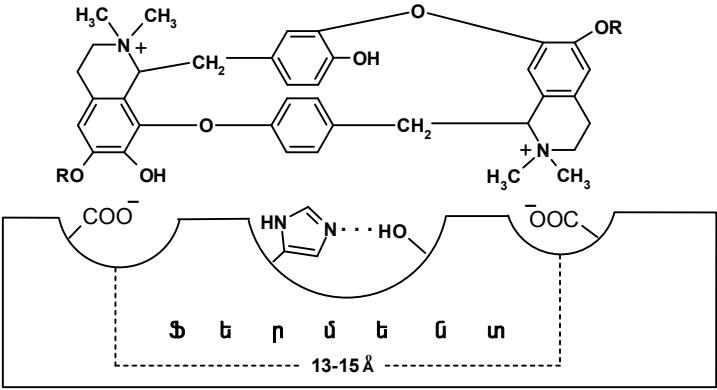
• Ացետիլխոլին հիդրոլազ ֆերմենտի ինհիբիտորի դերում հանդես են գալիս սուբստրատին կառուցվածքով մոտ այնպիսի միացություններ, ինչպիսիք են **պրոստիգամինը** (պրոզերինը) և **ֆիզոստիգամինը** (եգերինը), որոնց կառուցվածքում չորրորդային կամ երրորդային ազոտի ատոմի հետ առկա է նաև օքսիամիդային խումբ: Դրանց կառուցվածքում չորրորդային ամոնիումային խմբի ազոտի և կարբոնիլային ածխածնի ատոմների միջև հեռավորությունը չնչին է տարբերվում ացետիլխոլինից (մոտ 7 Å):



Ենթադրվում է, որ ացետիլխոլինհիդրոլազի ակտիվ կենտրոնի էսթերազային մարզի Y նուկլեոֆիլային խմբի դերը կատարում է սերինի մնացորդի հիդրօքսիլային խումբը (ֆերմենտի ակտիվությունը ճնշվում է դիիզոպրոպիլֆոսֆոսֆատով), որն ակտիվացվում է հիստիդինի մնացորդի իմիդազոլային օղակի (X) հետ շփմամբ (ֆերմենտը ինակտիվացվում է ֆոստօքսիդացմամբ): Հավանաբար ացետիլխոլինհիդրոլազի մոլեկուլի մակրոկառուցվածքում էսթերազային հատվածի սերինի հիդրօքսիմենթիլային խումբն ակտիվանում է հիստիդինի իմիդազոլային օղակի հետ փոխազդեցությամբ, որը բաշխված է պոլիպեպտիդային շղթայի այլ հատվածում:

Հետագա հետազոտությունները ցույց են տվել, որ ացետիլխոլինէսթերազի ակտիվությունը ճնշվում է նաև այնպիսի միացությունների ազդեցությամբ, որոնք պարունակում են իրարից 13-15 Å հեռավորության վրա բաշխված երկու չորրորդային ամոնիումային խմբեր (որոշ ալկալոիդային միացություններ): Հետևաբար, կարելի է ենթադրել, որ իրականում ացետիլխոլինէսթերազի ակտիվ կենտրոնը կազմված է մեկ էսթերազային և երկու անիոնային հատվածներից,

ընդորում՝ անիոնային հատվածները բաշխված են էսթերազային հատվածի երկու հարևան կողմերում (նկար 42):



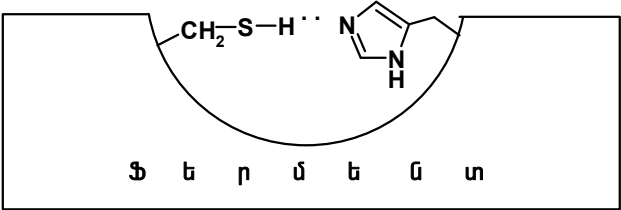
**Նկար 42.** Ացետիլխոլինէսթերազի ինհիբացումը ալկալոիդային դասի միացություններով

Նման ալկալոիդային միացությունները, չորրորդային ամոնիումային խմբերով փոխազդելով ացետիլխոլինէսթերազի երկու անիոնային մարզերի հետ, էկրանացնում են էսթերազային հատվածը և ինակտիվացնում ֆերմենտին:

**6.7.3. Կրեատինկինազի ակտիվ կենտրոնը**

Կրեատինկինազ ֆերմենտը, որը կատալիզում է ֆոսֆատային մնացորդի տեղափոխումն ԱԵՖ-ից կրեատինին, ինակտիվանում է յոդացետամիդի և p-քլորմերկուրիբենզոատի ազդեցությամբ: Հետևաբար, ֆերմենտի ակտիվության համար որոշիչ նշանակություն ունի ցիստեինի սուլֆիդիլային խումբը: Պարզվել է, որ ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնը պարունակում է ցիստեինի մնացորդի սուլֆիդիլային խումբ, որն ակտիվանում է առաջնային սպիտակուցային շղթայում ցիստեինի մնացորդից հեռու գտնվող հիստիդինի մնացորդի իմիդազոլային խմբով: Վերջինս ֆերմենտի մակրոկառուցված-

քում բավականին մոտ է բաշխվում ցիստեինի մնացորդին և կարո-  
դանում է ակտիվացնել նրա SH-խմբին՝ շնորհիվ իմիդազոլային  
օղակի երրորդային ազոտի և սուլֆիդիդրիլային խմբի ջրածնի ատոմ-  
ների միջև ջրածնական կապի առաջացման (նկար 43):



**Նկար 43.** Կրեատինկինազի ակտիվ կենտրոնի կառուցվածքը

Սուլֆիդիդրիլային խմբի պրոտոնի մասնակցությունը ջրածնա-  
կան կապի առաջացմանը բերում է ծծմբի ատոմի շուրջը էլեկտրոնա-  
յին խտության մեծացման, և հետևաբար, նրա նուկլեոֆիլության  
ուժեղացման, ինչը հնարավորություն է տալիս սուլֆիդիդրիլային  
խմբին մասնակցելու ացիլման, ֆոսֆորիլման և այլ ռեակցիաների:

**6.8. Ֆերմենտների նախորդների ակտիվացումը**

Ինչպես հայտնի է, աղեստամոքսային տրակտի բազմաթիվ  
պրոտեոլիտիկ ֆերմենտներ, օրինակ՝ տրիպսինը, պեպսինը, քիմո-  
տրիպսինը և այլն, կենդանի օրգանիզմում սինթեզվում են ոչ ակտիվ  
նախորդների (նախաֆերմենտների) տեսքով՝ տրիպսինոգենի, պեպ-  
սինոգենի, քիմոտրիպսինոգենի և այլն, որոնք գտնվում են ներբջջա-  
յին գոյացումներում, այսպես կոչված զիմոգենային հատիկներում:  
Անցնելով ստամոքս կամ բարակ աղիք՝ նախաֆերմենտները  
տրանսֆորմացվում են ակտիվ ֆերմենտների:

Նախաֆերմենտներն ակտիվացնող հիմնական էնզիմը հանդի-  
սանում է էնտերոպեպտիդազը, որն աղիքի լորձաթաղանթից ան-  
ջատված պրոտեոլիտիկ ֆերմենտ է: Այդ ֆերմենտը, օրինակ, տրիպ-  
սինոգենին տրանսֆորմացնում է տրիպսինի: Այդ նույն ֆունկցիան

կարող է կատարել նաև ինքը՝ տրիպսինը, ինչպես նաև մի շարք այլ ֆերմենտներ, ներառյալ բակտերիալ ծագման ֆերմենտները, իսկ պեպսինոգենը ստամոքսում ակտիվանում է աղաթթվով և պեպսինով:

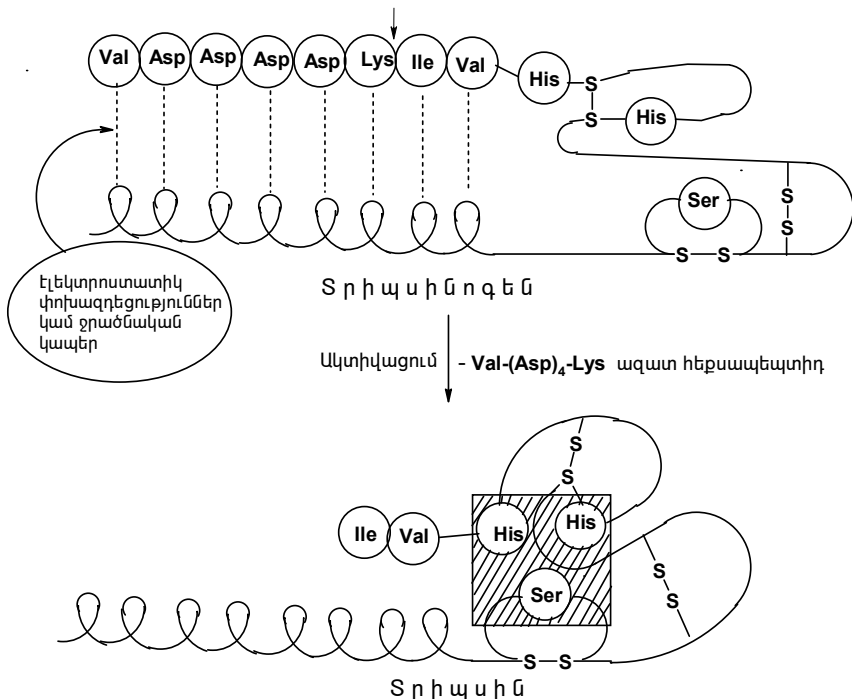
Ֆերմենտի նախորդի ակտիվացման մեխանիզմի վերաբերյալ գոյություն ունի երկու վարկած: Համաձայն առաջին վարկածի՝ ակտիվ խումբն առկա է նախաֆերմենտում, սակայն գտնվում է շրջափակված, պաշտպանված վիճակում, և ակտիվացման պրոցեսն իրենից ներկայացնում է ակտիվ կենտրոնից պաշտպանող խմբի հեռացումը: Համաձայն երկրորդ տեսակետի՝ տեղի է ունենում սահմանափակ, մասնակի պրոտեոլիզ, այսինքն՝ մեկ կամ մի քանի պեպտիդազին կապերի հիդրոլիզ: Ամֆիջականորեն մասնակի հիդրոլիզը չի կարող բերել նախաֆերմենտի ակտիվացմանը, սակայն դրա արդյունքում կարող են տեղի ունենալ ավելի բարդ պրոցեսներ, օրինակ՝ նախաֆերմենտի ներմոլեկուլային վերակառուցումներ, որոնց արդյունքում և կազմավորվում է ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնը:

Տրիպսինոգենի ակտիվացումը տեղի է ունենում մասնակի պրոտեոլիզի ճանապարհով, այսինքն՝ տրիպսինի ազդեցությամբ հատուկ պեպտիդազին կապի հիդրոլիզով (նկար 44): Հիդրոլիզի արդյունքում ճեղքվում է լիզինի և իզոլեյցինի միջև պեպտիդազին կապը, և սպիտակուցային շղթայից պոկվում է Val-(Asp)<sub>4</sub>-Lys հեքսապեպտիդը:

Ենթադրվում էր, որ ֆերմենտի ակտիվացումը կապված է շղթայի N-ծայրում իզոլեյցին ամինաթթվի առաջացման հետ, սակայն դրա պոկումը կամ պաշտպանումը չի բերում ֆերմենտի ակտիվության փոփոխության: Բացի դրանից՝ անջատված հեքսապեպտիդը ակտիվ տրիպսինի լուծույթին ավելացնելու դեպքում վերջինիս ակտիվության արգելակում չի արձանագրվել, ինչից եզրակացվել է, որ տվյալ հեքսապեպտիդը չի համարվում ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնը շրջափակող ինհիբիտոր:

Մնում է ենթադրել, որ հեքսապեպտիդի պոկման ժամանակ տեղի է ունենում սպիտակուցային մոլեկուլի կոնֆորմացիայի մասնակի փոփոխություն, ինչը բերում է ակտիվ կենտրոնի կազմավորմանը:





**Նկար 44.** Կառուցվածքային փոփոխությունները տրիպսինոգենի ակտիվացման պրոցեսում, որոնք հանգեցնում են ակտիվ կենտրոնի կազմավորմանը

Հավանաբար, տրիպսինոգենում N-ծայրային հեքսապեպտիդի ամինաթթվային մնացորդները փոխազդեցության մեջ են գտնվում այլ ամինաթթվային մնացորդների հետ՝ պոլիպեպտիդային շղթայի C-ծայրից (ջրածնական կապերի և էլեկտրոստատիկ ուժերի հաշվին) առաջացնելով կոշտ, պինդ կառուցվածք: Հիդրոլիզի արդյունքում տեղի է ունենում ոչ միայն լիզինի և իզոլեյցինի միջև պեպտիդային կապի ճեղքում, այլ նաև հեքսապեպտիդի ամինաթթվային մնացորդների առաջացրած ջրածնական կապերի խզում, ինչի հետևանքով մոլեկուլի կոշտ կառուցվածքը խախտվում է, և այն դառնում է ավելի ճկուն: Արդյունքում տեղի է ունենում պոլիպեպտիդային

շղթայի N-ծայրային հատվածի կոնֆորմացիոն փոփոխություն, ակտիվ կենտրոնի ֆունկցիոնալ խմբերը իրար մոտենում են և կազմավորում են ակտիվ կենտրոնը (ըստ Նեյրատի և Դիքսոնի):

Հետևաբար, տրիպսինոգենի ակտիվացումը մասնակի պրոտեոլիզի արդյունքում բացատրվում է սպիտակուցային մոլեկուլի կոնֆորմացիայի փոփոխությամբ, որը բերում է ակտիվ կենտրոնի ֆունկցիոնալ խմբերի (սերինի հիդրօքսիմեթիլային և հիստիդինի իմիդազոլային) այնպիսի վերադասավորության, որն ապահովում է նրանց փոխազդեցությունը՝ սերինի հիդրօքսիլային խմբի ջրածնի և հիստիդինի իմիդազոլային օղակի երրորդային ազոտի ատոմների միջև ջրածնական կապի առաջացմամբ:

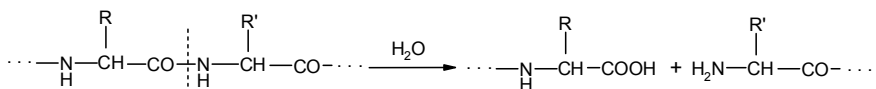
### 6.9. Ֆերմենտների սպեցիֆիկությունը

Ֆերմենտները կատալիզում են ռեակցիաներ, որոնք ընթանում են կենդանի օրգանիզմում, և ի տարբերություն սովորական քիմիական կատալիզատորների՝ նրանք օժտված են բարձր սուբստրատային սպեցիֆիկությամբ:

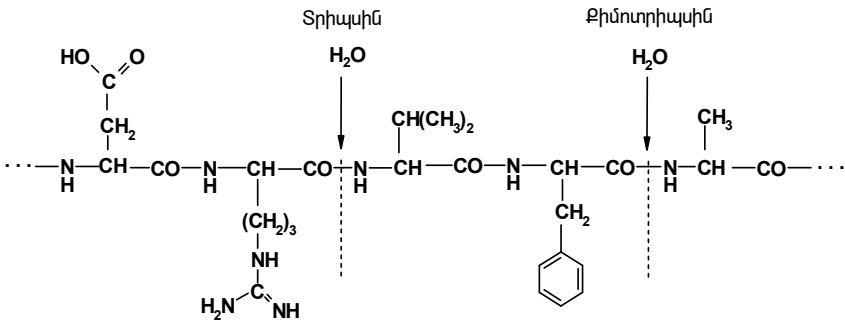
Ներկայումս հայտնի են 1000-ից ավելի ֆերմենտներ, որոնց գերակշռող մասը (75-80%) կատալիզում է հիմնականում 6 կարգի ռեակցիաներ, իսկ դա նշանակում է, որ մեծ թվով ֆերմենտներ կատալիզում են միևնույն տեսակի ռեակցիաներ, մասնավորապես մոտ 70 ֆերմենտներ կատալիզում են CO-NH կապի հիդրոլիզը տարբեր սուբստրատներում, 80-ից ավելի ֆերմենտներ՝ CHOH խմբի օքսիդացումը մինչև CO և այլն:

Քննարկենք պրոտեոլիտիկ ֆերմենտները, որոնք կատալիզում են պեպտիդային կապի հիդրոլիզը, որի ընթացքում տեղի են ունենում կապի ճեղքում և սպիտակուցի ֆրագմենտացում (սխեմա 107):

#### Սխեմա 107



Պեպտիդային կապի վրա պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների ազդեցությունը կախված է նրան շրջապատող խմբերից, այսինքն՝ ոչ մի պեպտիդազ չի կարող հիդրոլիզել սպիտակուցային մոլեկուլի բոլոր պեպտիդային կապերը: Յուրաքանչյուր պեպտիդազ ընտրողաբար ճեղքում է որոշակի ամինաթթվային մնացորդների հարևանությամբ գտնվող պեպտիդային կապը: Օրինակ՝ տրիպսինը ընտրողաբար ճեղքում է այն պեպտիդային կապերը, որոնք առաջացած են հիմնային ամինաթթուների (*L*-արգինինի, *L*-լիզինի), իսկ քիմոտրիպսինը՝ արոմատիկ ամինաթթուների (ֆիրոզինի, ֆենիլալանինի) կարբոքսիլային խմբերի մասնակցությամբ առաջացած պեպտիդային կապերը (նկար 45):



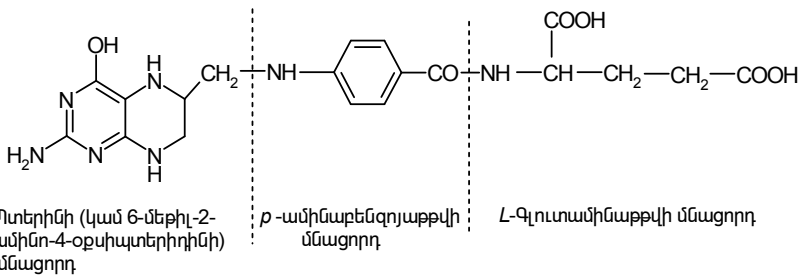
**Նկար 45.** Պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների ընտրողական ազդեցությունը

Ֆերմենտի և սուբստրատի փոխազդեցության անհրաժեշտ պայմանը համարվում է նրանց կառուցվածքների **ստերիկ կոմպլեմենտարությունը**, այսինքն՝ սուբստրատի մոլեկուլի կառուցվածքի և կոնֆորմացիայի համապատասխանելիությունը ֆերմենտի որոշակի հատվածի կառուցվածքին և կոնֆորմացիային: Այդ պայմանն ապահովվում է այնպիսի ուժերի բնույթով, որոնք կապում են ֆերմենտի և սուբստրատի մոլեկուլների արտաքին մակերևույթները (Վանդեր-Վալսյան, էլեկտրոստատիկ, ջրածնական և այլն):

Սուբստրատի կառուցվածքի չնչին փոփոխություններն անգամ բերում են նրա և ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի միջև ստերիկ կոմպլե-

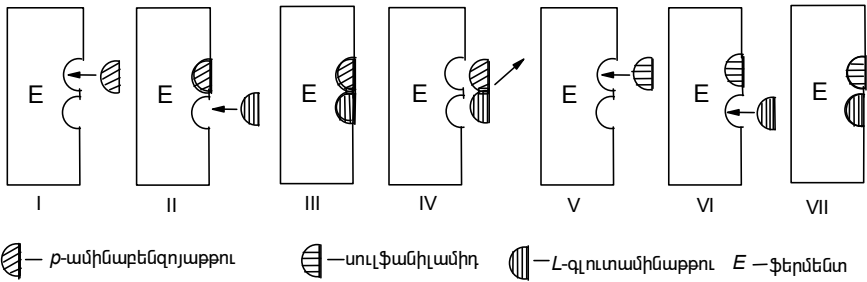
մենտաբույսի խախտման: Այդ պատճառով էլ բջջային մետաբոլի-  
տի նմանակը կառուցվածքային նմանության շնորհիվ միանում է  
ֆերմենտին, սակայն ոչ կոմպլեքսնաբան ձևով, ինչի արդյունքում  
ֆերմենտի ու սուբստրատի միջև փոխազդեցություն տեղի չի ունե-  
նում: Այն միացությունները, որոնք կառուցվածքով մոտ են տվյալ  
ֆերմենտի սուբստրատին և կարող են միանալ ֆերմենտի ակտիվ  
կենտրոնին, չփոխազդելով նրա հետ (շրջափակելով ֆերմենտի ակ-  
տիվ կենտրոնը), կոչվում են հակամետաբոլիտներ:

Քննարկենք տետրահիդրոֆոլաթթվի (վիտամին B<sub>9</sub>) կենսասին-  
թեզը, որի էտապներից մեկում բակտերիաներն օգտագործում են  
p-ամինաբենզոյական թթու: Հետաքրքիր արդյունքներ են արձանա-  
գրվել p-ամինաբենզոյական թթուն նրան կառուցվածքով նման սուլ-  
ֆանիլաթթվի ամիդով փոխարինելու դեպքում: Մի շարք բակտերիա-  
ների համար տետրահիդրոֆոլաթթուն կարևոր կենսական նշանա-  
կություն ունի, քանի որ նա մասնակցում է պուրինների, ամինաթթու-  
ների, նուկլեինաթթուների և այլ միացությունների կենսասինթեզին,  
որոնք անհրաժեշտ են ցանկացած կենդանի օրգանիզմի գոյա-  
տևման համար: Տետրահիդրոֆոլաթթվի կենսասինթեզը բազմափուլ  
է և կատալիզվում է մի շարք ֆերմենտներով:



Կենսասինթեզի փուլերից մեկում տեղի է ունենում p-ամինաբեն-  
զոյաթթվի փոխազդեցությունը սուբստրատներից որևէ մեկի հետ,  
որոնք մասնակցում են տետրահիդրոֆոլաթթվի կենսասինթեզին,  
օրինակ՝ L-գլուտամինաթթվի հետ: Իր դերը կատարելու համար p-ա-  
մինաբենզոյաթթուն պետք է մտնի ֆերմենտի մակերևույթին գտնվող

իրեն կոմպլեմենտար հատվածը, իսկ  $L$ -գլուտամինաթթուն, որն անհրաժեշտ է տետրահիդրոֆոլաթթվի սինթեզի համար, աղտորբվում է  $p$ -ամինաբենզոյաթթվի հարևանությամբ գտնվող պահեստային տեղը (II) (նկար 46): Իրար հետ շփվող երկու մոլեկուլներն անմիջապես փոխազդում են միմյանց հետ (III), և ռեակցիայի արգասիք մոլեկուլը պոկվում է ֆերմենտի արտաքին մակերևույթից (IV), և պրոցեսը կրկնվում է:

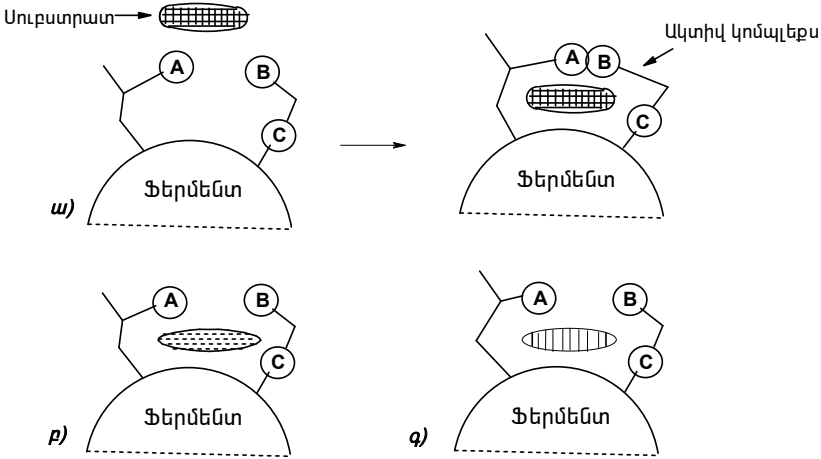


**Նկար 46.** Միկրոօրգանիզմներում տետրահիդրոֆոլաթթվի սինթեզի ճնշումը սուլֆանիլամիդային պատրաստուկներով

Ի՞նչ տեղի կունենա  $p$ -ամինաբենզոյաթթուն նրա նմանակ սուլֆանիլամիդով փոխարինելու դեպքում: Քանի որ վերջինս կառուցվածքով նման է  $p$ -ամինաբենզոյաթթվին, այն կարող է թափանցել ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի այն հատվածը (V), որը սովորական պայմաններում զբաղեցվում է  $p$ -ամինաբենզոյաթթվով: Սակայն կառուցվածքային չնչին տարբերության պատճառով ֆերմենտը չի ճանաչում սուլֆանիլամիդին (VI), ինչի հետևանքով  $L$ -գլուտամինաթթվի և ֆերմենտին ոչ կոմպլեմենտար սուլֆանիլամիդի միջև փոխազդեցություն տեղի չի ունենում: Սուլֆանիլամիդը մնում է ֆերմենտի մակերևույթին (VII) և շրջափակում է ակտիվ կենտրոնի այն հատվածը, որը նախատեսված էր  $p$ -ամինաբենզոյաթթվի համար: Արդյունքում տետրահիդրոֆոլաթթու չի սինթեզվում:

Հետազոտությունների արդյունքում ստացված տվյալների հիման վրա Կոշլանդը առաջարկել է ֆերմենտի սուբստրատային սպեցիֆիկության վերաբերյալ իր տեսությունը, համաձայն որի՝ սուբստ-

րատի և ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի փոխազդեցության ժամանակ տեղի է ունենում ֆերմենտի սպիտակուցային շղթայի կոնֆորմացիոն վիճակի փոփոխություն: Սուբստրատը, մոտենալով ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնին, մակաձում է նրա ֆունկցիոնալ խմբերի վերադասավորվածությունը՝ դրանով նպաստելով սուբստրատի մոլեկուլի և ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի առավելագույն շփմանը: Այս երևույթը ստացել է Կոշլանդի **մակաձված համապատասխանելիություն** անվանումը (նկար 47):



**Նկար 47.** Ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի կառուցվածքի փոփոխությունը (ըստ Կոշլանդի). *ա)* սուբստրատի դեպքում, *բ)* և *գ)* սուբստրատի կառուցվածքային նմանակի դեպքում

Կոշլանդի մակաձված համապատասխանելիության տեսությունը ենթադրում է ֆերմենտային կատալիզին ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի մի քանի ֆունկցիոնալ խմբերի (A, B, C) մասնակցությունը և սուբստրատի նկատմամբ այդ խմբերի խիստ որոշակի դասավորությունը (նկար 47 *ա*): Սուբստրատը, մոտենալով ֆերմենտին, հարուցում է ակտիվ կենտրոնի կառուցվածքի զգալի փոփոխություն: Ակտիվ կենտրոնում գտնվող խմբերը համապատասխան ձևով վերադասավորվում են մեկը մյուսի նկատմամբ ըստ այն կապի, որը մաս-

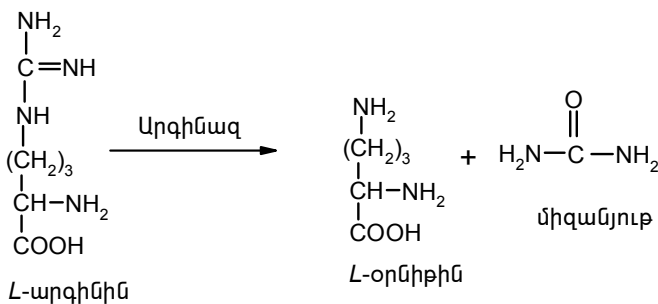
նակցում է ֆերմենտային ռեակցիային: Արդյունքում ստեղծվում է ֆերմենտի յուրահատուկ տարածական կառուցվածք, ինչն ապահովում է ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսի առաջացումը և սուբստրատի հստակ համաձայնեցված փոխազդեցությունը ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի առանձին ֆունկցիոնալ խմբերի (A, B, C) հետ: Միացությունները, որոնք պարունակում են մույն կապերը, ինչ որ իրական սուբստրատը, բայց ունեն մեծ կամ փոքր չափեր (նկար 47, **բ** և **գ**), չնայած միանում են ֆերմենտին, սակայն ֆերմենտային ռեակցիայի մեջ չեն մտնում, քանի որ դրանք չեն կարող հարուցել ակտիվ կենտրոնի ֆունկցիոնալ խմբերի անհրաժեշտ վերադասավորությունը, ինչպես դա կատարում է սուբստրատը (նկար 47, **ա**):

Կոշլանդի տեսության համաձայն՝ սպիտակուցի ֆերմենտային ակտիվությունը և սպեցիֆիկությունը պայմանավորված են ակտիվ կենտրոնի և ամբողջ բարդ սպիտակուցային մոլեկուլի կառուցվածքային առանձնահատկություններով, շղթայի շարժունակությամբ ու ճկունությամբ, ինչպես նաև սուբստրատի կառուցվածքային առանձնահատկություններով:

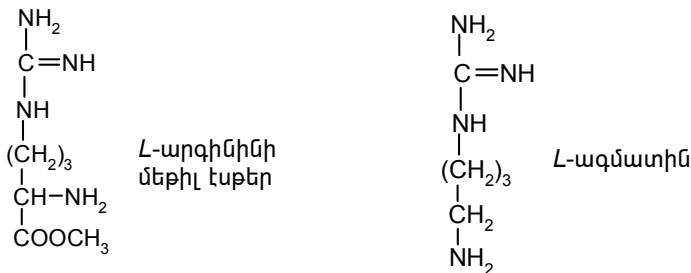
Գոյություն ունի մի քանի տեսակի սուբստրատային սպեցիֆիկություն՝ բացարձակ, խմբակային, օպտիկական (ստերեոքիմիական) և որոշակի տեսակի ռեակցիաների նկատմամբ սպեցիֆիկություն:

**Բացարձակ սպեցիֆիկություն:** Բացարձակ սպեցիֆիկությամբ օժտված են այն ֆերմենտները, որոնք կատալիզում են միայն մեկ ռեակցիա և ազդում են միայն մեկ որոշակի սուբստրատի վրա: Բացարձակ սպեցիֆիկության դասական օրինակ է համարվում կարբամիդ-ամիդոհիդրոլազ (ուրեազ) ֆերմենտի ազդեցությունը, որը կատալիզում է միզանյութի հիդրոլիզը և չի ազդում նրա ոչ մի ածանցյալի վրա: Մեկ այլ օրինակ՝ արգինազ ֆերմենտը, որը կատալիզում է արգինինի հիդրոլիզը՝ առաջացնելով օրնիթին և միզանյութ, և գործնականորեն չի ազդում արգինինի մեթիլ էսթերի, դեկարբօքսիլված արգինինի՝ ազմատինի և այլ ածանցյալների վրա (սխեմա 108):

## Սխեմա 108



Հետևաբար, բացարձակ սպեցիֆիկությամբ օժտված ֆերմենտը ճանաչում է իրար նման կառուցվածքով բազմաթիվ միացություններից միայն մեկին և սպեցիֆիկ ձևով կատալիզում է այդ միացության համապատասխան փոխարկումները՝ առանց ազդելու նրա կառուցվածքային նմանակների վրա:



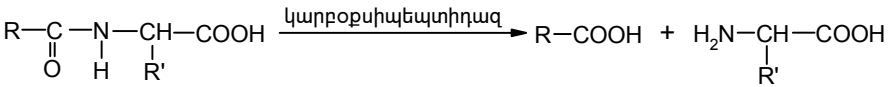
Հավանաբար բարձր սպեցիֆիկությամբ օժտված ֆերմենտների մոտ արտաքին մակերևույթի հատվածը, որտեղ բաշխված է ակտիվ կենտրոնը, շատ ստույգ է համապատասխանում սուբստրատի մոլեկուլին, և այդ հատվածին չեն համապատասխանում նույնիսկ սուբստրատին շատ մոտ, կառուցվածքային նման մոլեկուլները, որոնք տեսականորեն կարող են մասնակցել նույն ռեակցիաներին, ինչ որ սուբստրատը, սակայն չեն մասնակցում:

**Խմբակային սպեցիֆիկություն:** Խմբակային սպեցիֆիկություն ասելով հասկացվում է, որ ֆերմենտը սպեցիֆիկ է մի խումբ միա-



ցությունների հանդեպ, որոնք ունեն ընդհանուր կառուցվածք, այսինքն՝ որոշակի տեսակի կապեր և այդ կապերն առաջացրած բաղադրիչներից մեկի խիստ որոշակի քիմիական կառուցվածք: Խմբակային սպեցիֆիկությամբ են օժտված, օրինակ,  $\alpha$ -ամինոացիլպեպտիդոհիդրոլազները (կարբօքսիպեպտիդազները), որոնք սպիտակուցներում և պեպտիդներում ճեղքում են ազատ C-ծայրային կարբօքսիլային խմբի հարևանությամբ գտնվող պեպտիդային կապը, հետևաբար նրանք ազդում են պեպտիդային շղթայի C-ծայրային մնացորդների վրա (սխեմա 109):

### Սխեմա 109



Յուրաքանչյուր կոնկրետ ֆերմենտի սպեցիֆիկությունը որոշվում է այն ամինաթթվով, որին պատկանում է ազատ կարբօքսիլային խումբը: Ճեղքվող պեպտիդային կապն առաջացրած երկրորդ ամինաթթվային մնացորդը չի ազդում տվյալ ֆերմենտի սպեցիֆիկության վրա: Օրինակ՝ կարբօքսիպեպտիդազ A ֆերմենտը հեշտությամբ ճեղքում է բազմաթիվ պեպտիդների C-ծայրային ամինաթթվային մնացորդի առաջացրած պեպտիդային կապը՝ բացի այն պեպտիդներից, որոնց C-ծայրային ամինաթթվային մնացորդը հանդիսանում է դիամինաթթու կամ պրովին: Իսկ կարբօքսիպեպտիդազ B ֆերմենտը հիդրոլիզում է լիզին և արգինին ամինաթթուների առաջացրած C-ծայրային պեպտիդային կապերը:

#### **Որոշակի տեսակի ռեակցիաների հանդեպ սպեցիֆիկություն:**

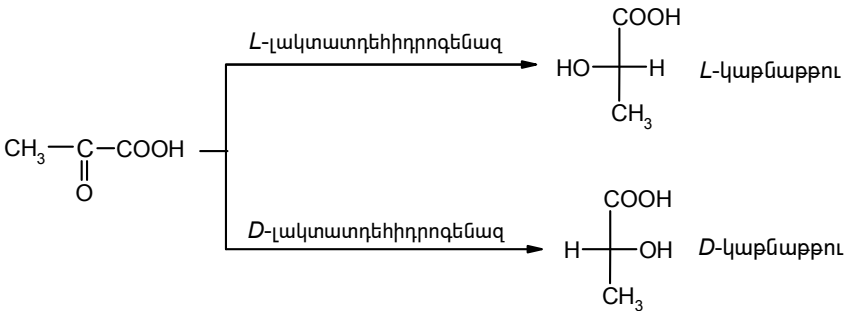
Սպեցիֆիկության այս տեսակն արտահայտվում է սուբստրատի մոլեկուլի միայն որոշակի քիմիական կապերի (օրինակ՝ պեպտիդային, բարդ եթերային, գլիկոզիդային և այլն) հանդեպ, որոնց վրա ազդում է ֆերմենտը, և նրա ազդեցությունը կախված չէ այդ կապի հարևանությամբ գտնվող խմբերի քիմիական բնույթից:

Որոշակի տեսակի ռեակցիաների հանդեպ սպեցիֆիկությամբ օժտված ֆերմենտների լավագույն օրինակ են հանդիսանում կարբոնաթթուների էսթերների հիդրոլազները (կարբօքսիլէսթերազները) և ամինուպեպտիդազները: Հավանաբար այդ ֆերմենտները փոխազդում են սուբստրատի մոլեկուլի այն հատվածների հետ, որոնք անմիջապես հատվում են ռեակցիային մասնակցող կապերի հետ:

**Սպերեոքիմիական սպեցիֆիկություն:** Օպտիկապես ակտիվ միացությունների վրա ազդելու դեպքում ֆերմենտը ցուցաբերում է ստերեոքիմիական սպեցիֆիկություն: Ֆերմենտը փոխազդում է միայն մեկ ստերեոիզոմերայի հետ՝ առանց ազդելու նրա օպտիկական անտիպոդի վրա: Ֆերմենտների այս հատկության վրա է հիմնըված ռացեմատ խառնուրդներից օպտիկական անտիպոդների բաժանման կենսաքիմիական եղանակը:

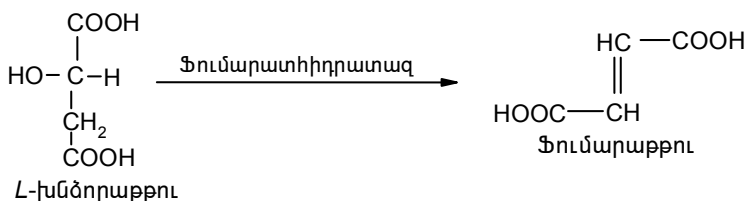
Ֆերմենտների օգնությամբ կարելի է իրականացնել ասիմետրիկ սինթեզ: Օրինակ՝ օպտիկապես ոչ ակտիվ պիրոլիսադոլաթթվի վերականգնումը *L*-լակտատդեհիդրոգենազ ֆերմենտով բերում է *L*-կաթնաթթվի առաջացմանը, իսկ *D*-լակտատդեհիդրոգենազի կատալիզի դեպքում՝ *D*-կաթնաթթվի առաջացմանը (սխեմա 110):

### Սխեմա 110



Խնձորաթթվի դեհիդրատացումը ֆումարաթթվի առաջացմամբ ֆումարատիդրատազ ֆերմենտի ազդեցությամբ ընթանում է միայն *L*-խնձորաթթվի դեպքում, քանի որ *D*-խնձորաթթվի վրա այդ ֆերմենտը չի ազդում (սխեմա 111):

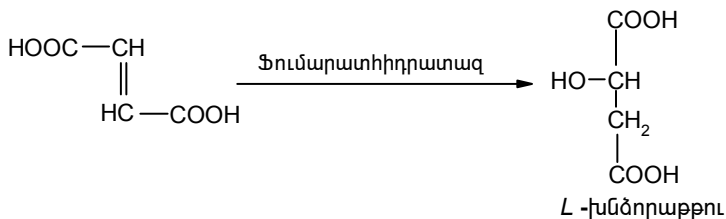
## Սխեմա 111



Անհրաժեշտ է նշել, որ պեպտիդազների գերակշռող մասն ընդունակ չէ հիդրոլիզել *D*-ամինաթթուների առաջացրած պեպտիդային կապերը, այսինքն՝ ֆերմենտը կարողանում է գերազանց ձևով տարբերել ստերեոիզոմերները և սուբստրատի օպտիկական անտիպոդը տվյալ ֆերմենտի համար այլևս սուբստրատ չէ:

Ֆերմենտները ցուցաբերում են ստերեոքիմիական սպեցիֆիկություն ոչ միայն *L*- և *D*-ստերեոիզոմերների, այլ նաև *ցիս* և *տրանս* իզոմերների նկատմամբ: Օրինակ՝ ֆումարատ-հիդրատազ ֆերմենտն ազդում է միայն ֆումարաթթվի, այսինքն՝ տրանսիզոմերի վրա և գործնականորեն չի ազդում *ցիս* իզոմեր մալեինաթթվի վրա (սխեմա 112):

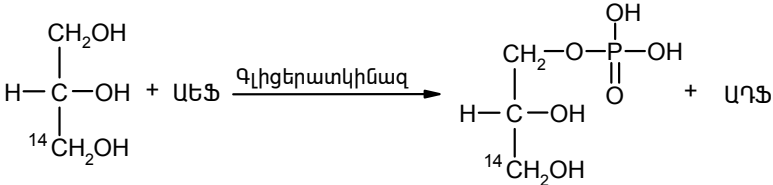
## Սխեմա 112



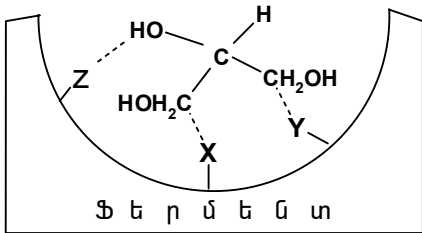
Քանի որ ֆերմենտի և սուբստրատի կառուցվածքները կոմպլեմենտար են իրար, ապա ֆումարատիդրատազ ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնը կոմպլեմենտար է կրկնակի C=C կապի նկատմամբ տեղակալիչների տրանսբաշխմանը, և ակնհայտ է, որ այն չի կարող փոխազդել *ցիս* իզոմերի հետ, որին բնորոշ է կրկնակի կապի շուրջը տեղակալիչների լրիվ հակառակ տարածական բաշխվածությունը:

Ստերեոսպեցիֆիկ է ընթանում նաև, օրինակ, գլիցերինի ֆոսֆորիլացման ռեակցիան ԱԵՖ:D-գլիցերատ-3-ֆոսֆորանաֆերազ (գլիցերատկինազ) ֆերմենտի ազդեցությամբ: Գլիցերատկինազ ֆերմենտի ազդեցությամբ ԱԵՖ-ի ֆոսֆատային մնացորդը միանում է գլիցերինի քիմիապես հավասարազոր երկու առաջնային սպիրտային խմբերից միայն մեկին: Դրա մասին է վկայում D-գլիցերո-3-ֆոսֆատի միայն մեկ օպտիկական իզոմերի առաջացումը: Գլիցերինի սիմետրիկ մոլեկուլի ասիմետրիկ ֆոսֆորիլացումը գլիցերատկինազ ֆերմենտի ազդեցությամբ ապացուցվել է իզոտոպային մեթոդով, օրինակ՝  $^{14}\text{C}$ -գլիցերինի ֆոսֆորիլացման արդյունքում առաջանում է համապատասխան իզոտոպով նիշակրված D-գլիցերո-3-ֆոսֆատ (սխեմա 113):

**Սխեմա 113**



Ստերեոսպեցիֆիկ ֆերմենտային փոխարկումները կարելի է բացատրել Օգստոնի տեսության համաձայն: Ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսի առաջացմանը մասնակցում են մի քանի ֆունկցիոնալ խմբեր (X, Y, Z) (նկար 48):



**Նկար 48.** Մեզո-ածխածնի ատոմ պարունակող սուբստրատի մոլեկուլի հետ ֆերմենտի ստերեոսպեցիֆիկ միացումը

Դրանցից X խումբը մտնում է ակտիվ կենտրոնի կատալիտիկ ակտիվ հատվածը, իսկ մյուս երկու ֆունկցիոնալ խմբերը՝ ակտիվ կենտրոնի կոնտակտային հատվածը: Սուբստրատի յուրաքանչյուր խումբ պետք է կապվի ֆերմենտի մոլեկուլի որոշակի խմբի հետ: Ընդ որում՝ գլիցերինի երկու սիմետրիկ օքսիմեթիլային խմբերից միայն մեկն է կապվում ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի մեջ մտնող կատալիտիկ ակտիվ X խմբի հետ, իսկ երկրորդ օքսիմեթիլային և հիդրօքսիլային խմբերը փոխազդում են ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի կոնտակտային հատվածի Y և Z ֆունկցիոնալ խմբերի հետ: Այստեղից հետևում է, որ երկու օքսիմեթիլային խմբերի ռեակցիոնունակությունը տվյալ ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսում տարբեր է: Միջանկյալ կոմպլեքսում *մեզո* -ածխածնի ատոմը դառնում է ասիմետրիկ, ինչը և որոշում է ռեակցիայի ստերեոսելեկտիվ ընթացքը:

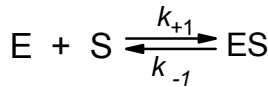
Ֆերմենտի սպեցիֆիկության ուսումնասիրությունը կարևոր նշանակություն ունի նաև ֆերմենտային ռեակցիայի կինետիկայի և մեխանիզմի պարզաբանման համար:

### **6.10. Ֆերմենտային ռեակցիաների կինետիկան**

Ֆերմենտային ռեակցիաների կինետիկական ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ ռեակցիայի արագությունը կախված է ինչպես սուբստրատի, այնպես էլ ֆերմենտի կոնցենտրացիայից: Պարզվել է, որ ֆերմենտի կոնցենտրացիայից ռեակցիայի արագության կախվածությունը ուղիղ համեմատական է, իսկ սուբստրատի կոնցենտրացիայից կախվածությունը արտահայտվում է հագեցման կորի (հիպերբոլի) տեսքով: Ընդ որում՝ սուբստրատի ցածր կոնցենտրացիայի դեպքում ֆերմենտային ռեակցիայի արագությունը ուղիղ համեմատական է սուբստրատի կոնցենտրացիային, իսկ բարձր կոնցենտրացիաների դեպքում այն դառնում է սուբստրատի կոնցենտրացիայից անկախ:

Միխայելիսը և Մենտենը արձանագրված տվյալների հիման վրա մեկնաբանել են ֆերմենտային ռեակցիայի կինետիկան, համաձայն որի՝ E ֆերմենտը, փոխազդելով S սուբստրատի հետ, առաջաց-

նում է ES ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքս, որը ազատ ֆերմենտի և սուբստրատի հետ գտնվում է հավասարակշռության մեջ:



Ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսի դիսոցման հաստատունը, որը կոչվում է սուբստրատային հաստատուն ( $K_s$ ), արտահայտվում է հետևյալ բանաձևով.

$$K_s = \frac{k_{-1}}{k_{+1}},$$

որտեղ  $k_{+1}$ -ը և  $k_{-1}$ -ը ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսի (ES) համապատասխանաբար առաջացման և դիսոցման ռեակցիաների արագության հաստատուններն են:

$k_{-1}$ -ի մեծ արժեքների դեպքում  $K_s$ -ի արժեքը բարձր է, այսինքն՝ կոմպլեքսը հեշտությամբ քայքայվում է, և ֆերմենտատիվ ռեակցիան դժվարությամբ է ընթանում:  $K_s$ -ի ցածր արժեքների դեպքում բարձր է  $k_{+1}$ -ի արժեքը, իսկ դա նշանակում է, որ ֆերմենտային ռեակցիան ընթանում է մեծ արագությամբ:

Ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսի առաջացման ռեակցիան կարելի է արտահայտել հետևյալ բանաձևով.

$$[S] \cdot ([E_0] - [ES]) = K_s \cdot [ES],$$

որտեղ  $[S]$ -ը ազատ սուբստրատի կոնցենտրացիան է (այն կարելի է հավասար համարել սուբստրատի ընդհանուր կոնցենտրացիային, քանի որ ֆերմենտի քանակը, հետևաբար նաև սուբստրատի ծախսված քանակը համեմատաբար չնչին են),  $[ES]$ -ը՝ ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսի կոնցենտրացիան,  $[E_0]$ -ն՝ ֆերմենտի կոնցենտրացիան ֆերմենտային ռեակցիայի սկզբում,  $([E_0]-[ES])$ -ը՝ ազատ ֆերմենտի կոնցենտրացիան:

Այդ հավասարումից հետևում է, որ՝

$$[ES] = [E_0] \frac{[S]}{K_s + [S]} :$$

Ինչքան բարձր է  $[ES]$ -ը, այնքան մեծ է ֆերմենտային ռեակցիայի արագությունը:

Հիմք ընդունելով ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսի կոնցենտրացիայից ֆերմենտային ռեակցիայի արագության ուղիղ համեմատական կախվածությունը՝ կարելի է գրել հետևյալ հավասարումը.

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{[ES]}{[E_0]} ,$$

որտեղ  $V$ -ն ֆերմենտային ռեակցիայի սկզբնական արագությունն է սուբստրատի  $[S]$  կոնցենտրացիայի դեպքում,  $V_{\max}$ -ը՝ ֆերմենտային ռեակցիայի առավելագույն արագությունը, որը համապատասխանում է սուբստրատով ֆերմենտի հագեցվածությանը:

Նշված հավասարումների համադրումից՝

$$\frac{[ES]}{[E_0]} = \frac{[S]}{K_s + [S]} ,$$

հետևաբար նաև՝

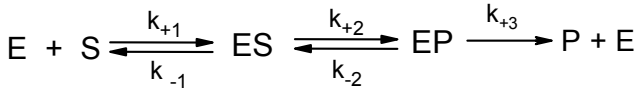
$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{[S]}{K_s + [S]} , \text{ որտեղից հետևում է՝ } V = V_{\max} \cdot \frac{[S]}{K_s + [S]} :$$

Այս վերջին հավասարումը կոչվում է Միխալեյիս-Մենտենի հավասարում: Հավասարումից հետևում է, որ եթե  $[S] \gg K_s$ -ից, ապա ռեակցիայի արագությունը կլինի առավելագույն, իսկ եթե  $[S] \ll K_s$ -ից, այդ հավասարումը կստանա այսպիսի տեսք.

$$V = V_{\max} \cdot \frac{[S]}{K_s} :$$

Հետևաբար, ֆերմենտային ռեակցիայի արագությունը համեմատական է ժամանակի տվյալ պահին սուբստրատի կոնցենտրացիային (ռեակցիայի սկզբնական փուլում):

Սակայն իրականում ֆերմենտային ռեակցիան չի ավարտվում ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսի առաջացմամբ: Հետագա փուլերում ֆերմենտ-սուբստրատ կոմպլեքսը վերածվում է ֆերմենտ-արգասիք կոմպլեքսի (EP), որն այնուհետև ճեղքվում է՝ արգասիքի և էլային ֆերմենտի առաջացմամբ:



Միխայելիս-Մենտենի հավասարումը իրավացի է միայն ռեակցիայի առաջին էտապի համար, այսինքն՝ երբ առկա է սուբստրատի ավելցուկ, և ռեակցիայի արգասիքի կոնցենտրացիան չնչին է:

Այդ կապակցությամբ Բրիգսը և Խոլդեյնը, ելնելով այն գաղափարից, որ ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսն այնուհետև քայքայվում է՝ առաջացնելով արգասիք և ֆերմենտ, տվել են ֆերմենտային ռեակցիայի արագության հետևյալ հավասարումը.

$$V = V_{\max} \cdot \frac{[S]}{K_m + [S]},$$

որտեղ  $K_m$ -ը ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսի դիսոցման հաստատունն է (Միխայելիսի հաստատուն), որը հավասար է

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}},$$

եթե  $k_{-1} \gg k_{+2}$ , ապա՝

$$K_m = \frac{k_{-1}}{k_{+1}} = K_s :$$



Այսպիսով՝ Միխայելիս-Մենտենի հավասարումը իրենից ներկայացնում է Բրիգս-Խոլդեյնի հավասարման մասնակի դեպքը:

Քանի որ՝

$$K_s = \frac{k_{-1}}{k_{+1}}, \text{ ապա } K_m = K_s + \frac{k_{+2}}{k_{+1}}:$$

Հետևաբար,  $K_m$ -ը միշտ մեծ է  $K_s$ -ից: Այն դեպքում, երբ  $[S] = K_m$ , ապա՝

$$V = \frac{V_{\max}}{2}:$$

Այսպիսով՝  $K_m$ -ը մասնավորապես հավասար է սուբստրատի այն կոնցենտրացիային, որի դեպքում ֆերմենտային ռեակցիայի սկզբնական արագությունը կազմում է առավելագույն արագության կեսը, որը նկատվում է սուբստրատով ֆերմենտի հագեցման դեպքում: Ակնհայտ է, որ ինչքան մեծ է  $K_m$ -ը, այնքան թույլ է ֆերմենտի և սուբստրատի միջև կապը, և հակառակը:

Միխայելիսի հաստատումը կարևոր նշանակություն ունի ֆերմենտային ռեակցիաներում ֆերմենտների բնութագրման համար: Քանի որ օրգանիզմում նյութերը ենթարկվում են փոխարկումների չնչին քանակություններով ( $0,01-0,000001 M$ ), ապա  $K_m$ -ի փոքր արժեքով ֆերմենտները pH-ի ֆիզիոլոգիական արժեքների պայմաններում առավել արդյունավետ են, քան  $K_m$ -ի մեծ արժեքով ֆերմենտները:

Հետևաբար, ֆերմենտային կատալիզում սուբստրատի ակտիվացումը տեղի է ունենում միջանկյալ ոչ կայուն ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսի առաջացմամբ: Այդ կոմպլեքսների հետազոտումը կապված է բավականին դժվարությունների հետ, քանի որ դրանք հիմնականում անկայուն են և արագ քայքայվում են: Սակայն ժամանակակից սպեկտրադիտական մեթոդների օգնությամբ հաջողվել է արձանագրել ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսի առկայություն:

նը որոշ ֆերմենտային ռեակցիաներում, օրինակ՝ հիդրոպերօքսիդազների դեպքում:

Ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսի առաջացմանը մասնակցում է ֆերմենտի ոչ ամբողջ մոլեկուլը, այլ ֆունկցիոնալ խմբերը, որոնք մտնում են ակտիվ կենտրոնի մեջ, օրինակ՝ կարբօքսիլային, ամինային, հիդրօքսիլային, սուլֆիդիլային և այլն: Ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսը կարող է առաջանալ կովալենտային, իոնական, կոորդինացիոն, ինչպես նաև ավելի թույլ ջրածնական, էլեկտրոստատիկ, հիդրոֆոբ և այլ փոխազդեցությունների հաշվին:

Բոլոր գործոնները, որոնք նպաստում են ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսի առաջացմանը կամ քայքայմանը, կարող են ազդել նաև ֆերմենտային ռեակցիայի արագության վրա: Ինչպես և սովորական քիմիական ռեակցիաների դեպքում, ֆերմենտային ռեակցիաների համար նույնպես կարևոր նշանակություն ունեն ֆերմենտի և սուբստրատի կոնցենտրացիաները, ջերմաստիճանը, pH-ը, ակտիվատորների և ինհիբիտորների առկայությունը:

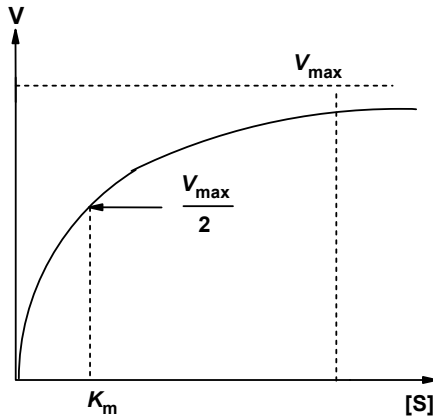
***Ֆերմենտի կոնցենտրացիայի ազդեցությունը:*** Ֆերմենտային ռեակցիայի արագությունը ուղիղ համեմատական է ֆերմենտի կոնցենտրացիային:

$$V = k \cdot [E],$$

որտեղ  $k$ -ն ռեակցիայի արագության հաստատունն է,  $[E]$ -ն՝ ֆերմենտի կոնցենտրացիան:

Գրաֆիկորեն այդ կախվածությունը ունի ուղիղ գծի տեսք:

***Սուբստրատի կոնցենտրացիայի ազդեցությունը:*** Սուբստրատի կոնցենտրացիայից ֆերմենտային ռեակցիայի արագության կախվածությունը ունի հիպերբոլիկ կորի տեսք: Սուբստրատի ցածր կոնցենտրացիաների դեպքում ռեակցիայի արագությունն ուղիղ համեմատական է սուբստրատի կոնցենտրացիային, իսկ բարձր կոնցենտրացիաների դեպքում դառնում է անկախ սուբստրատի կոնցենտրացիայից (նկար 49):



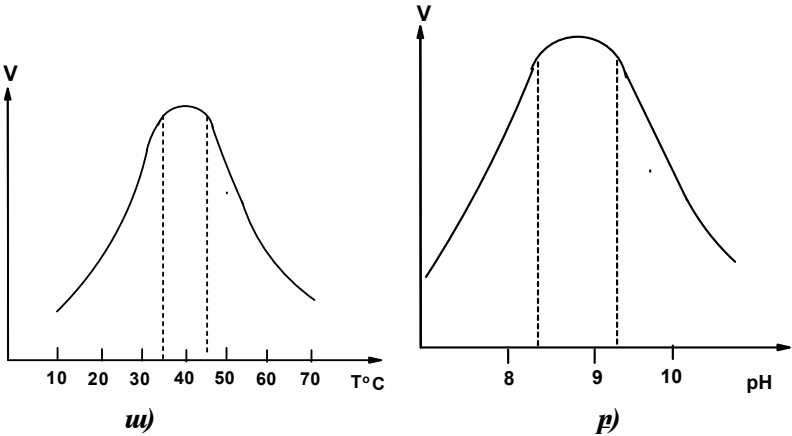
**Նկար 49.** Ֆերմենտային ռեակցիայի արագության կախվածությունը սուբստրատի կոնցենտրացիայից

Ակնհայտ է, որ առավելագույն ֆերմենտային ազդեցության հասնելու համար անհրաժեշտ է սուբստրատի բավականին բարձր կոնցենտրացիա: Օրգանիզմում հիմնականում սուբստրատի կոնցենտրացիան ցածր է առավելագույն ֆերմենտային ազդեցության համար անհրաժեշտ կոնցենտրացիայից, այսինքն՝  $[S]$ -ի արժեքը չի հասնում  $K_m$ -ի մեծությանը: Հետևաբար, ֆիզիոլոգիական պայմաններում ֆերմենտի ազդեցությունը կախված չէ ֆերմենտի կոնցենտրացիայից և գրեթե ուղիղ համեմատական է սուբստրատի կոնցենտրացիային:

Սակայն կան դեպքեր, երբ սուբստրատի կոնցենտրացիայի մեծացումը բերում է ֆերմենտի ակտիվության ճնշմանը: Երբ ֆերմենտը ունի սուբստրատի հետ փոխազդեցության երկու տարածապես իրարից անջատված կետեր, ապա սուբստրատի ավելցուկը կարող է բերել ոչ ակտիվ հագեցված ֆերմենտային կոմպլեքսի առաջացմանը, օրինակ՝ ացետիլխոլինէսթերազի դեպքում սուբստրատի կրկնակի ավելցուկը բերում է ֆերմենտի լրիվ ինակտիվացմանը (տե՛ս գլուխ 6.7.3.):

**Ջերմաստիճանի ազդեցությունը:** Ջերմաստիճանի բարձրացումից ռեակցիայի արագությունը, այդ թվում նաև՝ ֆերմենտներով կատալիզվող ռեակցիաների, որպես կանոն մեծանում է: Սակայն,

որոշակի ջերմաստիճանից սկսած, ֆերմենտները ենթարկվում են ոչ դարձելի դեմաստորացման և կորցնում են ակտիվությունը: Այդ պատճառով էլ ջերմաստիճանի բարձրացմամբ ֆերմենտային ռեակցիայի արագությունը սկզբից մեծանում է, որից հետո, անցնելով այսպես կոչված «ջերմաստիճանային օպտիմումով», կտրուկ նվազում է (նկար 50, *ա*):



**Նկար 50.** Ֆերմենտային ռեակցիայի արագության կախվածությունը ջերմաստիճանից (*ա*) և միջավայրի pH-ից (*բ*)

Կենդանական ծագում ունեցող ֆերմենտների համար ջերմաստիճանային օպտիմումը համարժեք է 40-50°C տիրույթին, իսկ բուսական ծագման ֆերմենտների համար՝ 50-60°C:

Ֆերմենտները հիմնականում ինակտիվանում են 40°C-ից բարձր ջերմաստիճանային տիրույթում, սակայն կան բացառություններ, օրինակ՝ ծովաբողկից անջատված պերօքսիդազն իր ակտիվությունը չի կորցնում նույնիսկ լուծույթի եռման ժամանակ: Սակայն հայտնի են նաև ֆերմենտներ, որոնք ցուցաբերում են օպտիմալ ակտիվություն ցածր ջերմաստիճանի պայմաններում, օրինակ՝ կատալազը, որի օպտիմալ ջերմաստիճանը գտնվում է 0-10°C մարզում:

**рН-ի ազդեցությունը:** Ֆերմենտային ակտիվության վրա զգալի ազդեցություն է թողնում միջավայրի рН-ը, որի սահմանային արժեքների դեպքում (ուժեղ թթվային կամ հիմնային) տեղի է ունենում ֆերմենտի ոչ դարձելի դեմատուրացում (նկար 50, **բ**):

Միջավայրի рН-ի արժեքն ազդեցություն է թողնում նաև սուբստրատի նկատմամբ ֆերմենտի խնամակցության վրա: Յուրաքանչյուր ֆերմենտի համար рН-ի որոշակի արժեքի տիրույթում նրանով կատալիզվող ռեակցիան ընթանում է մաքսիմալ արագությամբ: рН-ի այդ տիրույթը կոչվում է «рН-օպտիմում»: Ընդ որում՝ միևնույն ֆերմենտը տարբեր սուբստրատների ներկայությամբ կարող է ունենալ տարբեր օպտիմալ рН-ի արժեքներ:

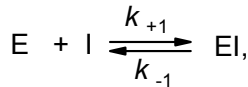
рН-ի ազդեցությունը ֆերմենտի ակտիվության վրա պայմանավորված է նրանով, որ ֆերմենտն իր կառուցվածքում պարունակում է մեծ թվով ֆունկցիոնալ խմբեր ( $\alpha$ -կարբօքսիլային և  $\alpha$ -ամինային, ռադիկալի կարբօքսիլային և ամինային, ցիստեինի սուլֆիդիլային, թիրոզինի հիդրօքսիլային, հիստիդինի իմիդազոլային, արգինինի գուանիդինային և այլն), և միջավայրի рН-ի փոփոխությունը կարող է ազդել այդ խմբերի իոնիզացվածության աստիճանի վրա: Հետևաբար, միջավայրի рН-ի փոփոխությունից կախված՝ փոխվում է ֆերմենտի մոլեկուլի պոլիպեպտիդային շղթայի մակրոկառուցվածքը, ինչն ուղեկցվում է որոշ խմբերի տարածապես իրար մոտեցմամբ կամ հեռացմամբ, իսկ դա որոշիչ կարող է լինել ֆերմենտի ակտիվության դրսևորման համար: Բնականաբար, ֆերմենտային ակտիվության վրա առավել մեծ ազդեցություն կարող է ցուցաբերել ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնում կամ նրա անմիջական հարևանությամբ գտնվող ֆունկցիոնալ խմբերի իոնիզացվածության վիճակի փոփոխությունը:

Ֆերմենտները կարող են գտնվել բազմաթիվ իոնական ձևերով, որոնցից մեկը, որը բնութագրվում է դրական և բացասական լիցքերի հավասարությամբ, հանդիսանում է իզոէլեկտրիկ ձևը: Եվ քանի որ ֆերմենտի կատալիտիկ ակտիվությունը դրսևորվում է рН-ի բավականին նեղ մարզում, հավանաբար ֆերմենտի միայն մեկ իոնական ձևն է համապատասխանում կատալիտիկ ակտիվ վիճակին:

**Ինհիբիտորներ և ակտիվատորներ:** Ֆերմենտների ազդեցության վրա ազդող կարևորագույն գործոններից են ռեակցիոն միջավայրում ինհիբիտորների կամ ակտիվատորների առկայությունը: Ինհիբիտորների դասին են պատկանում այն միացությունները, որոնց ներկայությամբ տեղի է ունենում ֆերմենտային ռեակցիայի արգելակում: Օրինակ՝ կալիումի ցիանիդի ազդեցությամբ նկատվում է ցիտոքրոմօքսիդազի ֆերմենտային ակտիվության ճնշում, ինչը բերում է շնչառական շղթայի խախտման, և սկսվում է օրգանիզմի մահը:

Ֆերմենտների ինհիբացումն ունի մեծ տեսական և կիրառական նշանակություն: Ինհիբիտորները որոշիչ դեր են խաղում ֆերմենտային ռեակցիաների մեխանիզմների հետազոտման, ֆերմենտների ֆունկցիոնալ խմբերի նույնականացման և այլ գործընթացներում:

Ինհիբիտորի հետ ֆերմենտի փոխազդեցության արդյունքում առաջանում է ֆերմենտ-ինհիբիտորային կոմպլեքս, որն ընդունակ է դիսոցման:



որտեղ  $I$ -ն՝ ինհիբիտոր,  $E$  - ն՝ ֆերմենտ,  $EI$ -ն՝ ֆերմենտ-ինհիբիտորային կոմպլեքս

Ֆերմենտ-ինհիբիտորային կոմպլեքսի դիսոցման հաստատունը ( $K_I$ ) արտահայտվում է հետևյալ հավասարումով՝

$$K_I = \frac{k_{-1}}{k_{+1}} = \frac{[E][I]}{[EI]}:$$

Կախված ֆերմենտ-ինհիբիտոր կապի ամրությունից՝ ֆերմենտի ազդեցության արգելակումը կարող է լինել *դարձելի* կամ *ոչ դարձելի*: Ֆերմենտի ոչ դարձելի ինհիբիցման վառ օրինակ է տրիպսինի վրա դիիզոպրոպիլֆտորֆոսֆատի ազդեցությունը: Առաջացած ֆերմենտի դիիզոպրոպիլֆոսֆատային ածանցյալը բավականին կայուն միացություն է ( $k_{-1}$ -ը մոտ է զրոյի), և ֆերմենտի ազդեցությունը դադարում է:

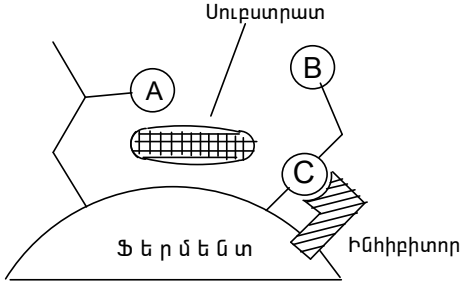
Դարձելի ինհիբիցման դեպքում, երբ ֆերմենտին միանում է սուբստրատին կառուցվածքով շատ մոտ նյութ, սուբստրատի և նրան կառուցվածքային մոտ նմանակի միջև սկսվում է մրցակցություն՝ ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնը զբաղեցնելու համար: Ինհիբիտորը և սուբստրատը ձգտում են մեկը մյուսին դուրս մղել ֆերմենտի հետ առաջացրած կոմպլեքսից: Ֆերմենտային ռեակցիայի նման տեսակի արգելակումը կոչվում է *մրցակցային ինհիբացում*: Այդ դեպքում ֆերմենտային ռեակցիայի արագությունը որոշվում է համապատասխանաբար EI և ES կոմպլեքսների դիսոցման հաստատուններով և սուբստրատի ու ինհիբիտորի կոնցենտրացիաների հարաբերությամբ:

Մրցակցային ինհիբիցման օրինակ կարող է ծառայել սաթաթղթվի դեհիդրման ռեակցիայի ճնշումը մալոնաթթվով: Կառուցվածքային նմանության պատճառով մալոնաթթուն զբաղեցնում է սուկցինատդեհիդրոգենազ ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի այն հատվածը, որը նախատեսված էր սաթաթթվի համար, սակայն օքսիդացման ռեակցիա տեղի չի ունենում: Զանի որ այս դեպքում EI կոմպլեքսի դիսոցման հաստատունը ավելի փոքր է, քան ES կոմպլեքսի դիսոցման հաստատունը, մալոնաթթուն նույնիսկ չնչին կոնցենտրացիաների դեպքում կարող է ճնշել սուկցինատդեհիդրոգենազ ֆերմենտի ակտիվությունը: Ընդ որում՝ սաթաթթվի կոնցենտրացիայի հետագա մեծացման դեպքում ֆերմենտի ինհիբիցումը լրիվ անհետանում է:

Որոշ դեպքերում արգելակումը տեղի է ունենում ոչ մրցակցային մեխանիզմով, քանի որ ինհիբիտորը չի միանում ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի ֆունկցիոնալ խմբերին, որոնք կապված են սուբստրատի հետ: Այս դեպքում ինհիբիցման աստիճանը կախված չէ սուբստրատի կոնցենտրացիայից: Համաձայն մակաձված համապատասխանելիության սկզբունքի՝ ոչ մրցակցային ինհիբիցման դեպքում ինհիբիտորը ճնշում է ֆերմենտի ակտիվությունը՝ խախտելով սուբստրատի հանդեպ ֆերմենտային ռեակցիայի համար ակտիվ A, B և C խմբերի անհրաժեշտ դասավորվածությունը՝ սպիտակուցային մոլեկուլի ընդհանուր դեֆորմացման հետևանքով (նկար 51):

Ֆերմենտային ռեակցիաների ոչ մրցակցային ինհիբացումն այլ կերպ կոչվում է *ալոստերիկ* (կառուցվածքային չկապված) *ինհիբի-*

ցում, իսկ սպիտակուց-ֆերմենտները, որոնք ընդունակ են ոչ մրցակցային ինհիբիցման, կոչվում են *ալոստերիկ ֆերմենտներ* կամ *ալոստերիկ սպիտակուցներ*: Ալոստերիկ ինհիբիցումը համարվում է օրգանիզմում ընթացող կենսաքիմիական պրոցեսների կարգավորման ամենակարևոր մեխանիզմներից մեկը:



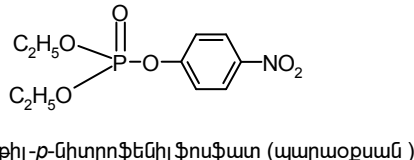
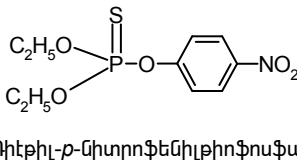
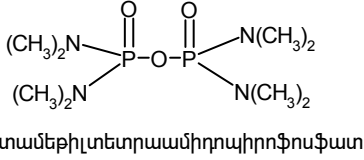
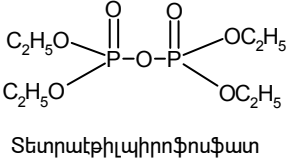
**Նկար 51.** Ոչ մրցակցային ինհիբիցում (համաձայն ճկուն ակտիվ կենտրոնի մեխանիզմի)

Ինհիբիտորներից բացի՝ կան միացություններ, որոնք նպաստում են ֆերմենտային ռեակցիայի ընթացքին: Դրանք կոչվում են ֆերմենտների ակտիվատորներ: Ակտիվատորի մոլեկուլը կարող է հարուցել ֆերմենտի սպիտակուցային մոլեկուլի այնպիսի կոնֆորմացիոն փոփոխություններ, որոնք նպաստում են սուբստրատի հետ ֆերմենտի կապմանը և ֆերմենտի ակտիվացմանը ալոստերիկ փոխազդեցությունների հաշվին: Սի շարք ֆերմենտների համար առավել տարածված ակտիվատոր է հանդիսանում *գլուտամատը*, որը, վերականգնելով սպիտակուցային շղթայի դիսուլֆիդային կապերը մինչև սուլֆիդիդիլային խմբերի, ակտիվացնում է թիոլային ֆերմենտները:

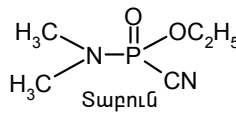
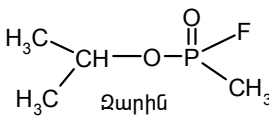
Հետաքրքիր ինհիբիտորներ են համարվում ֆոսֆորի օրգանական միացությունները: Այդ միացությունները համարվում են յուրահատուկ ինհիբիտորներ էսթերազային ակտիվությամբ օժտված ֆերմենտների համար, օրինակ՝ խոլինէսթերազի, ացետիլխոլինէսթերազի, տրիպսինի, քիմոտրիպսինի և այլն: Ֆոսֆորօրգանական միա-



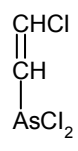
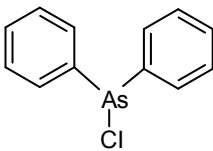
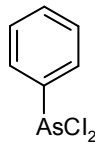
ցությունները համարվում են ուժեղ տոքսիկ միացություններ կենսորոնական նյարդային համակարգի ֆերմենտների համար, որտեղից էլ ծագել է նրանց «ներվային թույն» անվանումը: Ֆոսֆորօրգանական միացությունները փոխազդում են ֆերմենտների ակտիվ կենտրոնների հետ և ոչ դարձելի ձևով ինհիբիցնում նրանց:



Ֆիզիոլոգիապես ակտիվ և կարևոր ֆոսֆորօրգանական միացությունների շարքին են պատկանում նաև **զարինը** և **տարունը**:



Ֆերմենտների հայտնի ինհիբիտորների թվին են պատկանում նաև արսենի միացությունները, որոնց դասական և լավ տարածված ներկայացուցիչներն են **ֆենիլդիլորարսինը**, **դիֆենիլլլորարսինը** և **լյուիսիտը**:



Այդ ինհիբիտորների ազդեցությունը պայմանավորված է ֆերմենտների թիվային խմբերի հետ նրանց փոխազդեցությամբ մերկապտիդների առաջացմամբ: Այդ պատճառով արսենի միացությունների ինհիբիցնող ազդեցությունը հեշտությամբ հանվում է այլ թիվային միացություններով, օրինակ՝ ցիստեինով, գլուտատիոնով և այլն:

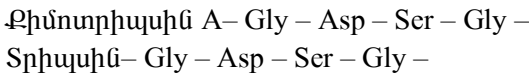
### **6.11. Որոշ ֆերմենտների ազդեցության մեխանիզմները**

Ֆերմենտային ռեակցիաների արագության վրա ազդող գործոնների պարզաբանման, ինչպես նաև միջանկյալ ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսների անջատման և նրանց քիմիական ու ֆիզիկական հատկությունների հետազոտության արդյունքում ստեղծվել են մի շարք տեսություններ, որոնք հնարավորություն են տալիս բացահայտելու որոշ ֆերմենտների ազդեցության հնարավոր մեխանիզմները: Ֆերմենտի կատալիտիկ ակտիվությունը և սուբստրատային սպեցիֆիկությունը որոշվում են կատալիզվող ռեակցիայի, սուբստրատի և ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի ֆունկցիոնալ խմբերի բնույթով:

#### **6.11.1. Հիդրոլազ ֆերմենտների ազդեցության մեխանիզմը**

Բազմաթիվ հետազոտողների կողմից ենթադրվել է, որ էսթերային կապեր հիդրոլիզելու և դիլզոպրոպիլֆոսֆոսֆատի հետ ռեակցիվելու հիդրոլազ ֆերմենտների ընդհանուր հատկությունը պայմանավորված է նրանց մոտ միևնույն կամ քիմիական կառուցվածքով մոտ ակտիվ կենտրոնների առկայությամբ:

Հիդրոլազ ֆերմենտների ակտիվ կենտրոնը պարունակում է հիստիդինի իմիդազոլային և սերինի հիդրօքսիլային խմբեր: Բացի դրանից՝ որոշ հիդրոլազների համար բացահայտված են ակտիվ կենտրոնի սերինի անմիջական հարևանությամբ գտնվող ամինաթթուների հաջորդականությունները:



Կարբօքսիլէսթերազ– Gly – Glu – Ser – Ala –

Խոլինէսթերազ– Gly – Glu – Ser – Ala –

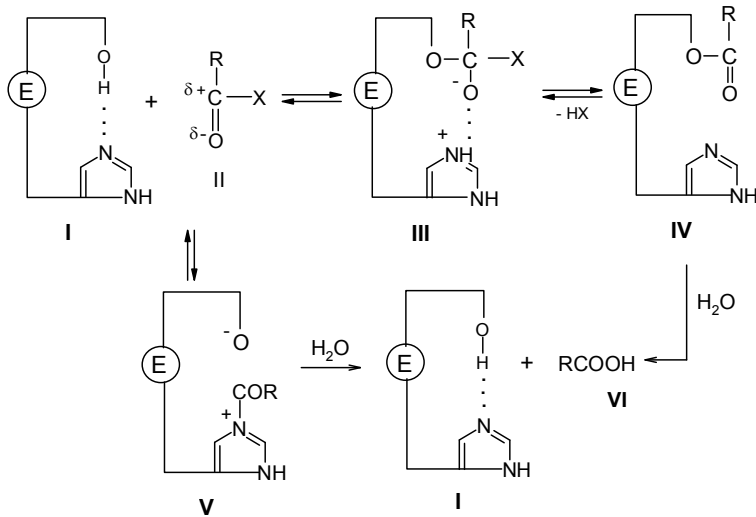
Տրոմբին– Asp – Ser – Gly –

Քիմոտրիպսին B– Asp – Ser – Gly –

Այդ բոլոր ֆերմենտներն ակտիվ կենտրոնի մոտակայքում բաշխված ամինաթթուների հաջորդականությամբ շնչին են տարբերվում: Ընդ որում՝ «իրական» էսթերազները սերինի մնացորդի հարևանությամբ պարունակում են գլուտամինաթթու և ալանին, իսկ հիդրոլազները, որոնք օժտված են ինչպես էսթերազային, այնպես էլ պեպտիդազային ակտիվությամբ, սերինի հարևանությամբ պարունակում են ասպարազինաթթու և գլիցին:

Հիդրոլազային ակտիվությամբ օժտված մման մեծ թվով ֆերմենտների ակտիվ կենտրոնների նմանությունը հիմք է հանդիսացել ենթադրելու, որ հիդրոլազ ֆերմենտների ազդեցությամբ էսթերային կապերի ֆերմենտային հիդրոլիզի սխեման ընդհանուր է: Մխենայի հիմքում ընկած է թթվահիմնային կատալիզի համաժամանակյա բիֆունկցիոնալ մեխանիզմը (սխեմա 114):

### Սխեմա 114



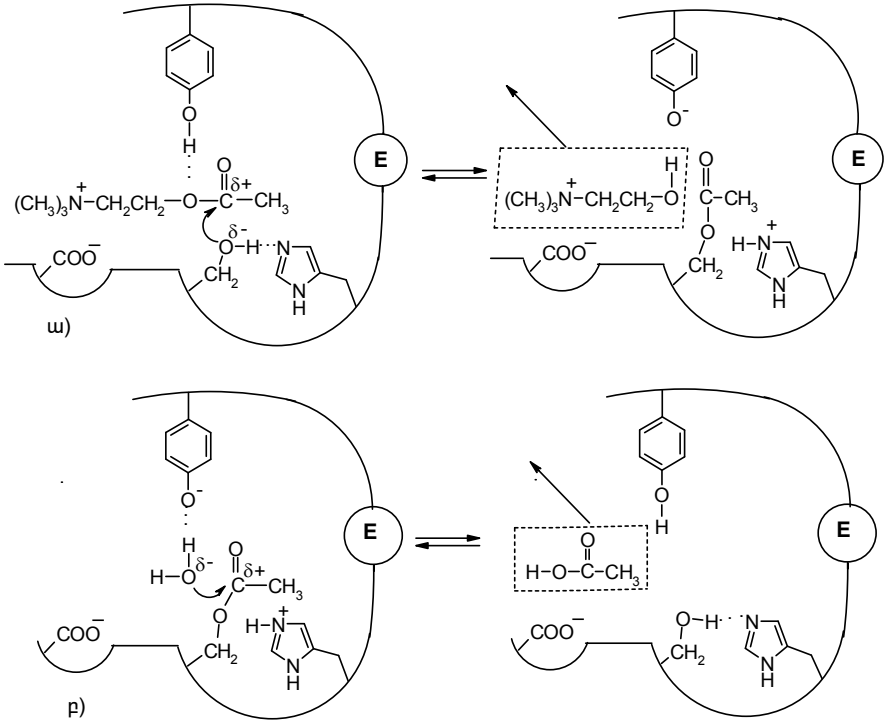
Համաձայն այդ սխեմայի՝ ֆերմենտի (I) ակտիվ կենտրոնի սերինի մնացորդի հիդրօքսիլային խմբի թթվածինը, որը հիստիդինի իմիդազոլային օղակի երրորդային ազոտի ազդեցությամբ ձեռք է բերում բավարար նուկլեոֆիլություն, գրոհում է սուբստրատի (II) էսթերային խմբի էլեկտրոֆիլ ածխածնի ատոմի վրա: Արդյունքում առաջանում է ոչ կայուն ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքս (III), որը կայունանում է սուբստրատի կարբոնիլային թթվածնի և ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի իմիդազոլային օղակի միջև ջրածնական կապի առաջացմամբ: Այն վերջնականապես կայունանում է HX մնացորդի արձակմամբ և O-ացիլված ֆերմենտի (IV) առաջացմամբ: Այնուհետև իմիդազոլային օղակի երրորդային ազոտի և ջրի մոլեկուլի համաժամանակյա մակաձված ազդեցության հետևանքով ացիլված ֆերմենտը (IV) ենթարկվում է դեգացիլման՝ առաջացնելով հիդրոլիզի արգասիք կարբոնաթթու (VI): Այդ ընթացքում վերականգնվում է ֆերմենտի ելային ակտիվ կառուցվածքը (I):

Ենթադրվել է նաև, որ նուկլեոֆիլ ազենտի դերում կարող է հանդես գալ նաև իմիդազոլի երրորդային ազոտի ատոմը: Այս դեպքում իմիդազոլային խմբի ազոտի մասնակցությամբ առաջանում է ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքս՝ N-ացիլված ֆերմենտ (V), որը այնուհետև ենթարկվում է ջրի մոլեկուլի և ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի սերինի մնացորդի իոնիզացված թթվածնի համաժամանակյա հարձակմանը: Արդյունքում տեղի է ունենում N-ացիլված ֆերմենտի հիդրոլիզ՝ կարբոնաթթվի (VI) և ելային ֆերմենտի (I) առաջացմամբ: Սակայն գիտնականների շրջանում ավելի ընդունված է առաջին տարբերակը՝ միջանկյալ O-ացիլված ֆերմենտի (IV) առաջացմամբ հիդրոլիզի մեխանիզմը:

### ***6.11.2. Ացետիլխոլինիդրոլազների ազդեցության մեխանիզմը***

Ացետիլխոլինիդրոլազ ֆերմենտների ակտիվ կենտրոնը կազմված է երկու հատվածից՝ անիոնային և էսթերազային: Երբ ացետիլխոլինը մոտենում է ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնին, տեղի է ունենում ֆերմենտի անիոնային հատվածի հետ նրա տրիմերիլամո-

նիումային խմբի կապում: Ռ-ա իր հերթին հեշտացնում է ացետիլխոլինի ացետիլային խմբի փոխազդեցությունը ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի էսթերազային հատվածի սերինի հիդրօքսիլային խմբի հետ, որը բերում է խոլինի ացետիլային կապի խզմանը և պոկված ացետիլային մնացորդի ու սերինի հիդրօքսիլային խմբի թթվածնի միջև կապի առաջացմանը (նկար 52, *ա*):



**Նկար 52.** Ացետիլխոլինհիդրոլազի ազդեցության մեխանիզմը  
*ա*) ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի ացիլումը  
*բ*) ացիլված ֆերմենտի հիդրոլիզը

Այդ պրոցեսին մասնակցում են պրոտոնի ակցեպտոր և դոնոր խմբեր: Պրոտոնի ակցեպտորի դերում հանդես է գալիս ֆերմենտի

ակտիվ կենտրոնի հիստիդինի մնացորդի իմիդազոլային օղակը, իսկ դոնորի դերում՝ թիրոզինի մնացորդի օքսիֆենիլային խումբը, որը ֆերմենտի գծային պոլիպեպտիդային շղթայում բավականին հեռու է գտնվում սերինի մնացորդից, սակայն ֆերմենտի մակրոկառուցվածքում մոտ է բաշխված ակտիվ կենտրոնին:

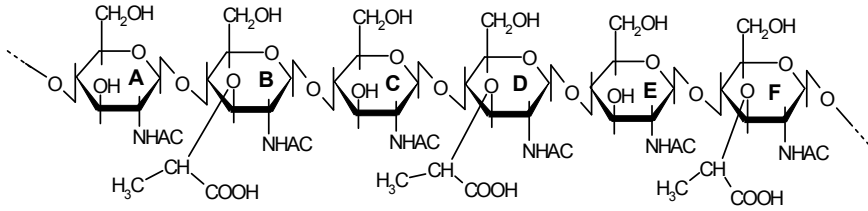
Հնարավոր է, որ մման փոխազդեցությունը ուղեկցվում է ֆերմենտի պոլիպեպտիդային շղթայի զգալի կոնֆորմացիոն փոփոխությամբ, ինչի արդյունքում բավականին հեշտանում է առաջացած հիդրօքսիլտոլինի դետորբեցիան ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնից: Հավանաբար, դրան նպաստում է հիդրօքսիլտոլինի ուժեղ սովատացումը լուծիչի մոլեկուլներով:

Խոլինի հեռացումից հետո O-ացիլված ֆերմենտը ենթարկվում է հիդրոլիզի: Դրա համար տեղի են ունենում ֆերմենտի ակտիվ խոռոչ ներթափանցած ջրի պրոտոնով իոնիզացված թիրոզինի մնացորդի չեզոքացում և ջրից անջատված ակտիվ հիդրօքսիլային իոնի նուկլեոֆիլ հարձակումը O-ացիլված ֆերմենտի վրա (նկար 52, **բ**): Արդյունքում ացիլված ֆերմենտից անջատվում է քացախաթթու, և վերականգնվում է ֆերմենտի ելային կառուցվածքը:

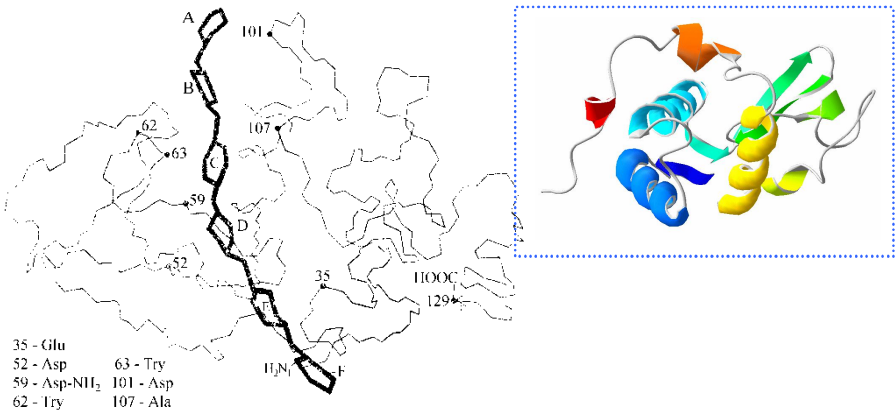
### **6.11.3. Լիզոցիմի ազդեցության մեխանիզմը**

Լիզոցիմը ֆերմենտ է, որը կատալիզում է բակտերիալ բջիջների թաղանթի մուկոպոլիսախարիդների կամ մուկոպոլիպեպտիդների բաղադրության մեջ գտնվող N-ացետիլմուրամոթթվի և N-ացետիլ-D-գլյուկոզամինի միջև առաջացած  $\beta$ -1, 4-գլիկոզիդային կապերի հիդրոլիզը:

Լիզոցիմի պոլիպեպտիդային շղթան կառուցված է այնպես, որ մակրոկառուցվածքում սպիտակուցային մոլեկուլի արտաքին մակերևույթին առաջանում է խոր ճեղքվածք (խոռոչ), որտեղ մտնում է լիզոցիմի սուբստրատը՝ պոլիսախարիդային շղթայի 6 ամինաազաքարների մնացորդներից կազմված հատվածը:



Լիզոցլիմի մակերևույթի այդ նույն խոռոչում է բաշխված ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնը, որտեղ մտնում է սուբստրատի մոլեկուլի հեքսաամինաչաքարային մնացորդը (նկար 53):



**Նկար 53.** Լիզոցլիմի մոլեկուլի մակերևույթի խոռոչում սուբստրատի բաշխման սխեման

Ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսի առաջացմանը մասնակցում են խոռոչի արտաքին մակերևույթին բաշխված մի շարք ամինաթթվային մնացորդներ, որոնք հեքսաամինաչաքարային մնացորդի առանձին բաղադրամասերի հետ առաջացնում են ջրածնական կապեր: Ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսն առաջանում է 6 ջրածնական կապերի հաշվին: I ջրածնական կապն առաջանում է սուբստրատի հեքսաամինաչաքարային մնացորդի C օղակի ացետամիդային խմբի կարբոնիլի և ֆերմենտի գլխավոր պոլիպեպտի-

դային շրթայի 59-րդ դիրքում գտնվող ասպարազինի NH խմբի միջև, II ջրածնական կապն առաջանում է հեքսաամինաշաքարային մնացորդի C օղակի ացետամիդային մնացորդի NH խմբի և ֆերմենտի գլխավոր պոլիպեպտիդային շրթայի 107-րդ դիրքում գտնվող ալանինի կարբոնիլային խմբի միջև, III և IV ջրածնական կապերն առաջանում են սուբստրատի հեքսաամինաշաքարային մնացորդի C օղակի 3-րդ և 6-րդ ածխածնի ատոմների մոտ գտնվող թվածնի ատոմների և ֆերմենտի գլխավոր պոլիպեպտիդային շրթայի 62-րդ և 63-րդ դիրքերում գտնվող տրիպտոֆանի մնացորդների ռադիկալի խմբերի միջև, V և VI ջրածնական կապերն առաջանում են սուբստրատի հեքսաամինաշաքարային մնացորդի A օղակի ացետամիդային խմբի և B օղակի 6-րդ ածխածնի ատոմի մոտ գտնվող թվածնի ատոմի և ֆերմենտի գլխավոր պոլիպեպտիդային շրթայի 101-րդ դիրքում գտնվող ասպարազինաթթվի մնացորդի միջև:

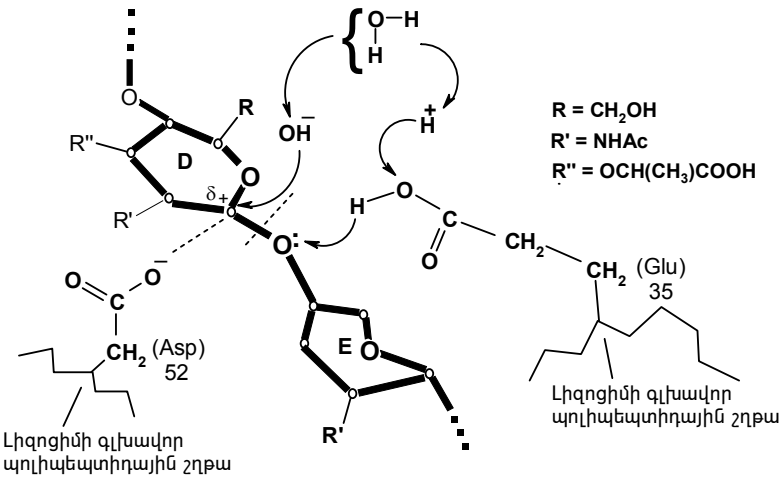
Ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսի առաջացման ժամանակ տեղի է ունենում հեքսաամինաշաքարային մնացորդի D ածխաջրային օղակի դեֆորմացում, և D օղակը կայուն բազկաթոռ կոնֆորմացիայից անցնում է ավելի քիչ կայուն կիսաբազկաթոռ կոնֆորմացիայի, ինչի արդյունքում նրա 1, 2 և 5-րդ ածխածնի ատոմները և թվածնի ատոմը հայտնվում են նույն հարթության վրա: Ակնհայտ է, որ նման կոնֆորմացիան նպաստում է D օղակի 1 ածխածնի ատոմի և գլիկոզիդային թվածնի միջև առաջացած կապի խզմանը:

Ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսում պոլիսախարիդը բաշխվում է այնպես, որ ճեղքվող կապը գտնվում է ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի ֆունկցիոնալ խմբերի անմիջական մոտակայքում: Ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի մեջ մտնում են պոլիպեպտիդային շրթայի 52-րդ դիրքում գտնվող ասպարազինաթթվի և 35-րդ դիրքում գտնվող գլուտամինաթթվի մնացորդները, որոնք մակրոկառուցվածքում իրար բավականին մոտ են բաշխված (նկար 54):

Այդ ամինաթթուների ակտիվ խմբերը գտնվում են ճեղքվող կապի հարևանությամբ և անմիջականորեն մասնակցում են կատալիտիկ ակտին: Սովորական պայմաններում ասպարազինաթթուն և գլուտամինաթթուն համարվում են ֆիզիկաքիմիական հատկություն-



ներով իրար բավականին մոտ ամինաթթուներ, ասկայն ֆերմենտի ակտիվ խոռոչում այդ երկու ամինաթթուների հատկությունները բավականին տարբերվում են, և դա պայմանավորված է ակտիվ կենտրոնի ֆունկցիոնալ խմբերի ազդեցությամբ: Ասպարագինաթթվի մնացորդը գտնվում է բևեռացված խմբերի (46 և 59-րդ ասպարագինի մնացորդների) շրջապատում, հեշտությամբ տալիս է պրոտոն և գտնվում է բացասական լիցքավորված մասնիկի տեսքով, իսկ գլուտամինաթթվի մնացորդը շրջապատված է ոչ բևեռացված խմբերով և ընդունակ է ընդունել պրոտոն:



**Նկար 54.** Lիզոցինի ազդեցության մեխանիզմը

Ֆերմենտի և սուբստրատի փոխազդեցության ժամանակ գլուտամինաթթվի մնացորդը, որը գտնվում է ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնում, ջրի մոլեկուլի պրոտոնին ընդունում և փոխանցում է գլիկոզիդային թթվածնի ատոմին: Դա բերում է սուբստրատի D օղակի 1 ամիսածնի ատոմի և գլիկոզիդային թթվածնի միջև կապի թուլացմանը: Արդյունքում առաջացած կարբկատիոնը կայունանում է ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնում գտնվող ասպարագինաթթվի բացասական լից-

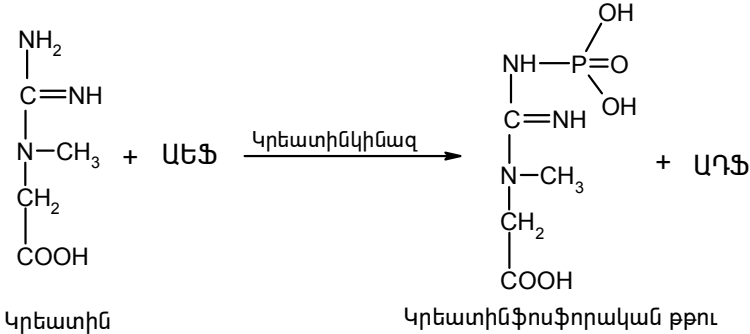
քավորված մնացորդի հետ փոխազդեցությամբ: Գլիկոզիդային կապի վերջնական խզումը տեղի է ունենում կարբկատիոնի վրա ջրի մոլեկուլից անջատված հիդրօքսիլ իոնի գրոհմամբ, որը բերում է պոլիսախարիդի հիդրոլիզի և ֆերմենտի ելային մակրոկատուցվածքի վերականգնման:

**6.11.4. Տրանսֆերազ ֆերմենտների ազդեցության մեխանիզմը**

Տրանսֆերազները, կախված տեղափոխվող քիմիական խմբերի և մնացորդների բնույթից, կարող են մասնակցել մետաբոլիզմի բազմաթիվ պրոցեսների: Տրանսֆերազներով կատալիզվող ռեակցիաների համար բնութագրական է միջանկյալ փուլում տեղափոխվող մնացորդի կամ խմբի և ֆերմենտի միջև միացության առաջացումը, օրինակ՝ ֆոսֆատային խմբի տեղափոխման ռեակցիաներում առաջանում է միջանկյալ ֆոսֆորիլացված ֆերմենտ:

Սակայն կան բացառություններ, օրինակ՝ կրեատինկինազ ֆերմենտով կատալիզվող ֆոսֆորիլացման ռեակցիաներում ֆոսֆորական թթվի մնացորդի տեղափոխումը մի սուբստրատից (ԱԵՖ) մյուս սուբստրատին (կրեատինին) տեղի է ունենում առանց միջանկյալ փուլում ֆերմենտի հետ կապման (սխեմա 115):

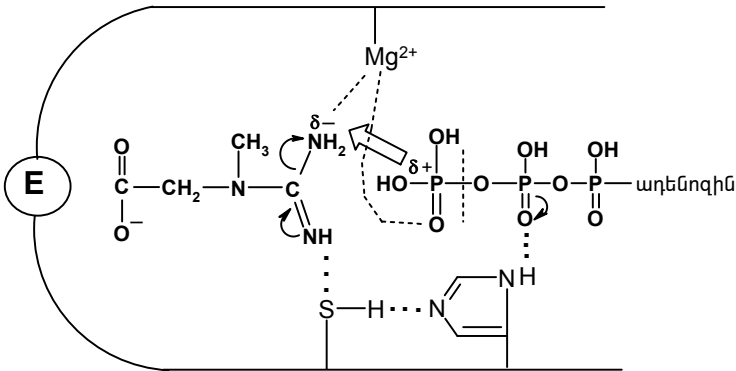
**Սխեմա 115**



Կրեատինկինազ ֆերմենտի ազդեցությունը պայմանավորված է ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսի առաջացմամբ և այդ կոմպ-

լեքսում էլեկտրոնների հետագա վերաբաշխմամբ, որը բերում է համապատասխան ռեակցիայի:

Կրեատինկինազի ակտիվ կենտրոնի մեջ մտնում է թթվահիմնային գույզ՝ թիոլ-իմիդազոլ: Բացի դրանից՝ կրեատինկինազը ցուցաբերում է ֆերմենտային ակտիվություն միայն  $Mg^{2+}$  իոնի ներկայությամբ (նկար 55):



**Նկար 55.** Կրեատինկինազի ազդեցության մեխանիզմը

Կրեատինի ֆոսֆորիլացման ժամանակ առաջանում է ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքս ֆերմենտի և երկու սուբստրատների միջև ջրածնական կապերի առաջացման հաշվին: Առաջին ջրածնական կապն առաջանում է ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի սուլֆիդիլային խմբի նուկլեոֆիլ ծծմբի և առաջին սուբստրատի՝ կրեատինի գուանիդինային մնացորդի էլեկտրոֆիլ ջրածնի ատոմների միջև: Երկրորդ ջրածնական կապն առաջանում է ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի իմիդազոլային օղակի երկրորդային ազոտի ջրածնի (իմինային խմբի) և երկրորդ սուբստրատի՝ ԱԵՖ-ի  $\beta$ -ֆոսֆատային մնացորդի թթվածնի ատոմների միջև: Այնուհետև տեղի է ունենում առաջացած ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսում էլեկտրոնային խտության վերաբաշխում, ինչի արդյունքում մեծանում են կրեատինի մոլեկուլի  $NH_2$  խմբի նուկլեոֆիլությունը և ԱԵՖ-ի մոլեկուլի  $\gamma$ -ֆոսֆատային մնացորդի ֆոսֆորի ատոմի էլեկտրոֆիլությունը: Դա իր հերթին հեշ-

տացնում է ԱԵՖ-ի մոլեկուլից  $\gamma$ -ֆոսֆատային մնացորդի փոխանցումը կրեատինի մոլեկուլին՝ առաջացնելով կրեատինֆոսֆորական թթու:

Այս պրոցեսում  $Mg^{2+}$  իոնի դերը հավանաբար կայանում է նրանում, որ այն, կոորդինացվելով երկու սուբստրատների հետ, կարողանում է դրանց ճիշտ կողմնորոշել ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի շուրջը, ինչպես նաև նպաստում է ԱԵՖ-ի էլեկտրոֆիլության մեծացմանը՝ բացասական լիցքերի մասնակի չեզոքացման ճանապարհով:

### 6.12. Մետաղի դերը ֆերմենտային կատալիզում

Ֆերմենտի ակտիվությունը հաճախ կախված է նրա բաղադրության մեջ մտնող մետաղի իոնից: Տարբերվում են իրական մետաղաֆերմենտները և ֆերմենտները, որոնք ակտիվանում են մետաղի իոններով (ֆերմենտի կոֆակտորներով):

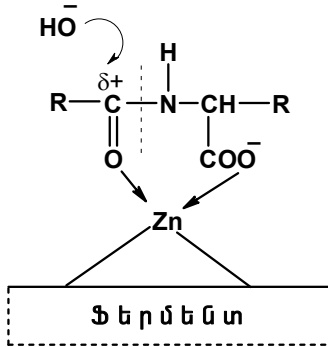
Մետաղաֆերմենտները պարունակում են տարբեր մետաղներ, օրինակ՝ լեյցինամինապեպտիդազը պարունակում է Mn և Mg, պեքսիդազը, կատալազը և ցիտոքրոմօքսիդազը՝ Fe,  $\alpha$ -ամիլազը՝ Ca, ալկահոլդեհիդրոգենազը, կարբօքսիպեպտիդազ A-ն՝ Zn, Օ-ֆենոլօքսիդազը, ասկորբինատօքսիդազը՝ Cu և այլն: Ընդ որում՝ ֆերմենտի հետ մետաղի առաջացրած կապի ամրությունը կախված է մետաղի և նրա հետ կապ առաջացրած ֆերմենտի ֆունկցիոնալ խմբերի բնույթից:

Ո՞րն է մետաղի դերը մետաղաֆերմենտներում: Մետաղը, շնորհիվ խելատային կոմպլեքսներ առաջացնելու ունակության, ապահովում է մատիվ սպիտակուց-ֆերմենտի մակրոկատուցվածքի կայունությունը, որն անհրաժեշտ է նրա կատալիտիկ ակտիվության արտահայտման համար: Մետաղի մասնակցությունը ֆերմենտի մակրոկատուցվածքի պահպանման գարծրնթացին լավ արտահայտված է ալկահոլդեհիդրոգենազի օրինակի վրա: Այդ ֆերմենտն իր մոլեկուլում պարունակում է չորս Zn-ի ատոմ, և յուրաքանչյուր Zn-ի հեռացումը բերում է ոչ միայն ֆերմենտի ինակտիվացմանը, այլ նաև ֆերմենտի մոլեկուլի դիսոցմանը չորս առանձին բաղադրիչների: Իսկ,

օրինակ,  $\alpha$ -ամիլազի դեպքում Ca-ի ատոմը կապում է սպիտակուցի մի քանի բաղադրամասերը մեկ կատալիտիկ ակտիվ պոլիմերի մեջ:

Փոփոխական վալենտականության մետաղները, օրինակ՝ Fe, Cu, Mn և այլն, մասնակցում են օքսիդավերականգնման ռեակցիաներին՝ որպես էլեկտրոնների փոխադրիչներ: Օրինակ՝ հեմ պարունակող մետաղաֆերմենտները կենսաբանական օքսիդացման պրոցեսներում կատարում են հիմնական ակտիվ դերը, նրանք իրականացնում են էլեկտրոնների փոխադրումը բջջում ընթացող օքսիդացման ռեակցիաների շղթայում: Այդ ֆերմենտները պարունակում են երկաթ, որն ընդունակ է հեշտությամբ ընդունել և տալ էլեկտրոններ: Հեմ պարունակող ֆերմենտներում երկաթի ատոմը կովալենտ և կոորդինացիոն կապերով կապված է պորֆիրինային համակարգի ազոտի ատոմներին և կոորդինացիոն կապով հիստիդինի մնացորդի իմիդազոլային խմբին:

Մետաղը մտնում է մետաղաֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի մեջ և սուբստրատի մոլեկուլի հետ կոորդինացիոն կապեր առաջացնելով՝ մասնակցում է ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսի առաջացմանը: Հնարավոր է, որ մետաղի իոնը ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսի առաջացման ժամանակ կատարի կապող «կամրջակի» դեր: Այդ դեպքում սուբստրատը փոխազդում է մետաղի հետ առնվազն երկու խմբերով, որոնք բաշխված են ֆերմենտային ռեակցիայի ժամանակ ճեղքվող կապի երկու կողմերում: Որպես օրինակ կարելի է քննարկել կարբօքսիպետիդազ A ֆերմենտի ազդեցության մեխանիզմը, որը սպեցիֆիկ է C-ծայրային ամինաթթվային մնացորդի պետիդային կապի նկատմամբ: Այդ դեպքում խելատային կոմպլեքսի առաջացմանը մասնակցում են C-ծայրային ամինաթթվի ազատ կարբօքսիլային խումբը և այդ նույն ամինաթթվի առաջացրած պետիդային կապի կարբոնիլային թթվածինը, որոնք, որպես էլեկտրոնների դոնորներ, կապվում են մետաղի կոորդինացիոն թաղանթի հետ: Մետաղի իոնը, ձգելով թթվածնի էլեկտրոններին, փոքրացնում է էլեկտրոնային խտությունը պետիդային կապի շուրջը և խթանում է հիդրոլիզին: Ֆերմենտ-սուբստրատային կոմպլեքսի հավանական կառուցվածքը ներկայացված է նկար 56-ում:



**Նկար 56.** Ֆերմենտ-սուրսորատային կոմպլեքսի կառուցվածքը կարբօքսիպեպտիդազ A ֆերմենտի դեպքում

Մետաղը կարող է որոշիչ ազդեցություն ունենալ նաև ֆերմենտի ազդեցության սպեցիֆիկության վրա: Օրինակ՝ կարբօքսիպեպտիդազ A ֆերմենտն օժտված է երկակի կատալիտիկ ազդեցությամբ, այն կատալիզում է պեպտիդային և էսթերային կապերի հիդրոլիզը: Ֆերմենտի կառուցվածքում Zn-ը Co-ով փոխարինելու դեպքում զգալիորեն աճում է ֆերմենտի պեպտիդազային ակտիվությունը, և նվազում է էսթերազային ակտիվությունը: Իսկ նույն կարբօքսիպեպտիդազ A ֆերմենտի կառուցվածքում Zn-ը Cd-ով փոխարինելու դեպքում, ընդհակառակը, աճում է ֆերմենտի էսթերազային ակտիվությունը, և կտրուկ նվազում պեպտիդազային ակտիվությունը:

Մետաղաֆերմենտում մետաղը նպաստում է նաև կոֆերմենտի հետ ապոֆերմենտի միացմանը, օրինակ՝ ալկոհոլդեհիդրոգենազ և գլիցերալդեհիդֆոսֆատ-դեհիդրոգենազ ֆերմենտների դեպքում: Հետևաբար, կոֆերմենտների կառուցվածքային առանձնահատկությունների և կենսաբանական հատկությունների իմացությունը խիստ կարևոր է օրգանիզմում տեղի ունեցող մետաբոլիկ փոխարկումների պարզաբանման և դրանց իմիտավորման համար:

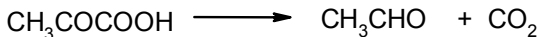
## Գլուխ 7. Որոշ հայտնի ֆերմենտների կոֆակտորներ

Բազմաթիվ ֆերմենտների կազմում, բացի սպիտակուցային բաղադրիչից (սպոֆերմենտից), պարունակվում են նաև անօրգանական և օրգանական բնույթի **կոֆակտորներ** (կոֆերմենտներ և պրոստետիկ խմբեր):

**Կոֆերմենտ** է կոչվում ֆերմենտի կոֆակտորը, որը ոչ ամուր կապով միացված է սպոֆերմենտի հետ և պոկվում է նրանից, օրինակ, դիալիզի ժամանակ: Դրանք ոչ մեծ մոլեկուլային զանգվածով օրգանական միացություններ են, որոնք կատալիտիկ ակտի ընթացքում սովորաբար տեղափոխվում են ֆերմենտ սպիտակուցի մի մոլեկուլից մյուսին՝ իրականացնելով քիմիական խմբերի տեղափոխիչի դեր, օրինակ՝ նիկոտինամինդադենին-դինուկլեոտիդը ծառայում է որպես շատ օքսիդոռեդուկտազների կոֆերմենտ (որպես ջրածնի տեղափոխիչ):

**Պրոսպերիկ խումբ** տերմինը հաճախ օգտագործում են ֆերմենտների այն կոֆակտորների անվանման համար, որոնք ամուր են կապված սպիտակուցային բաղադրիչի հետ և մնում են միացած սպոֆերմենտի մոլեկուլին ամբողջ կատալիտիկ ակտի ընթացքում, օրինակ՝ ֆլավինադենինդինուկլեոտիդը համարվում է մի շարք ֆլավոպրոտեիդների պրոստետիկ խումբ:

Բազմաթիվ ֆերմենտներ պարունակում են ոչ թե մեկ, այլ մի քանի կոֆակտորներ: Օրինակ՝ պիրովատդեկարբօքսիլազ ֆերմենտը, որը կատալիզում է պիրովատդոլաթթվի դեկարբօքսիլացումը, պարունակում է երկու կոֆակտոր՝ վիտամին B<sub>1</sub>-ի պիրոֆոսֆատ և մագնեզիում:



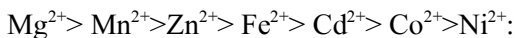
Առանձին կոֆակտորների հատկությունների և կատալիտիկ ակտում նրանց դերի պարզաբանումը կարևոր նշանակություն ունի ֆերմենտատիվ պրոցեսների մեխանիզմների հասկացման համար:

## 7.1. Ֆերմենտների անօրգանական կոֆակտորներ

Բազմաթիվ ֆերմենտների նորմալ գործունեության համար անհրաժեշտ են անօրգանական իոններ, որոնք ընդունակ են ակտիվացնելու ֆերմենտներին՝ առանց կատալիտիկ ակտին անմիջականորեն մասնակցելու: Ֆերմենտների ակտիվատորների դերում կարող են հանդես գալ մետաղի կատիոններ, օրինակ՝  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Rb}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{NH}_4^+$ , ինչպես նաև որոշ անիոններ, օրինակ՝  $\text{Cl}^-$  անիոնը կենդանի հյուսվածքների  $\alpha$ -ամիլազի մոտ:

Կենսաբանական պրոցեսների մեխանիզմները, որոնք ընթանում են ֆերմենտների անօրգանական կոֆակտորների մասնակցությամբ, մեծամասամբ վերջնականապես պարզաբանված չեն: Ի տարբերություն մետաղների, որոնք մտնում են իրական մետաղաֆերմենտների բաղադրության մեջ, մետաղ-ակտիվատորները սովորաբար ոչ ամուր կապով են միացած ֆերմենտների հետ և բաժանվում են նրանցից ֆերմենտների անջատման և մաքրման պրոցեսներում:

Մետաղների կատիոնները հաճախ համարվում են ֆերմենտների սպեցիֆիկ կոֆակտորներ: Օրինակ՝ անօրգանական պիրոֆոսֆատազն ակտիվանում է միայն  $\text{Mg}^{2+}$  իոնով, բազմաթիվ կինազներ, լիզազներ և սինթետազներ, որոնք ազդում են ֆոսֆորիլացված սուբստրատների վրա, կարող են ակտիվացվել ինչպես  $\text{Mg}^{2+}$ , այնպես էլ  $\text{Mn}^{2+}$  իոններով: Սի շարք դեպքերում միևնույն ֆերմենտը կարող է ակտիվացվել մի քանի մետաղների իոններով, օրինակ՝ ֆոսֆոպիրովատսիդրատազ ֆերմենտին ակտիվացնում են հետևյալ մետաղների իոնները, որոնք ըստ ակտիվացման աստիճանի բաշխվում են հետևյալ շարքով՝



Հաճախ ֆերմենտի ակտիվացման համար պահանջվում է միաժամանակ երկու կատիոն՝ սովորաբար տարբեր վալենտականությամբ, օրինակ՝ պանտոտենատսինթետազ ֆերմենտի կատալիտիկ



ակտիվության համար անհրաժեշտ են  $Mg^{2+}$  կամ  $Mn^{2+}$  և  $K^+$  կամ  $NH_4^+$  իոններ:

Ֆերմենտների ակտիվացման ժամանակ հաճախ նկատվում է տարբեր կատիոնների անտազոնիզմ: Օրինակ՝  $Na^+$  և մյուս ալկալիական մետաղների իոնները համարվում են որոշ ֆերմենտների ինհիբիտորներ, որոնք ակտիվանում են  $K^+$  իոնով, իսկ  $Mg^{2+}$  իոնը արգելակում է միոզինի ԱԵՖ-ազ ֆերմենտի ազդեցությունը, որն ակտիվանում է  $Ca^{2+}$  իոնով:

## 7.2. Ֆերմենտների օրգանական կոֆակտորներ

Ըստ քիմիական կառուցվածքի՝ ֆերմենտների օրգանական կոֆակտորներ են հանդիսանում տարբեր դասի միացություններ՝ ալիֆատիկ (օրինակ՝ ասկորբինաթթուն, գլուտատիոնը և այլն), արոմատիկ (օրինակ՝ ուբիսինոնը, վիտամին E և այլն), հետերոցիկլիկ (օրինակ՝ տետրահիդրոֆոլաթթուն, պիրիդօքսալֆոսֆատը և այլն), նուկլեոտիդները և նրանց ածանցյալները (օրինակ՝ ադենոզինֆոսֆատ, ցիտիդինֆոսֆատ և այլն), մետաղապորֆիրինները (օրինակ՝ պերօքսիդազի և ցիտոքրոմ C-ի պրոստետիկ խմբերը) և այլն:

Ֆերմենտների կոֆակտորներ են հանդիսանում նաև վիտամինների ածանցյալները, օրինակ՝ կենսաբանական համակարգերում օքսիդավերականգնման պրոցեսներն ընթանում են  $B_2$ , C, E և K վիտամինների ածանցյալների մասնակցությամբ:

Ֆերմենտների բազմաթիվ օրգանական կոֆակտորներ ունեն բավական բարդ կառուցվածք, սակայն կատալիտիկ պրոցեսում որոշիչ դեր են խաղում կոֆակտորի մոլեկուլի որոշակի ոչ մեծ հատվածները: Կոֆակտորի մոլեկուլի մնացած մասը հավանաբար, կապվելով ապոֆերմենտի հետ, նպաստում է նրա ֆունկցիոնալ խմբերի սպեցիֆիկ ազդեցությանը:

Ֆերմենտների օրգանական կոֆակտորները, ըստ նյութափոխանակության տարբեր պրոցեսներում իրենց կատարած ֆունկցիաների, բաժանվում են երեք խմբի.

1. Օքսիդոռեդուկտազների կոֆակտորներ կամ էլեկտրոնների և ջրածնի տեղափոխիչներ:
2. Տրանսֆերազների կոֆակտորներ կամ ատոմների խմբերի տեղափոխիչներ:
3. Ֆերմենտների կոֆակտորներ, որոնք կատալիզում են սինթեզի, իզոմերման և C-C կապի խզման ռեակցիաները:

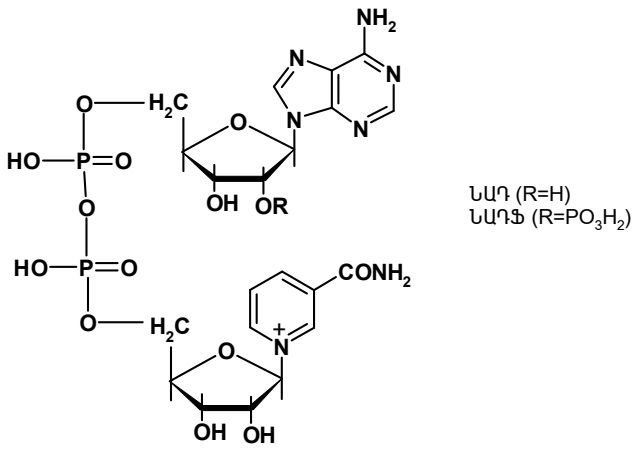
### ***7.2.1. Օքսիդառեդուկտազների կոֆակտորներ***

Օքսիդավերականգնման պրոցեսները կարևոր նշանակություն ունեն կենդանի օրգանիզմի գոյատևման համար: Կենսաբանական օքսիդացման արդյունքում սնուցող նյութերի ճեղքման արգասիքները (ածխաջրերը, սպիտակուցները, լիպիդները) «վառվում են» մինչև ջրի և ածխածնի երկօքսիդի, ինչի արդյունքում անջատվում է կյանքի գոյատևման համար անհրաժեշտ էներգիայի հիմնական մասը: Կենսաբանական օքսիդացման հիմնական ուղին (շնչառական շղթան) ներառում է մի շարք իրար հաջորդող օքսիդավերականգնման ռեակցիաներ, որոնք զուգորդված են աղեմոզիմի ֆոսֆատի ֆոսֆորիլացմամբ (օքսիդացնող ֆոսֆորիլացում):

Շնչառական շղթայի հիմնական բաղադրիչները համարվում են բարձրամոլեկուլային սպիտակուցները, որոնք որպես կոֆերմենտներ և պրոստետիկ խմբեր պարունակում են նուկլեոտիդային և պորֆիրինային դասի միացություններ, օրինակ՝ նիկոտինամիդային ֆերմենտները, ֆլավոպրոտեինները, ցիտոքրոմները և այլն: Այդ ֆերմենտների կոֆակտորների հիմնական առանձնահատկությունը համարվում է նրանց վերականգնման (ընդունելով իր վրա սուբստրատի պրոտոնը) և վերականգնված ձևով գոյատևելու (օրինակ՝ նիկոտինամիդնուկլեոտիդային կոֆերմենտների և ֆլավիննուկլեոտիդների դեպքում) հատկությունը կամ պոտենցիալների տարբերության շնորհիվ մի կոֆակտորից մյուսին նրանց էլեկտրոն փոխանցելու հատկությունը (օրինակ՝ շնչառական շղթայի ցիտոքրոմային հատվածը):

Սույն բաժնում ներկայացվում է շնչառական շղթայի օքսիդե-  
 դուկտացների միայն որոշ կարևոր կոֆակտորների կառուցվածքի և  
 ֆունկցիաների մասին հակիրճ տեղեկատվություն:

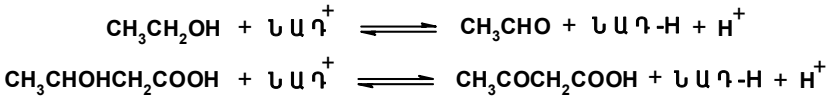
**Նիկոտինամինոկլետոպիրոլային կոֆերմենտներ:** Կոֆերմենտ-  
 ների այս խմբին են պատկանում այն նուկլեոտիդները, որոնք պա-  
 րունակում են նիկոտինաթթվի ամիդ (վիտամին PP): Դրանց հիմնա-  
 կան ներկայացուցիչներն են նիկոտինամինոպրենիլ-դինուկլեոտիդը  
 (ՆԱԴ) և նիկոտինամինոպրենիլդինուկլեոտիդֆոսֆատը (ՆԱԴ-Ֆ):  
 ՆԱԴ-ի և ՆԱԴ-Ֆ-ի բաղադրության մեջ մտնում է պիրոֆոսֆատային  
 կամրջակով ադենոզինի հետ կապված *D*-ռիբոզի մնացորդ, որը  
 β-գլիկոզիդային կապով միացած է նիկոտինաթթվի ամիդի հետ:



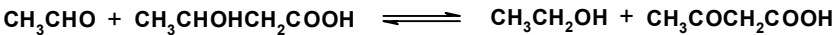
ՆԱԴ-Ֆ-ի մոտ *D*-ռիբոզի C<sub>2</sub> ածխածնի հիդրօքսիլային խումբը  
 էսթերացված է ֆոսֆորական թթվով:

Քանի որ նիկոտինամինոկլետոպիրոլային կոֆերմենտները հիմ-  
 նականում հեշտությամբ անջատվում են իրենց ապոֆերմենտներից,  
 հետևաբար, կոֆերմենտի մոլեկուլի համատեղ օգտագործմամբ հնա-  
 րավոր է ջրածնի տեղափոխումը մի ֆերմենտի վերականգնված  
 սուբստրատից մյուս ֆերմենտի օքսիդացված սուբստրատին, այ-  
 սինքն՝ երկու ռեակցիաները կարող են ընթանալ զուգորդված ՆԱԴ-ի  
 և ՆԱԴ-Ֆ-ի միջոցով. օրինակ՝ ՆԱԴ-ը ծառայում է որպես կոֆակտոր

ալկահոլդեհիդրոզենազ և β-օքսիկարազաթթվի դեհիդրոզենազ ֆերմենտների համար հետևյալ ռեակցիաներում.

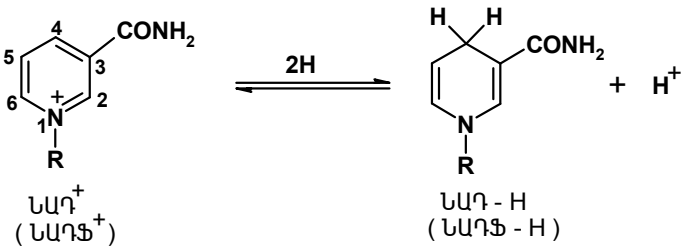


Ացետալդեհիդը β-օքսիկարազաթթվի հետ այդ երկու ֆերմենտների և ՆԱԴ-ի ներկայությամբ փոխազդելու ժամանակ ընթանում է հետևյալ ռեակցիան.



Այդ պրոցեսում կոֆերմենտը վերականգնվում է β-օքսիկարազաթթվով և օքսիդանում ացետալդեհիդով: Արդյունքում β-օքսիկարազաթթուն օքսիդանում է մինչև ացետոքացախաթթու, իսկ ացետալդեհիդը վերականգնվում է մինչև էթանոլ:

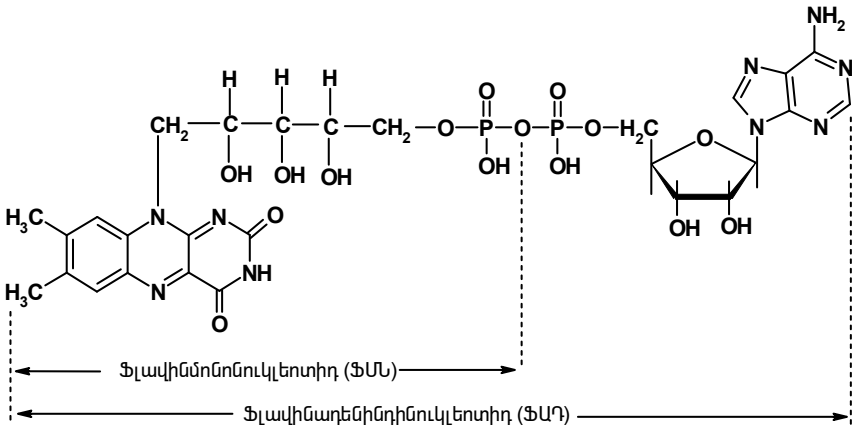
Նիկոտինամիդոնուկլեոտիդային կոֆերմենտների ակտիվ խումբը համարվում է նրանց պիրիդինային օղակը, որը կատալիտիկ ցիկլի ժամանակ ենթարկվում է օքսիդացման և վերականգնման: Ջրածնի երկու ատոմներից մեկը, որը պոկվում է սուբստրատի մոլեկուլից, սովորաբար միանում է կոֆերմենտի մոլեկուլի նիկոտինամիդային հատվածի C<sub>4</sub> ամֆաժնի ատոմին, իսկ պիրիդինային օղակի ազոտի ատոմն այդ ժամանակ ընդունում է մեկ էլեկտրոն: Միաժամանակ մեկ ազատ պրոտոն սուբստրատից անցնում է միջավայր: Իրականում մնան անցումը կարելի է դիտարկել որպես H<sup>-</sup> հիդրիդ իոնի միացում ՆԱԴ<sup>+</sup>-ին:



Առանձին դեպքերում արձանագրվել է ջրածնի ատոմի միացում կոֆերմենտի նիկոտինամիդային մնացորդի C<sub>6</sub> ածխածնի ատոմին:

Նիկոտինամիդային կոֆերմենտները լայնորեն տարածված են բնության մեջ: Բջջիչների գերակշռող մասի մոտ, բացառությամբ բույսերի տերևների բջիջների, ՆԱԳ-ը տարածված է բավական մեծ քանակներով՝ ի տարբերություն ՆԱԳ-Ֆ-ի: Նիկոտինամիդուկլեոտիդներով հարուստ օջախներ են համարվում խմորիչների, միկրոօրգանիզմների, երիկամների, լյարդի, սրտի, կաթնագեղձերի, գլխուղեղի և այլ բջիջներ: Արդյունաբերության մեջ ՆԱԳ-ի արտադրության համար հիմնականում օգտագործում են խմորիչներ:

**Ֆլավինոնուկլեոտիդներ:** Շնչառական շղթայի օքսիդոռեդուկտազների թվին են պատկանում ֆլավոպրոտեիդները, որոնց կոֆերմենտների դերում հանդես են գալիս ռիբոֆլավինի (վիտամին B<sub>12</sub>) ածանցյալները՝ ֆլավինոնուկլեոտիդները: Դրանցից առավել լավ են ուսումնասիրված ֆլավինադենինդինուկլեոտիդը (ՖԱԴ) և ֆլավինմոնոնուկլեոտիդը (ՖՄՆ): ՖԱԴ-ը իրենից ներկայացնում է ոչ սիմետրիկ պիրոֆոսֆատ, որը էսթերացված է մի կողմից ռիբոֆլավինով, իսկ մյուս կողմից՝ ադենոզինով, ՖՄՆ-ն հանդիսանում է ռիբոֆլավինի և ֆոսֆորական թթվի էսթեր:



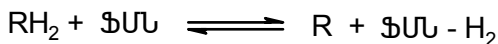
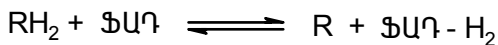
Ի տարբերություն նիկոտինամիդնուկլեոտիդային կոֆերմենտների՝ ֆլավին-նուկլեոտիդները սովորաբար ամուր կապված են ապոֆերմենտի հետ և ամբողջ կատալիտիկ ցիկլի ընթացքում մնում են միացած ֆերմենտի սպիտակուցային մասին:

Հայտնի են շնչառական շղթայի մի շարք ֆլավոպրոտեիդներ (օրինակ՝ լակտատօքսիդազը, օքսալատօքսիդազը, գլյուկոգոքսիդազը և այլն), որոնց սուբստրատների դերում հանդես են գալիս նիկոտինամիդային կոֆերմենտների վերականգնված ձևերը: Բացի դրանից՝ կան ֆլավոպրոտեիդներ, որոնք իրականացնում են ջրածնի ատոմի փոխանցում սուբստրատներից (օրինակ՝ սպիրտներից, ամիններից, ալդեհիդներից, ամինաթթուներից և այլն) անմիջապես թթվածնի ատոմին՝ ջրածնի պերօքսիդի առաջացմամբ:

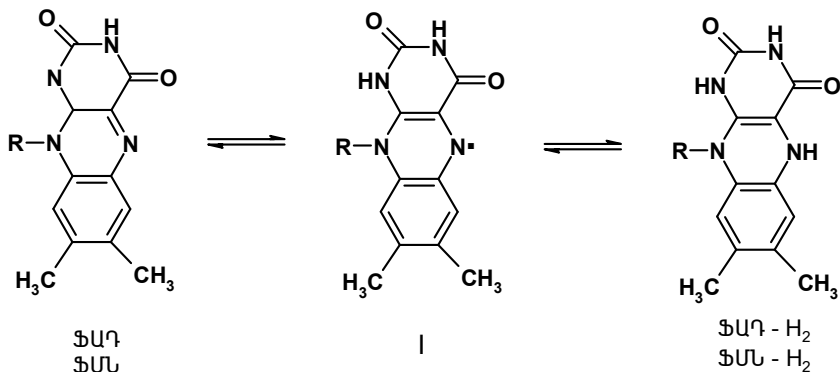
Որոշ օքսիդոռեդուկտազներ, որոնց պրոստետիկ խումբը համարվում են ֆլավիննուկլեոտիդները, կարող են ջրածին պոկել մի շարք սուբստրատներից, սակայն նրանք ընդունակ չեն փոխանցելու ջրածինը թթվածնին: Այդ դեպքում միջանկյալ տեղափոխիչի դերը կատարում է ցիտոքրոմը: Այդպիսի ֆերմենտները կատալիզում են, օրինակ, սպիրտների տրանսֆորմացումը կետոնների, տարբեր միացությունների հազեցած  $-CH_2-CH_2-$  կապի դեհիդրումը էթիլենային կապի առաջացմամբ և այլ ռեակցիաներ:

Որոշ ֆլավոպրոտեիններով կատալիզվող պրոցեսներ հիմնված են մի քանի կոֆակտորների կոոպերատիվ ազդեցության վրա: Օրինակ՝ ֆերմենտների ակտիվատորների դերում հաճախ հանդես են գալիս մետաղի իոնները, որոնք ապահովում են ապոֆերմենտի և պրոստետիկ խմբի միջև կապը, օրինակ՝ քսանտօքսիդազների դեպքում  $Fe^{2+}$ ,  $Mo^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  և այլ իոններ: Այլ դեպքերում ջրածնի տեղափոխման պրոցեսին մասնակցում են ապոֆերմենտի սուլֆիդիդրիլային խմբերը:

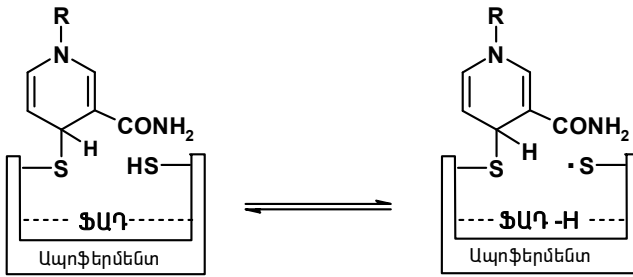
ՖԱՂ-ի և ՖՄՆ-ի կենսաբանական ակտիվությունը պայմանավորված է նրանց մոլեկուլների իզոպլօքսազինային հատվածի օքսիդավերականգնման փոխարկումների ենթարկվելու ունակությամբ: ՖԱՂ-ի և ՖՄՆ-ի վերականգնման ժամանակ ջրածնի երկու ատոմներ տեղափոխվում են սուբստրատից օքսիդացված կոֆակտորին:



Ֆլավոնուկլետոիդների օքսիդացումն իրականացվում է վերականգնված կոֆերմենտի մոլեկուլից դեպի ակցեպտորի մոլեկուլ ջրածնի երկու ատոմների տեղափոխմամբ:



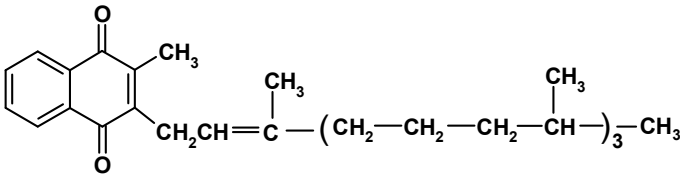
Ֆլավինուկլետոիդների օքսիդացված ձևերից (ՖԱԴ- և ՖՄՆ) վերականգնված ձևերին (ՖԱԴ- $H_2$  և ՖՄՆ- $H_2$ ) անցումը կարող է ընթանալ երկու փուլով: Այդ պրոցեսում որպես միջանկյալ արգասիքներ առաջանում են ֆլավինային սեմիխինոններ, որոնց առավել հավանական տատուտմերային ձևը հանդիսանում է **I** կառուցվածքը: Ընդ որում՝ միջանկյալ ազատ ռադիկալային **I** միացության առաջացումը տեղի է ունենում ոչ թե սուբստրատից ֆլավինին ջրածնի անմիջական անցման ճանապարհով, այլ սպիտակուցի մասնակցմամբ: Օրինակ՝ ՆԱԴ- $H_2$ -ի օքսիդացման պրոցեսում դա կատարվում է լիպոամիդոլեիդոգենազ ֆերմենտի միջոցով, որի պրոստետիկ խումբը հանդիսանում է ՖԱԴ-ը: Սկզբից ՆԱԴ- $H_2$ -ը միանում է ալոֆերմենտի սուլֆիդիլային խմբին, որից հետո տեղի է ունենում ջրածնի ատոմի փոխանակում ֆերմենտային սպիտակուցի սուլֆիդիլային խմբի և ՖԱԴ-ի միջև:



Ռ-ադիկալային մեխանիզմից բացի՝ առաջարկվել է նաև ֆլավոպրոտեինների ազդեցության իոնական մեխանիզմ, համաձայն որի՝ հիդրիդ իոնը տեղափոխվում է ՆԱՂ-ից ՖԱՂ-ին և ՖԱՂ-H<sub>2</sub>-ից ՆԱՂ-ի համապատասխան մնանակին:

Ֆլավինադենինդիմուկլեոտիդի, ֆլավինմոնոնուկլեոտիդի և ռիբոֆլավինի սինթետիկ մնանակների հետազոտումը հնարավորություն է տվել պարզաբանելու նրանց կառուցվածքի և կենսաբանական ակտիվության միջև կապը:

**Խիճոններ:** Պարզված է, որ կենսաբանական համակարգերում էլեկտրոնների փոխանցման և օքսիդիչ ֆոսֆորիլացման բազմաթիվ պրոցեսներ ընթանում են տեղակալված խիճոնների մասնակցությամբ, օրինակ՝ ճարպալուծ K և E վիտամինների, ուրիլխիճոնների և այլն: Վիտամին K անվանվում են նյութերի այն խմբերը, որոնք հանդիսանում են 1,4-նաֆտոլխիճոնի ածանցյալներ: Այդ խմբի կարևոր ներկայացուցիչն է վիտամին K<sub>1</sub>-ը՝ 2-մեթիլ-3-ֆիտիլ-1,4-նաֆտոլխիճոնը, որը տարածված է կանաչ բույսերում:



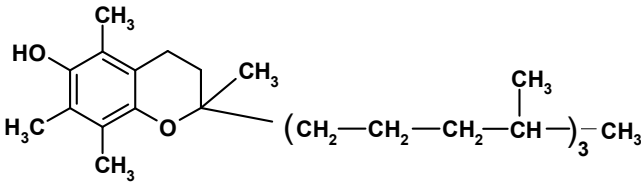
Վիտամին K-ն համարվում է բույսերի ֆոտոսինթեզի ֆերմենտների կոֆակտոր և որոշակի դեր է խաղում օքսիդիչ ֆոսֆորիլացման



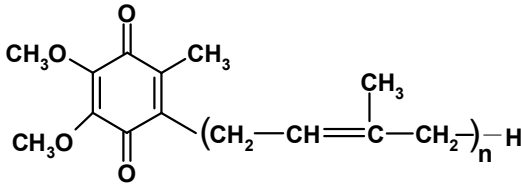
պրոցեսներում՝ մասնակցելով կենդանի օրգանիզմներում էներգիայի պահպանման գործընթացներին:

Է խմբի վիտամինները (*տոկոֆերոլները*) համարվում են 6-օքսիփրոմանի ածանցյալներ: Կենդանի հյուսվածքներում առավել տարածված է  $\alpha$ -տոկոֆերոլը, որն իրենից ներկայացնում է 6-օքսի-2,5,7,8-տետրամեթիլ-2-(4',8',12'-տրիմեթիլտրիդեցիլ) քրոման:

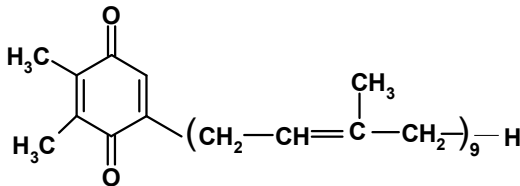
Տոկոֆերոլների հիմնական ֆունկցիան, ըստ երևույթին, հանդիսանում է նրանց մասնակցությունը շնչառական շղթային և օքսիդիչ ֆոսֆորիլացման ռեակցիաներին:



Ուբիխինոններն իրենցից ներկայացնում են քառատեղակալված բենզոֆինոնների խումբ:



Կառուցվածքային տեսակետից ուբիխինոններին բավականին մոտ են պլաստիլինոնները, որոնք այլ կերպ կոչվում են Կոֆերի խինոն, և դրանք տարածված են քլորոֆիլ պարունակող հյուսվածքներում:



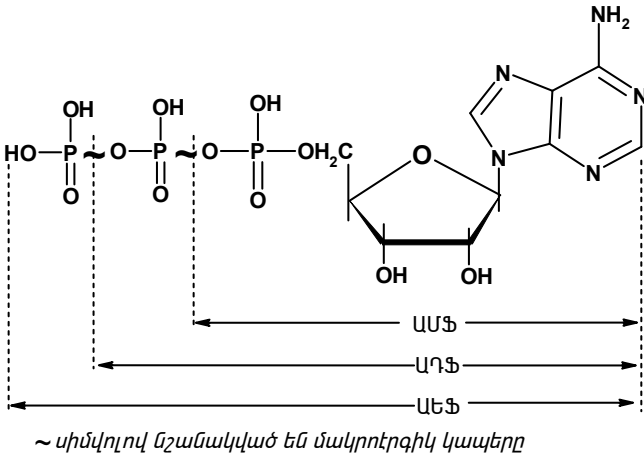
Որպես էլեկտրոնների փոխադրիչներ՝ խինոնների ազդեցության մեխանիզմը վերջնականապես պարզաբանված չէ: Պարզաբանված չեն նաև ուրիխինոնի և E ու K խմբի վիտամինների կենսասինթեզի ուղիները:

**7.2.2. Տրանսֆերազների կոֆակտորներ**

**Նուկլեոզիդոլիֆոսֆատները և նրանց ածանցյալները:**

Ատոմների խմբերի տեղափոխման պրոցեսներում կարևոր նշանակություն ունեն այն ռեակցիաները, որոնք ուղեկցվում են ֆոսֆորական թթվի մնացորդի տեղափոխմամբ (*պրանսֆոսֆորիլացմամբ*): Այդ ռեակցիաներն ապահովում են կենսաքիմիական համակարգերում էներգիայի փոխանցման գործընթացները: Ֆոսֆորական թթվի մնացորդի փոխադրողի դերում կենսաբանական համակարգերում հանդես է գալիս նուկլեոզիդոլիֆոսֆատը, որը տրանսֆոսֆորիլացման պրոցեսներում ազդում է որպես ֆերմենտների կոֆակտոր:

Քիմիական էներգիայի հիմնական մարտկոցը և տեղափոխիչը, որն անջատվում է օրգանական նյութերի օքսիդային ճեղքման արդյունքում, համարվում է ադենոզինեֆոսֆատը (ԱԵՖ):



Օքսիդացման դեպքում էներգիայի անջատումը զուգակցվում է ադենոզինդիֆոսֆատից և անօրգանական ֆոսֆատից ադենոզինդիֆոսֆատի սինթեզով: ԱԵՖ-ի հիդրոլիզը սովորաբար զուգակցվում է էներգիայի կարիք ունեցող ռեակցիաներով: Կենսասինթեզի պրոցեսներում բոլոր փոխարկումները, որոնք ընթանում են ԱԵՖ-ի էներգիայի հաշվին, հանդիսանում են տեղակալման ռեակցիաներ:

Կենսաբանական համակարգերում հաճախ տեղի է ունենում ԱԵՖ-ի ծայրային ֆոսֆատային մնացորդի պոկում, որն օգտագործվում է տարբեր միացությունների ֆոսֆորիլացման համար: Այդ ռեակցիաները կատալիզում են **ֆոսֆոտրանսֆերազ** (կամ *կինազ*) ֆերմենտները:

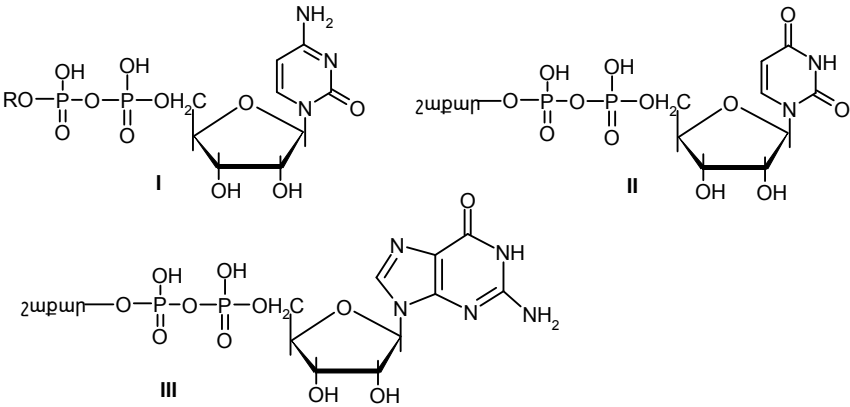
ԱԵՖ-ի դեֆոսֆորիլացման արդյունքում պոկված ֆոսֆատային մնացորդը կարող է փոխանցվել այլ միացության մոլեկուլի՝ մակրոէրգիկ կապի պահպանմամբ կամ վերացմամբ: Վերջին դեպքում անջատվում է մակրոէրգիկ կապի էներգիան, որը ծախսվում է կարևոր կենսաբանական պրոցեսների իրականացման համար, օրինակ՝ սեկրեցիայի, մկանային կծկման, կենսաքեմիլյումինիսենցիայի և այլն:

Օրգանիզմի ռեակցիաների գերակշռող մասը, որոնք ընթանում են էներգիայի ծախսմամբ, այն ստանում է ԱԵՖ-ի ճեղքման հաշվին: ԱԵՖ-ը մասնակցում է ամինաթթուների, ճարպաթթուների, քացախաթթվի, անօրգանական անիոնների ակտիվացման և այլ ռեակցիաներին: Ակտիվացումն ավելի հաճախ տեղի է ունենում սուբստրատին ֆոսֆորական թթվի մնացորդի միացմամբ, որը պարունակում է մակրոէրգիկ կապ:



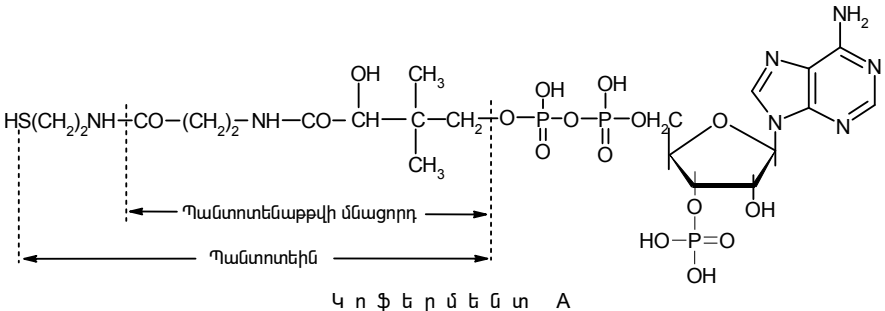
Մի շարք միացությունների կենսասինթեզում (մասնավորապես՝ նուկլեինաթթուների, սպիտակուցների, նիկոտինամիդնուկլեոտիդային կոֆերմենտների, կոֆերմենտ A-ի և այլն) ԱԵՖ-ն իրականացնում է ադենոզինմոնոֆոսֆատի (ԱՄՖ) դոնորի դեր: Այդ ռեակցիաները կատալիզվում են նուկլեոտիդիլտրանսֆերազ դասի ֆերմենտների միջոցով:

Որոշ տեղափոխման պրոցեսներ ընթանում են այլ նուկլեոտիդ-պոլիֆոսֆատների՝ ուրիդինի, գուանոզինի, ցիտիդինի և ինոզինի ածանցյալների մասնակցությամբ: Այդ միացությունների հիմնական դերը կայանում է այնպիսի ածանցյալների առաջացման մեջ, որոնց կառուցվածքում ծայրային ֆոսֆատային մնացորդը տեղակալված է որևէ այլ խմբով: Օրինակ՝ ցիտիդինտրիֆոսֆատը, ուրիդինտրիֆոսֆատը և գուանոզինտրիֆոսֆատը ազդում են նուկլեոտիդների դոմորների վրա նուկլեոտիդիլտրանսֆերազային ռեակցիաներում: Այդ պրոցեսները կապված են ֆոսֆատի և այլ քիմիական խմբավորումների կոմբինացված տեղափոխման հետ:



Օրինակ՝ ցիտիդինդիֆոսֆատի ածանցյալները (I), որոնք պարունակում են խոլինի ( $R=CH_2CH_2N^+(CH_3)_3$ ), էթանոլամինի ( $R=CH_2CH_2NH_2$ ), գլիցերինի ( $R=CH_2CH(OH)CH_2OH$ ) և այլ մնացորդներ, մասնակցում են բազմատոմ և տեղակալված սպիրտների տեղափոխման և փոխարկումների պրոցեսներին: Իսկ գլիկոզիդային մնացորդների տեղափոխման պրոցեսներում կոֆերմենտի դերը կատարում են ուրիդինդիֆոսֆատի ածանցյալները (II), որոնք պարունակում են գլյուկոզի, քսիլոզի, արաբինոզի, գալակտոզի, գլյուկուրոնաթթվի և այլ մնացորդներ և գուանոզինդիֆոսֆատի ածանցյալները (III), որոնք պարունակում են մանոզի, ֆրուկտոզի և այլ մնացորդներ:

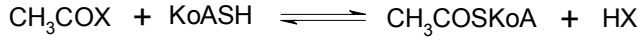
**Կոֆերմենտ A:** Ացիլացման պրոցեսների կոֆերմենտները (կոֆերմենտ A, KoA, CoA) իրենցից ներկայացնում են պանտոտենաթթվի ածանցյալներ՝ 3'-ֆոսֆոադենոզին-5'-պիրոֆոսֆատպանտոտենոիլ-β-մերկապտոէթանոլամին: Ըստ կառուցվածքի՝ այդ միացությունը նման է ֆերմենտների դիմուկլետոիդային կոֆակտորներին՝ ՖԱԳ-ին, ՆԱԳ-ին և ՆԱԳ-Ֆ-ին: Կոֆերմենտ A-ի մոլեկուլում պանտոտենաթթվի մնացորդը համապատասխանում է դիմուկլետոիդային կոֆերմենտի մոլեկուլի ածխաջրային բաղադրիչին, իսկ β-մերկապտոէթանոլամինի մնացորդը համարվում է հետերոցիկլիկ հիմքի (իզուալօքսազինի կամ նիկոտինաթթվի ամիդի) մնանակը:



Կոֆերմենտ A-ն մասնակցում է ածխաջրերի, լիպիդների, սպիտակուցների և այլ կենսապոլիմերների մետաբոլիզմի պրոցեսներին: Նրա մոլեկուլի ակտիվ հատվածը համարվում է թիոլային SH խումբը: Կոֆերմենտ A-ն հաճախ նշանակում են KoASH սիմվոլով, իսկ նրա ացիլացված ածանցյալները՝ ացիլ-KoA կամ RCOKoA կամ RCOSKoA:

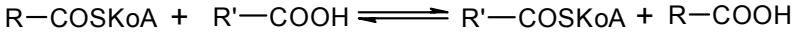
Կոֆերմենտ A-ի մասնակցությամբ ընթացող բոլոր ռեակցիաները կարելի է բաժանել երեք խմբի:

1. Ացիլ-դոնորային ռեակցիաներ, որոնց ընթացքում տեղի է ունենում ացետիլ-KoA-ի կամ կոֆերմենտ A-ի այլ ացիլված ածանցյալների սինթեզը:

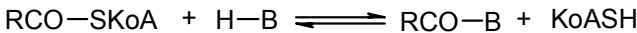


Այս կարգի ռեակցիաներից են քացախամիտոքոնի օքսիդացումը, քացախաթթվի ակտիվացումը և այլ պրոցեսներ:

Կարբոնաթթուների ակտիվացման ռեակցիաներում մեծ դեր են կատարում մեկ ագիլված մնացորդից մյուսին  $\text{CoA}$  մոլեկուլի փոխանցման ռեակցիաները:

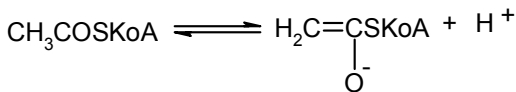


2. Ացիլ-ակցեալտորային ռեակցիաներ, որոնց արդյունքում ացիլ- $\text{CoA}$ -ն կորցնում է ացիլային խումբը, որը միանում է տարբեր սուբստրատների հետ:



Ացետիլ  $\text{CoA}$ -ն մասնակցում է արոմատիկ ամինների, ամինաթթուների, ամինաշաքարների և խոլինիացիլման, լիմոնաթթվի և խաղողաթթվի առաջացման, տերպենների, կարոտինոիդների և ստերոիդների սինթեզի պրոցեսներին:

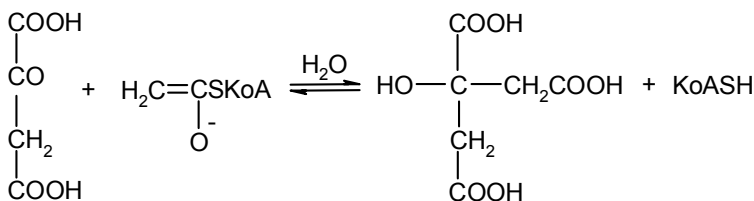
3. Ալդոլային կոնդենսման ռեակցիաներ, որտեղ ացետիլ  $\text{CoA}$ -ի ակտիվ հատվածի դերում հանդես է գալիս ոչ թե կարբոնիլային ածխածինը, այլ մեթիլային խմբի ածխածինը: Ացետիլ  $\text{CoA}$ -ի երկակի ֆունկցիան պայմանավորված է նրանով, որ այն կարող է գտնվել երկու տառատմերային ձևերով:



Նման ռեակցիայի լավագույն օրինակ է համարվում ացետիլլային խմբի փոխանցումը ացետիլ  $\text{CoA}$ -ից թրթնջկաքացախաթթվին՝ լիմոնաթթվի առաջացմամբ (սխեմա 116):

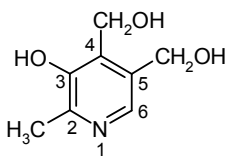
Այս ռեակցիան համարվում է Կրեբսի ցիկլում (լիմոնաթթվի կամ դի- և տրիկարբոնաթթվային ցիկլ) ացետիլ- $\text{CoA}$ -ի մետաբոլիկ փոխարկումների առաջին փուլը:

## Սխեմա 116

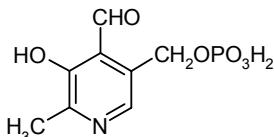


Բազմաթիվ ֆերմենտներ, որոնք մասնակցում են ազիլ-դոնորային և ազիլ-ակցեպտորային ռեակցիաների, կարող են կոֆերմենտ A-ի փոխարեն օգտագործել նրա ավելի պարզ նմանակները, օրինակ՝ ցիտամինի N-ազիլային ածանցյալները (N-ացետիլ-ցիտամինը, պանտոտեինը, պանտոտեին-4-ֆոսֆատը և այլն):

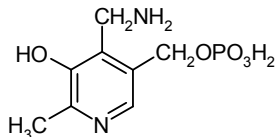
**Պիրիդոքսալֆոսֆատ և պիրիդոքսամինֆոսֆատ:** Կենդանական և բուսական հյուսվածքներում ազոտի մետաբոլիզմի պրոցեսներում կարևոր դեր են կատարում պիրիդոքսալային ֆերմենտները, որոնք կատալիզում են ամինաթթուների կենսաքիմիական փոխարկումների գերակշռող մասը: Այդ ֆերմենտների կոֆակտորներ են հանդիսանում վիտամին B<sub>6</sub>-ի (պիրիդոքսինի) ածանցյալները՝ պիրիդոքսալֆոսֆատը և պիրիդոքսամինֆոսֆատը:



Պիրիդոքսին



Պիրիդոքսալֆոսֆատ

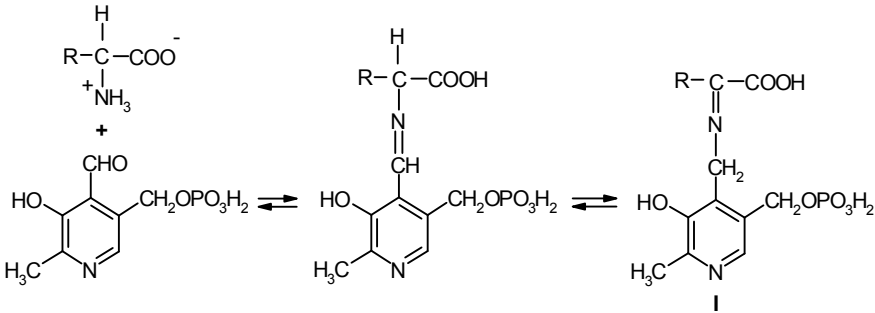


Պիրիդոքսամինֆոսֆատ

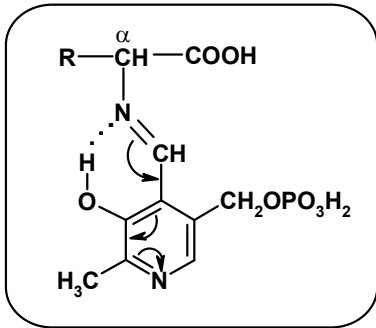
Պիրիդոքսալային ֆերմենտները մասնակցում են α-ամինաթթուների և α-կետոթթուների վերամինացման (տրանսամինացման), α-ամինաթթուների դեկարբօքսիլացման, դեզամինացման և ռացեմացման, ծծումբ պարունակող ամինաթթուների դետուլֆիրացման և այլ ռեակցիաների:

Պիրիդոքսալային ֆերմենտների կոֆակտորների մոլեկուլների ակտիվ հատվածը հանդիսանում է ալդեհիդային խումբը: Ֆերմենտի կոֆակտորի ալդեհիդային խմբի և սուբստրատի ամինային խմբի փոխազդեցության արդյունքում առաջանում է Շիֆի հիմք (ազոմեթին) I, որը կարող է ենթարկվել բազմաթիվ փոխարկումների՝ կախված ապոֆերմենտի կատալիտիկ ազդեցությունից (սխեմա 117):

**Սխեմա 117**



Առաջացած Շիֆի հիմքում (I) α-ածխածնի ատոմի կապերը բոլոր տեղակալիչների հետ բևեռացված են և թուլացված α-ածխածնի ատոմի մոտ էլեկտրոնային խտության փոքրացման պատճառով:



Այսպիսի միջանկյալ միացությունը կարող է հեշտությամբ քայքայվել, ընդ որում՝ նրա հետագա փոխարկումները կախված են սպիտակուցի բնույթից, որի հետ կապված է պիրիդոքսալֆոսֆատը: Օրի-

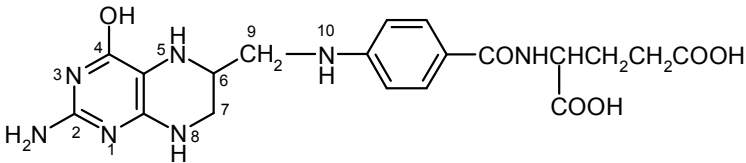


նակ՝ ամինաֆերագների և ռացեմազների ազդեցությամբ ճեղքվում է Շիֆի հիմքում  $C_{\alpha}$ -H կապը, որը բերում է վերասամինացման կամ ռացեմացման, իսկ  $\alpha$ -դեկարբօքսիլազի ազդեցությամբ ճեղքվում է  $C_{\alpha}$ -COOH կապը, ինչի արդյունքում մոնոամինամոնոկարբոնաթթուները վերածվում են ամինների, իսկ մոնոամինադիկարբոնաթթուները՝ մոնոամինամոնոկարբոնաթթուների:

**Տետրահիդրոֆոլաթթու:** Պուրինային և պիրիմիդինային ազոտային հիմքերի, ինչպես նաև որոշ ամինաթթուների (սերին, մեթիոնին, հիստիդին և այլն) կենսասինթեզի և քայքայման պրոցեսներում կարևոր դեր են կատարում մեթիլացման ռեակցիաները: Կենսաբանական մեթիլացումը կարող է իրականանալ երկու ճանապարհով՝ մեթիլային խմբի փոխանցմամբ դոնորի մոլեկուլից ակցեպտորի մոլեկուլին (տրանսմեթիլացում) կամ մեկ ածխաջրածնային մնացորդի (-CHO, -CH<sub>2</sub>OH և -CH=NH) տեղափոխմամբ և դրա հետագա վերականգնմամբ մինչև մեթիլային խմբի (CH<sub>3</sub> խմբի սինթեզ):

Տրանսմեթիլացման պրոցեսներում մեթիլ խմբի դոնորի դերում հանդես են գալիս բետահինը, կարնիտինը, S-մեթիլմեթիոնինը և այլ միացություններ: Իսկ մեկ ածխաջրածնային մնացորդների դոնորի դերում հանդես են գալիս խոլինը, գլիցինը, սերինը, սարկոզինը և այլն:

Մեթիլ խմբի տեղափոխման և սինթեզի պրոցեսներին մասնակցում են վիտամին B<sub>9</sub>-ի (*տետրահիդրոֆոլաթթու*) և վիտամին B<sub>12</sub>-ի (*կորամիդային կոֆերմենտ*) ածանցյալները:



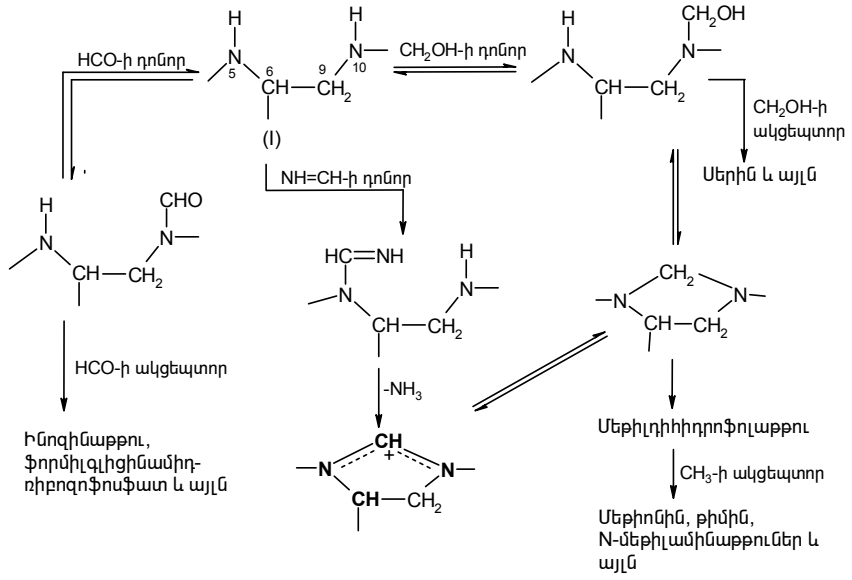
Տ ե տր ա հ ի դր ո ֆ ո լ ա թ թ ու

Մեկ ածխաջրածնային մնացորդի տեղափոխիչի դերը սովորաբար կատարում է 5,6,7,8-տետրահիդրոֆոլաթթուն (տետրահիդրոպտերոիլգլուտամինաթթուն):

Տետրահիդրոֆոլաթթվի մոլեկուլի ակտիվ մասը համարվում է էթիլենդիամինային մնացորդը (I), որը ենթարկվում է բազմաթիվ փոխարկումների (սխեմա 118):

Նշված սխեմայով տետրահիդրոֆոլաթթվի միջոցով տարբեր բնույթի օքսիմեթիլային, ֆորմիլային և ֆորմիմինային ռադիկալներ տեղափոխվում են մի միացությունից մյուսին, և դրանք կարող են մեկը մյուսով փոխանակվել նյութափոխանակության պրոցեսներում:

**Սխեմա 118**



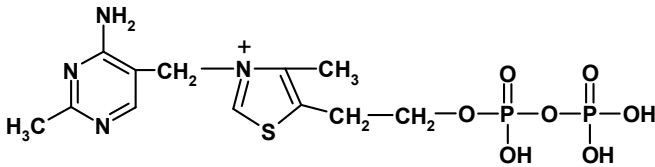
Տետրահիդրոֆոլաթթուն կարելի է ստանալ ֆոլաթթվի վերականգնմամբ կատալիտիկ կամ ֆերմենտային եղանակով (ասկորբինաթթվի և ՆԱԴ-ի մասնակցությամբ): Բացի դրանից՝ տետրահիդրոֆոլաթթուն թթվածնով կամ ֆերմենտատիվ եղանակով հեշտությամբ օքսիդանում է մինչև դիհիդրոֆոլաթթվի (որպես կոֆակտոր ծառայում է ՆԱԴ-ը):

Պարզաբանված է, որ ֆերմենտի սպիտակուցային մնացորդի հետ տետրահիդրոֆոլաթթուն կապված է ամուր կովալենտային կա-

պով, որի առաջացմանը մասնակցում է գլուտամինաթթվի մնացորդի կարբօքսիլային խումբը:

### 7.2.3. Լիազների, իզոմերազների և լիազների կոֆակտորներ

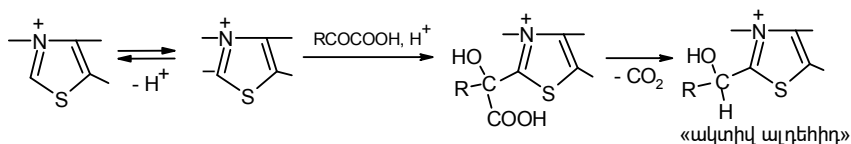
**Թիամինպիրոֆոսֆատներ և լիպոյաթթու:** Շատ ֆերմենտներ, որոնք կատալիզում են դեկարբօքսիլման (պիրուվատդեկարբօքսիլազ, պիրուվատդեհիդրոգենազ, ֆոսֆոկետոլազ, օքսալիլ-KoA-դեկարբօքսիլազ և այլն), որպես պրոստետիկ խումբ պարունակում են վիտամին B<sub>6</sub>-ի (թիամինի) պիրոֆոսֆատ՝ թիամինպիրոֆոսֆատ:



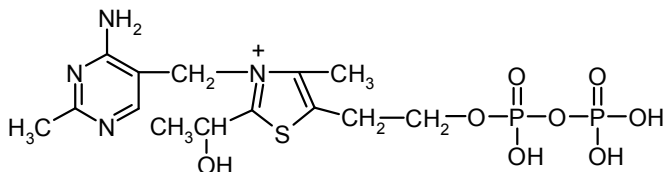
Թիամինպիրոֆոսֆատը լայնորեն տարածված է բնության մեջ: Հատկապես մեծ կոնցենտրացիաներով այն գտնվում է խմորիչներում, ինչպես նաև մարդու երիկամներում և լյարդում: Բացի թիամինպիրոֆոսֆատից՝ տարբեր կենսաբանական հումքերում հայտնաբերված են նաև թիամինի այլ էսթերներ, մասնավորապես թիամինմոնոֆոսֆատ և թիամինտրիֆոսֆատ: Փորձնական եղանակով պարզված է, որ հնարավոր է այդ նյութերի մասնակցությունը «մակրոէրզիկ» միացությունների փոխանակմանը, որոնք պարունակում են ֆոսֆատային խումբ:

Թիամինպիրոֆոսֆատի ազդեցության մեխանիզմը վերջնականապես պարզված չէ, և առաջարկվել են մի քանի տեսակետներ: Թիամինպիրոֆոսֆատի և  $\alpha$ -կետոթթուների փոխազդեցության ժամանակ առաջին փուլում թիամինպիրոֆոսֆատի թիագոլային օղակի C<sub>2</sub>-ի մոտ ջրածնի ատոմի դիսոցման արդյունքում առաջանում է ռեակցիոնունակ կարբանիոն (I), որը փոխազդում է  $\alpha$ -կետոթթվի հետ: Կոնդենսման արգասիքի դեկարբօքսիլացման արդյունքում առաջանում է «ակտիվ արդեհիդ» (սխեմա 119):

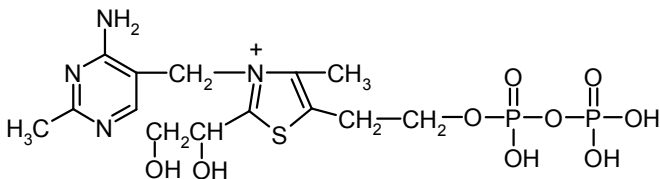
## Սխեմա 119



Պիրոխաղողաթթվի փոխարկումների ժամանակ «ակտիվ ալդեհիդը» համարվում է  $\alpha$ -օքսիէթիլթիամինալիրոֆոսֆատը:

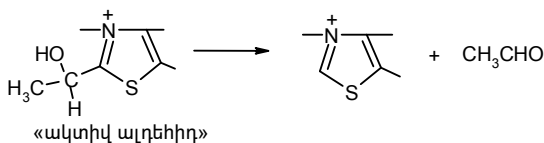


Դիկետոնների և  $\alpha$ -օքսիկետոնների սինթեզի և ճեղքման պրոցեսներում միջանկյալ միացությունը համարվում է «ակտիվ գլիկոլալդեհիդը»: «Ակտիվ ալդեհիդի» հետագա փոխարկումները կախված են ֆերմենտի բնույթից:



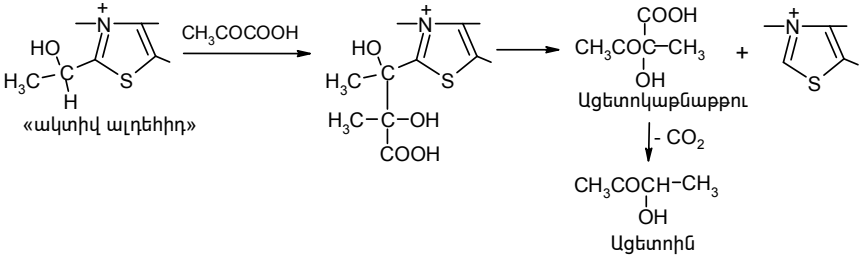
Պիրուվատդեկարբօքսիլազ ֆերմենտի ազդեցությամբ պիրոխաղողաթթվի դեկարբօքսիլման ժամանակ «ակտիվ ալդեհիդը» առաջացնում է էլային թիամինալիրոֆոսֆատ և ացետալդեհիդ (սխեմա 120):

## Սխեմա 120

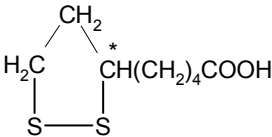


Պիրոխաղողաթթվի երկրորդ մոլեկուլի հետ «ակտիվ ագետալդե-  
հիդի» կոնդենսման արդյունքում առաջանում է ագետոկաթնաթթու,  
որը դեկարբոքսիլվում է՝ առաջացնելով ագետոին (սխեմա 121):

**Սխեմա 121**

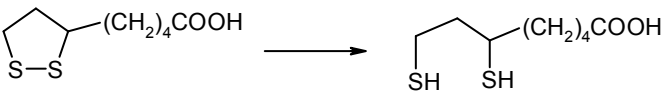


Պիրովատդեհիդրոգենազ և 2-օքսոգլուտարոդեհիդրոգենազ  
ֆերմենտներով կատալիզվող  $\alpha$ -կետոթթուների (օրինակ՝ պիրոխա-  
ղողաթթվի և  $\alpha$ -կետոգլուտարաթթվի) օքսիդիչ դեկարբոքսիլման  
պրոցեսներին, թիամինպիրոֆոսֆատից բացի, մասնակցում են նաև  
կոֆերմենտ A-ն և լիպոյաթթուն (թիոկտաթթուն):



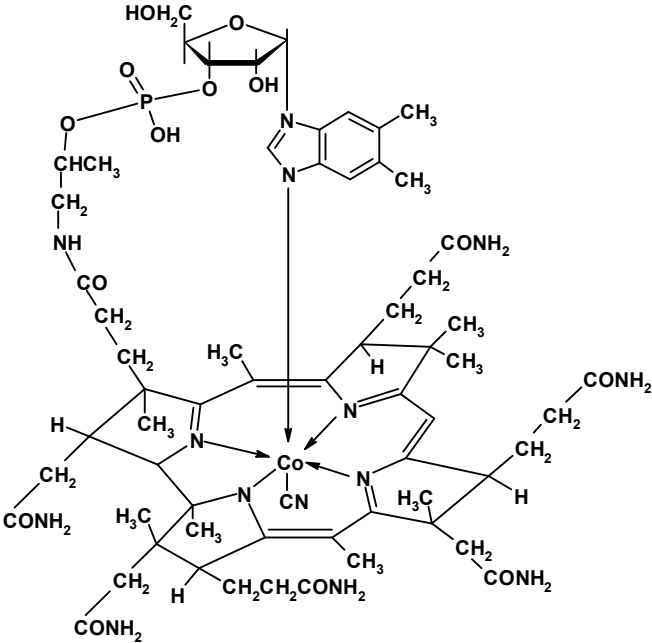
Լիպոյաթթուն լավ տարածված է միկրոօրգանիզմներում և կեն-  
դանինների ու բույսերի հյուսվածքներում: Վերականգնիչների ազդե-  
ցությամբ դիսուլֆիդային կապը վերականգնվում է, և լիպոյաթթուն  
տրանսֆորմացվում է դիհիդրոլիպոթթվի (սխեմա 122):

**Սխեմա 122**



$\alpha$ -կետոթթուների օքսիդիչ դեկարբօքսիլման ռեակցիաներին մասնակցելուց բացի՝ լիպոյաթթուն կատարում է նաև ացիլ խմբի փոխադրողի և էլեկտրոնների ակցեպտորի դեր պիրոլիսադոլաթթվի ճեղքման ռեակցիաներում՝ մինչև ածխածնի երկօքսիդի, քացախաթթվի և կաթնաթթվի առաջացումը: Բացի դրանից՝ որպես էլեկտրոնների ակցեպտոր՝ այն մասնակցում է նաև ֆոտոսինթեզին և այլ պրոցեսների:

**Կոբամիդային կոֆերմենտներ:** Պարզաբանված է, որ կենսաբանական համակարգերում իզոմերման մի շարք պրոցեսներ ընթանում են վիտամին B<sub>12</sub>-ի ածանցյալների՝ կոբամիդային կոֆերմենտների մասնակցությամբ: Վիտամին B<sub>12</sub>-ի մոլեկուլում կենտրոնական կոբալտի ատոմը կապված է 4 պիրոլային օղակների, CN խմբի և դիմեթիլբենզիմիդազոլուկլեոտիդի հետ, որն իր հերթին կապված է պիրոլային օղակներից մեկի կողքային շղթայի հետ:

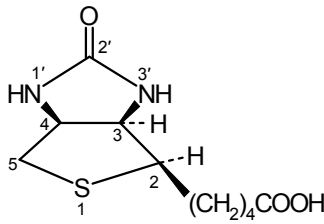


Հայտնի են մի քանի կոբամիդային կոֆերմենտներ, որոնք պարունակում են տարբեր նուկլեոտիդային հիմքեր, որոնք կապված են կոորդինացիոն կապերով եռավալենտ կոբալտի ատոմի հետ և կո-վալենտ կապով՝ վիտամինի կողքային շղթայի հետ:

Կոբամիդային կոֆերմենտները մասնակցում են ներմոլեկուլային խմբավորման ֆերմենտային ռեակցիաներին: Օրինակ՝ դեզօքսիադենոզիլ- $B_{12}$ -ը ծառայում է որպես այնպիսի ֆերմենտների կոֆակտոր, որոնք կատալիզում են  $L$ -գլուտամինաթթվի իզոմերումը  $\beta$ -մեթիլ- $L$ -ասպարագինաթթվի, պրոպիոնալդեհիդի փոխարկումը 1,2-պրոպանդիոլի և այլն:

Կոբամիդային կոֆերմենտների մասնակցությամբ ընթացող կենսաքիմիական ռեակցիաների մեխանիզմները վերջնականապես դեռ պարզաբանված չեն: Այդ կապակցությամբ կոբամիդային կոֆերմենտների սինթետիկ մոդելների ստացումը և նրանց հետազոտումը ֆերմենտային ռեակցիաների մեխանիզմների պարզաբանման գործընթացներում ներկայումս համարվում են կենսաքիմիայի և կենսամիմետիկ քիմիայի կարևորագույն խնդիրներից:

**Բիոտին (վիտամին H):** Որոշ դարձելի կարբօքսիլման ռեակցիաների ֆերմենտների կոֆակտոր է հանդիսանում բիոտինը:



Այդ միացությունը մեծ դեր է խաղում ածխաջրերի, լիպիդների, սպիտակուցների և նուկլեինաթթուների փոխանակման պրոցեսներում:

Բիոտինի մասնակցությամբ ընթացող ռեակցիաները կարելի է բաժանել երկու խմբի: Առաջին խմբին են պատկանում ԱԵՖ-ի էներգիայի հաշվին ածխաթթու գազի ֆիքսման ռեակցիաները (ֆերմենտը՝ լիզազ) (սխեմա 123):

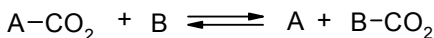
### Սխեմա 123



որտեղ *A* - ացետիլ-կոֆերմենտ *A*, պրոպիոնիլ-կոֆերմենտ *A*, պիրոխաղողաթթու և այլ ակցեպրոններ:

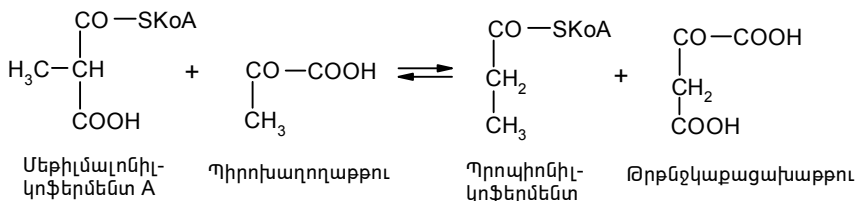
Երկրորդ խմբի մեջ են մտնում *տրանսկարբոքսիլման* ռեակցիաները (ֆերմենտը՝ կարբոքսիլտրանֆերազ): Այս դեպքում մեկ սուբստրատի (B) կարբոքսիլումն իրականացվում է միաժամանակ ընթացող մյուս սուբստրատի (A-CO<sub>2</sub>) ղեկարբոքսիլման հետ՝ առանց ԱԵՖ-ի էներգիայի լրացուցիչ ծախսման (սխեմա 124):

### Սխեմա 124



Նման ռեակցիաների օրինակ է մեթիլմալոնիլ-կոֆերմենտ A-ի փոխազդեցությունը պիրոխաղողաթթվի հետ, որը բերում է պրոպիոնիլ-կոֆերմենտ A-ի և թրթնջկաքացախաթթվի առաջացմանը (սխեմա 125):

### Սխեմա 125



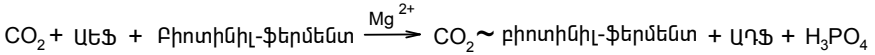
Ենթադրվում է, որ միևնույն ֆերմենտները երկու խմբի ռեակցիաներն էլ կարող են կատալիզել: Պարզաբանված է, որ կենսաբանական համակարգերում բիոտինը ամուր կապված է սպիտակուցի հետ և կարող է անջատվել նրանից միայն տրիպսինով կամ աղաթթվով հիդրոլիզելու դեպքում:

Բիոտինի ազդեցության մեխանիզմի վերաբերյալ չկա վերջնական կարծիք: Օրինակ՝ ենթադրվում է, որ ճարպաթթուների կենսա-

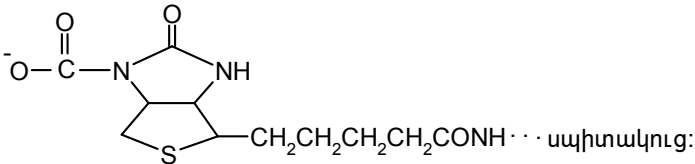


սինթեզի պրոցեսի առաջին փուլում բիոտինիլ-ֆերմենտի մասնակցությամբ առաջանում է «ակտիվացված ածխաթթու» մակրոէրզիկ միացության տեսքով ( $\text{CO}_2$ -բիոտինիլ-ֆերմենտ), որը ածխաթթու գազը տեղափոխում է ակցեպտորին (ացետիլ- $\text{CoA}$ , պրոպիոնիլ- $\text{CoA}$ ,  $\beta$ -մեթիլկրոտոնիլ- $\text{CoA}$ ) (սխեմա 126):

### Սխեմա 126

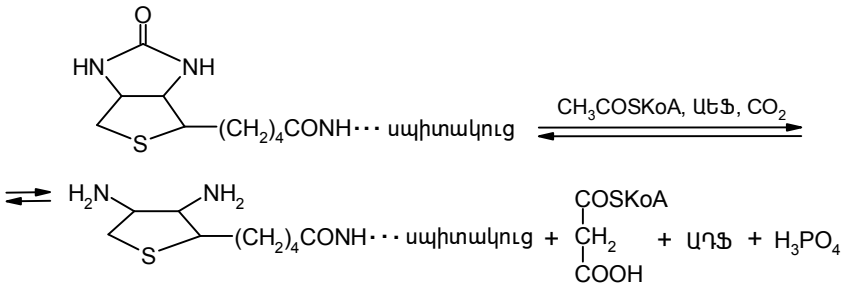


Համաձայն Լինենի՝ «ակտիվացված ածխաթթուն» ունի այսպիսի կառուցվածք.



Իսկ Ուելկիրը առաջարկել է բիոտինի ազդեցության այլ մեխանիզմ, որի համաձայն՝ ացետիլ-կոֆերմենտ A-ի կարբոքսիլման ռեակցիայում բիոտինիլ-ֆերմենտը տալիս է ուրեիդային ածխածին ( $\text{C}_2$ ) վերածվելով «դիամինոբիոտին»-ֆերմենտի (սխեմա 128):

### Սխեմա 128



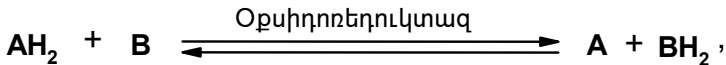
## Գլուխ 8. Որոշ հայտնի ֆերմենտներ

Ֆերմենտների անջատման և մաքրման արդյունավետ մեթոդների մշակման շնորհիվ տարեցտարի աճում է գերմաքուր ֆերմենտա-յին պրեպարատների քանակը, որոնք հաջողությամբ կիրառվում են բժշկության, դեղագործության, սննդարդյունաբերության և այլ բնագավառներում: Սույն բաժնում ներկայացված են առավել լավ ուսումնասիրված և գործնական կիրառություն գտած որոշ դասի ֆերմենտներ: Գրանց կառուցվածքի, կիմետիկական օրինաչափությունների, սուբստրատային սպեցիֆիկության և կենսաբանական հատկությունների վերաբերյալ ընդհանուր տեղեկատվություն տրված է գլուխ 6-ում:

### 8.1. Օքսիդոռեդուկտազներ

Ֆերմենտների այդ դասին են պատկանում կենդանի օրգանիզմում ընթացող օքսիդավերականգնման ռեակցիաները կատալիզող ֆերմենտները: Հայտնի են 200-ից ավելի օքսիդոռեդուկտազներ: Բոլոր օքսիդոռեդուկտազները ակտիվություն են ցուցաբերում միայն կոֆերմենտների ներկայությամբ, իսկ նրանց սուբստրատային սպեցիֆիկությունը տարբեր ռեակցիաներում որոշում է ապոֆերմենտը:

Հիմնականում կենսաբանական օքսիդացման պրոցեսները կարելի է դիտարկել որպես դեհիդրման կամ օքսիդացվող սուբստրատից ջրածնի երկու ատոմների պոկման ռեակցիաներ:

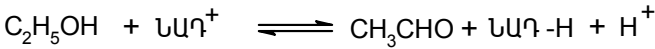


որտեղ  $\text{AH}_2$ -ը՝ ջրածնի դոնոր,  $\text{B}$ -ն՝ ջրածնի ակցեպտոր:

**Ալկահոլդեհիդրոզենազ:** Ալկահոլդեհիդրոզենազ (ալկահոլ: ՆԱԴ-օքսիդառեդուկտազ) ֆերմենտը լայնորեն տարածված է բնության մեջ: Այդ ֆերմենտով ավելի հարուստ են խմորիչները, ցուլի լյարդը և այլն:

Ալկոհոլդեհիդրոգենազը կատալիզում է առաջնային և երկրորդային սպիրտների և կիսաացետալների օքսիդացման ռեակցիաները, որտեղ ջրածնի ակցեպտորի դերում հանդես է գալիս նիկոտինամիդադեհիդրոգենուկլեոտիդը, որը մտնում է ալկոհոլդեհիդրոգենազի կազմի մեջ՝ որպես կոֆերմենտ: Օրինակ՝ ալկոհոլդեհիդրոգենազը կատալիզում է էթիլ սպիրտի օքսիդացումը մինչև քացախաթթվի (սխեմա 129):

**Սխեմա 129**



Այդ ռեակցիան մեծ դեր է խաղում սպիրտային խմորման պրոցեսներում:

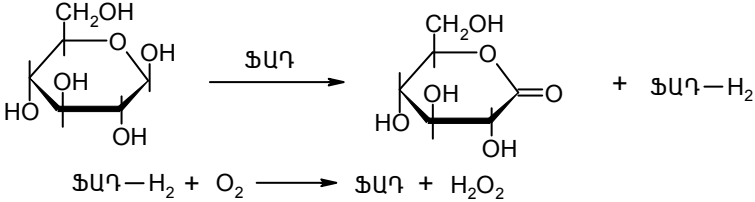
Ենթադրվում է, որ Zn-ի ատոմը որոշիչ դեր է խաղում սպիտակուցի հետ կոֆերմենտի կապման գործընթացում: Օրինակ՝ խմորիչների ալկոհոլդեհիդրոգենազը պարունակում է ՆԱԳ-ի չորս մոլեկուլ և Zn-ի չորս ատոմներ՝ սպիտակուցի մեկ մոլեկուլի հաշվով: Zn-ի ատոմների հեռացումը բերում է ֆերմենտի քայքայմանը և ինակտիվացմանը: Իսկ լյարդի ալկոհոլդեհիդրոգենազը, որը հաջողվել է անջատել բյուրեղական տեսքով, պարունակում է կոֆերմենտի երկու մոլեկուլ և Zn-ի երկու ատոմ: Լյարդի ալկոհոլդեհիդրոգենազի ակտիվությունը բավականին ցածր է խմորիչներից անջատված նույն ֆերմենտի ակտիվությունից, ինչը վկայում է այն մասին, որ Zn-ի ատոմներն անմիջական ազդեցություն ունեն ֆերմենտի ակտիվության վրա:

**Գլյուկոզօքսիդազ:** Գլյուկոզօքսիդազը (β-D-գլյուկոզ:թթվածին-օքսիդառեդուկտազ) հայտնաբերված է *Aspergillus niger* և *Penicillium glaucum* օրգանիզմներում: Ֆերմենտն իրենից ներկայացնում է ֆլավոպրոտեին, որի պրոստետիկ խումբը ֆլավինադեհիդրոգենուկլեոտիդն (ՖԱԴ) է: Ընդ որում՝ մեկ մոլեկուլ սպիտակուցին համապատասխանում է երկու մոլեկուլ ՖԱԴ:

Գլյուկոզօքսիդազն օժտված է թթվածնի ներկայությամբ β-D-գլյուկոզին մինչև գլյուկոնաթթվի δ-լակտոն օքսիդացնելու հատկու-

թյամբ, որի ընթացքում առաջանում է ջրածնի պերօքսիդ (սխեմա 130): Գլյուկոզօքսիդազը լայն կիրառություն է ստացել սննդարդյունաբերության և բժշկության բնագավառներում: Սովորաբար գլյուկոզօքսիդազը կիրառվում է կատալազի հետ միասին, որը քայքայում է առաջացած ջրածնի պերօքսիդը: Սննդարդյունաբերության մեջ գլյուկոզօքսիդազն օգտագործում են անթթվածին միջավայրերի ստեղծման համար՝ արագ փչացող մթերքների պահպանման նպատակով:

**Սխեմա 130**

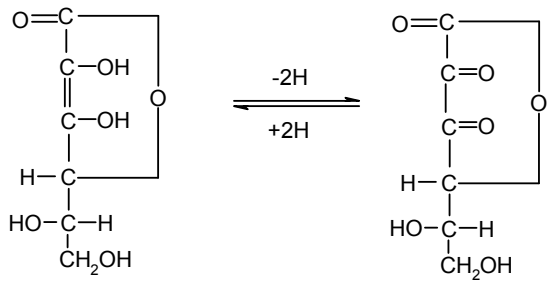


Գլյուկոզօքսիդազ ֆերմենտն օժտված է բարձր հակաբիոտիկային ակտիվությամբ: Օրինակ՝ *պոքսալին* ու *միկրոցիդ* հակաբիոտիկային պատրաստուկների բուժիչ հատկությունը պայմանավորված է նրանց կազմում գլյուկոզօքսիդազ ֆերմենտի առկայությամբ: Այդ պատրաստուկներն օգտագործում են որպես արտաքին կիրառման դեղամիջոցներ թարմ և վարակված վերքերի, II և III կարգի այրվածքների և մաշկի այլ թարախաբորբոքային պրոցեսների բուժման պրակտիկայում: Գլյուկոզօքսիդազ պարունակող պատրաստուկների կարևորությունը պայմանավորված է նաև նրանով, որ նրանք ազդում են ստաֆիլակոկների վրա, որոնք կայուն են այնպիսի հակաբիոտիկների հանդեպ, ինչպիսիք են պենիցիլինը, ստրեպտոմիցինը, էրիթրոմիցինը, նովոբիոցինը և այլն:

**Ասկորբինաօքսիդազ:** Ասկորբինաօքսիդազ (*L*-ասկորբինատ:թթվածին-օքսիդառեդուկտազ) ֆերմենտը տարածված է հիմնականում բուսական աշխարհում: Այդ ֆերմենտը դասվում է կուպրոպրոտեինների շարքին: Ասկորբինաօքսիդազը կատալիզում է

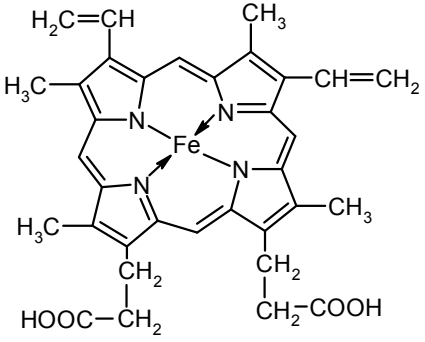
ասկորբինաթթվի օքսիդացման ռեակցիան մինչև դեհիդրոասկորբինաթթվի, որը շատ լաբիլ է և հեշտությամբ ենթարկվում է քայքայման: Այդ ռեակցիայում ջրածնի ակցեպտորի դերում հանդես է գալիս թթվածինը (սխեմա 131):

**Սխեմա 131**



Այդ ֆերմենտը կատալիզում է նաև դիֆենոլների, պոլիֆենոլների և այլ նման միացությունների օքսիդավերականգնման ռեակցիաները:

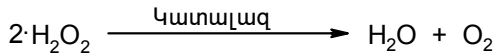
**Կապալազ:** Կատալազ (ջրածնի պերօքսիդ:ջրածնի պերօքսիդօքսիդառեդուկտազ) ֆերմենտը տարածված է կենդանիների մի շարք բջիջներում, մասնավորապես էրիթրոցիտներում և լյարդի բջիջներում: Բացի դրանից՝ այն մեծ քանակությամբ հայտնաբերված է նաև աերոբ բակտերիաներում:



Կատալազ ֆերմենտի ապոֆերմենտը տարբեր բջիջներում տարբեր է, սակայն բոլոր կատալազները պարունակում են միևնույն պրոստետիկ խումբը՝ *ֆերոպրոպոպորֆիրինը*:

Բյուրեղական կատալազը պարունակում է մինչև 0,09% երկաթ, որը համապատասխանում է հեմի չորս մոլեկուլներին՝ ֆերմենտի մեկ մոլեկուլի հաշվով: Ի տարբերություն հեմ խմբի, որը գտնվում է հեմոգլոբինի մոլեկուլում և դարձելի ձևով կապում է մոլեկուլային թթվածին, կատալազ ֆերմենտի հեմ խումբն ընդունակ չէ կապվել թթվածնի հետ: Դա պայմանավորված է ակտիվ կենտրոնի սպեցիֆիկության վրա սպիտակուցային մասի (ապոֆերմենտի) ազդեցությամբ: Կատալազ ֆերմենտը կատալիզում է ջրածնի պերօքսիդի ճեղքման ռեակցիան (սխեմա 132):

### Սխեմա 132



Այս ռեակցիան կենդանի օրգանիզմում հայտնաբերված առաջին ֆերմենտային ռեակցիան է: Կատալազ ֆերմենտի ազդեցության մեխանիզմի վերաբերյալ չկա միանշանակ մոտեցում: Ենթադրվում է, որ կենդանի բջիջներում ընթացող օքսիդավերականգնման ռեակցիաների արդյունքում առաջանում է ջրածնի պերօքսիդ, որն ընդունակ է օրգանիզմում հարուցել ոչ ցանկալի ռեակցիաներ: Կատալազը քայքայում է ջրածնի պերօքսիդը և օրգանիզմը պաշտպանում է նրա ոչ ցանկալի ազդեցությունից: Օրինակ՝ պարզված է, որ մարդու էրիթրոցիտներում կատալազ ֆերմենտի բացակայության դեպքում հեմոգլոբինը արագ քայքայվում է ջրածնի պերօքսիդի նույնիսկ չնչին քանակների առկայության դեպքում:

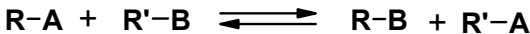
**Պերօքսիդազ:** Պերօքսիդազ (դոնոր:ջրածնի պերօքսիդ-օքսիդառեդուկտազ) խմբի ֆերմենտներ լայն տարածված են բուսական աշխարհում և բակտերիաներում: Դրանք բավականին հազվադեպ են հանդիպում կաթնասունների հյուսվածքներում, օրինակ՝ էրիթրոցիտներում (վերդպերօքսիդազ) և կաթում (լակտոպերօքսիդազ):

Պերօքսիդազը կատալիզում է ջրածնի պերօքսիդով տարբեր միացությունների օքսիդացման ռեակցիաները: Կենդանի հյուսվածքներում այն օգտագործվում է որևէ ֆերմենտային ռեակցիայի արդյունքում առաջացող ջրածնի պերօքսիդով մի շարք միացությունների (օրինակ՝ հիդրոխիոնոնների, արիլամինների, ալիֆատիկ սպիրտների և այլն) օքսիդացման համար: Ընդ որում՝ պերօքսիդազային ակտիվությունը բնորոշ է ոչ միայն պերօքսիդազ ֆերմենտներին, այլ նաև հեմոգլոբինին և մնացած բոլոր հեմոպրոտեիններին:

Հայտնի է, որ լեյկոցիտների պերօքսիդազը որոշակի պայմաններում կարելի է օգտագործել դիֆտերային և պրկախտային տոքսինների վնասազերծման համար:

## 8.2. Տրանսֆերազներ

Տրանսֆերազները ֆերմենտներ են, որոնք կատալիզում են որոշակի խմբերի դարձելի տեղափոխումը մի օրգանական միացությունից մյուսին:



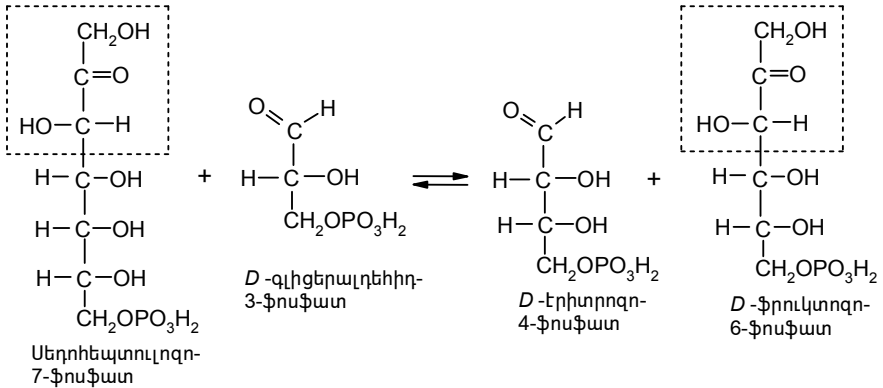
Նշված խմբի ֆերմենտները կարգավորում են ածխաջրերի և ամինաթթուների մետաբոլիզմի պրոցեսները: Ներկայումս հայտնի են 450-ից ավելի տրանսֆերազներ, որոնց գերակշռող մասը կատալիտիկ ակտիվություն է ցուցաբերում միայն կոֆերմենտների ներկայությամբ:

**Տրանսպիրոլազ:** Տրանսպիրոլազ (դիօքսիացետոնտրանսֆերազ կամ սեդոհեսպ-տուլոզ-7-ֆոսֆատ: D-գլիցերալդեհիդ-3-ֆոսֆատ-դիօքսիացետոնտրանսֆերազ) ֆերմենտը տարածված է կանաչ բույսերում, խմորիչներում, բակտերիաներում և մի շարք կենդանական բջիջներում:

Ֆերմենտը կատալիզում է սեդոհեսպտուլոզ-7-ֆոսֆատից D-գլիցերալդեհիդ-3-ֆոսֆատին դիօքսիացետոնի մնացորդի տեղափոխման ռեակցիան, որի ժամանակ դիօքսիացետոնային խմբավորման

ակցեպտորի դերում կարող է հանդես գալ նաև ռիբոզո-5-ֆոսֆատը, որը վերածվում է օկտուլոզո-8-ֆոսֆատի (սխեմա 133):

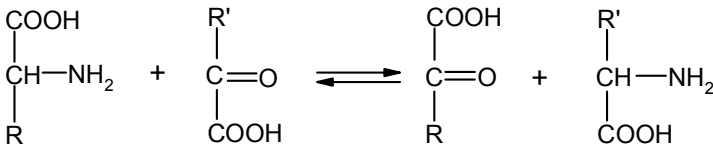
### Սխեմա 133



1961 թ.-ին *Candidi utilis* օրգանիզմներից բյուրեղական տեսքով անջատվել է կայուն տրանսալդուլազ ֆերմենտ՝ pH=7,3-8,1 օպտիմալ տիրույթով, որի մոտ չի հայտնաբերվել պրոստետիկ խումբ կամ մետաղ-ակտիվատոր:

**Ամինապրանսֆերազներ:** Ամինատրանսֆերազները (կամ տրանսամինազները) համարվում են ֆերմենտների կարևոր խումբ, որոնք կատալիզում են ամինային խմբի փոխանցումը α-ամինաթրթվից α-կետոթրթվին: Այսպիսի ռեակցիաները կոչվում են տրանսամինացման կամ վերամինացման ռեակցիաներ (սխեմա 134):

### Սխեմա 134





Տրանսամինացման ռեակցիաները հանդիսանում են *L*-ամինաթթուների սինթեզի և ճեղքման մետաբոլիկ ուղիները: Տրանսամինազները պարունակվում են կենդանի օրգանիզմի բոլոր հյուսվածքներում: Բոլոր ամինատրանսֆերազները, որպես պրոստետիկ խումբ, պարունակում են *պիրիդօքսալֆոսֆատ*:

Տրանսամինազային ակտիվության որոշումն ունի կարևոր ախտորոշիչ նշանակություն: Արյան մեջ ամինատրանսֆերազային ակտիվության բարձրացում նկատվում է լյարդի և ենթաստամոքսային գեղձի հիվանդությունների, ինչպես նաև գլխուղեղի արյան զեղման և ինֆարկտի դեպքում:

**Կրեատինկինազ:** Կրեատինկինազ (ԱԵՖ:կրեատինֆոսֆոտրանսֆերազ) ֆերմենտը տարածված է կենդանի օրգանիզմների հյուսվածքներում (մկաններում, գլխուղեղում, սրտում, արյան մեջ և այլն):

Կրեատինկինազը կատալիզում է ԱԵՖ-ից կրեատինին ֆոսֆատային խմբի տեղափոխման ռեակցիան և կարևոր ֆիզիոլոգիական դեր է կատարում մկանային հյուսվածքների մետաբոլիզմում՝ իրականացնելով ԱԴՖ-ից և կրեատինֆոսֆատից ԱԵՖ-ի ռեհինթեզը (տե՛ս սխեմա 115):

Պարզաբանված է, որ կրեատինկինազ ֆերմենտի մոլեկուլը պարունակում է երկու ակտիվ կենտրոն, և դրանցից յուրաքանչյուրի մեջ մտնում է մեկական SH խումբ, իսկ ֆերմենտն ակտիվանում է  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  և  $Ca^{2+}$  իոնների ներկայությամբ: Կրեատինկինազ ֆերմենտի ակտիվության որոշումն օգտագործվում է մի շարք հիվանդությունների ախտորոշման պրակտիկայում: Հետաքրքիր է, որ միոկարդի ինֆարկտի առաջին ժամերի ընթացքում արյան մեջ կտրուկ ավելանում է կրեատինկինազի պարունակությունը:

**Ռիբոնուկլեազ:** Տարբերվում են երկու տեսակի նուկլեազներ՝ *էնդոնուկլեազներ* և *էկզոնուկլեազներ*: *Էկզոնուկլեազներն* իրենց ազդեցության բնույթով դասվում են հիդրոլազների դասին, դրանք կատալիզում են պոլինուկլեոտիդային շղթայից նուկլեոտիդների հիդրոլիտիկ ճեղքման հաջորդական ռեակցիան ֆոսֆոդիէսթերային կա-

ալի խզման ճանապարհով: *Էնդոնուկլեազները* կատալիզում են ֆոսֆոդիէսթերային կապերի ճեղքումը նուկլեինաթթվի մոլեկուլի ներսում: Դրանք ցուցաբերում են որոշակի սպեցիֆիկություն նուկլեինաթթվի երկու տեսակներից մեկի հանդեպ, ինչի կապակցությամբ տարբերվում են *ռիբոնուկլեազներ* և *դեօքսիռիբոնուկլեազներ*:

Ռիբոնուկլեազը (ռիբոնուկլեինատ:նուկլեոտիդ-2-տրանսֆերազը) կատալիզում է ՌՆԹ-ի դեպոլիմերման ռեակցիան 2',3'-ֆոսֆոդիէսթերային կապերի խզման միջոցով՝ առաջացնելով ցիկլիկ 2',3'-նուկլեոտիդ, որն այնուհետև դանդաղ հիդրոլիզվում է:

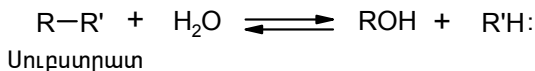
Ռիբոնուկլեազները լայնորեն տարածված են բնության մեջ և հայտնաբերված են կենդանի օրգանիզմի բազմաթիվ հյուսվածքներում և օրգաններում, ինչպես նաև որոշ բույսերում:

Ենթադրվում է, որ ռիբոնուկլեազի ակտիվ կենտրոնի մեջ մտնում են հիստիդինի երկու մնացորդների (12 և 118) իմիդազոլային օղակներ, լիզինի երկու մնացորդներ (7 և 41) և ասպարազինաթթվի մնացորդ (121): Ռենտգենկառուցվածքային անալիզի մեթոդով պարզաբանվել է, որ ռիբոնուկլեազ ֆերմենտի մոլեկուլն իրենից ներկայացնում է բավականին մեծ խորությամբ խոռոչով հավաք գլոբուլ, որտեղ մտնում է ակտիվ կենտրոնը: Ռիբոնուկլեազին բնորոշ հատկությունը նրա կայունությունն է բարձր ջերմաստիճանի պայմաններում, ֆերմենտի լուծույթի տաքացումը մինչև 100°C մոտ 5 բույս տևողությամբ չի ազդում նրա ակտիվության վրա:

Ռիբոնուկլեազային ակտիվության որոշումն օգտագործվում է որոշ հիվանդությունների ախտորոշման պրակտիկայում, մասնավորապես տարբեր օրգաններում քաղցկեղային հիվանդությունների ախտորոշման ժամանակ: Օրինակ՝ արյան շիճուկի քաղցկեղի դեպքում արյան մեջ ռիբոնուկլեազային ակտիվությունը բավականին մեծանում է, իսկ հյուսվածքների քաղցկեղային հիվանդությունների դեպքում, ընդհակառակը, այն կտրուկ փոքրանում է: Գոյություն ունի ուղիղ գծային կախվածություն չարորակ ուռուցքի ռեգրեսիայի և նրա մեջ ռիբոնուկլեազային ակտիվության միջև:

### 8.3. Հիդրոլազներ

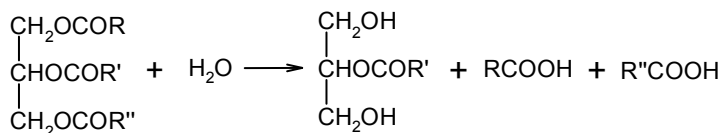
Հիդրոլազների շարքին են դասվում այն ֆերմենտները, որոնք ջրային միջավայրում կատալիզում են բարդ օրգանական միացությունների քայքայման ռեակցիաները.



Կախված հիդրոլիզվող կապի տեսակից՝ հիդրոլազներն իրենց հերթին դասակարգվում են առանձին ենթադասերի: Հայտնի են 180-ից ավելի հիդրոլազներ:

**Լիպազներ:** Լիպազ (գլիցերինի էսթերների հիդրոլազ) ֆերմենտները հայտնաբերված են կենդանական հյուսվածքներում, հատկապես ենթաստամոքսային գեղձում (պանկրեատիկ լիպազ), արյան շիճուկում, երիկամներում: Այդ ֆերմենտը հայտնաբերված է նաև որոշ տնային բույսերում, սնկերում, բակտերիաներում: Ֆերմենտը կատալիզում է բարձրամոլեկուլային ճարպաթթուների էսթերների, այդ թվում՝ նաև տրիգլիցերիդների, հիդրոլիտիկ ճեղքման ռեակցիաները: Ընդ որում՝ տրիգլիցերիդները հիդրոլիզվում են ավելի արագ, քան դիգլիցերիդները, իսկ դրանք իրենց հերթին հիդրոլիզվում են ավելի հեշտ, քան մոնոգլիցերիդները: Օրինակ՝ պանկրեատիկ լիպազն ընտրողաբար ձևով պոկում է  $\alpha, \alpha'$ -ածխածնի ատոմի մոտ գտնվող ացիլային մնացորդները (սխեմա 135):

#### Սխեմա 135



Այս ֆերմենտը հիդրոլիզում է նաև արոմատիկ էսթերներին, սակայն ավելի ցածր արագությամբ:

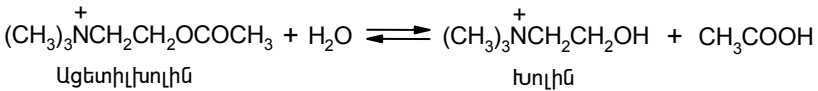
Պանկրեատիկ լիպազն ակտիվանում է  $\text{Ca}^{2+}$  և  $\text{Mg}^{2+}$  իոնների ներկայությամբ: Այն համարվում է շատ կայուն ֆերմենտ ռեզիստենտ

Ֆերմենտների բազմաթիվ ինհիբիտորների նկատմամբ, այդ թվում նաև՝ այնպիսի ֆոսֆորօրգանական միացության հանդեպ, ինչպիսին է դիհոպրոպիլֆտորֆոսֆատը:

Ֆիզիոլոգիական պայմաններում պանկրեատիկ լիպազ և արյան շիճուկի լիպազ ֆերմենտների ակտիվությունը չնչին է: Ակտիվության կտրուկ մեծացում է նկատվում ենթաստամոքսային գեղձի քաղցկեղի և խրոնիկական պանկրեատիտի դեպքում:

**Ացետիլխոլինէսթերազ:** Ացետիլխոլինէսթերազ (ացետիլխոլին-հիդրոլազ) ֆերմենտը հայտնաբերված է մարդու և կենդանիների նյարդային հյուսվածքներում և արյան էրիթրոցիտներում: Ֆերմենտը կատալիզում է ացետիլխոլինի հիդրոլիզի դարձելի ռեակցիան (սխեմա 136):

### Սխեմա 136



Ֆերմենտը դեզակտիվացվում է ֆոսֆորօրգանական միացությունների ազդեցությամբ, օրինակ՝ դիհոպրոպիլֆտորֆոսֆատի, տետրաէթիլֆտորֆոսֆատի և այլն:

Ացետիլխոլինէսթերազն օժտված է բավականին մեծ սպեցիֆիկությամբ ամինասպիրտային բաղադրիչների հանդեպ, քանի որ կատալիզում է ոչ միայն խոլինի, այլ նաև այլ ամինասպիրտների էսթերների հիդրոլիզը:

Արյան շիճուկում ացետիլխոլինէսթերազի ակտիվությունը տատանվում է բավականին լայն մարզում, սակայն տվյալ մարդու մոտ այն հաստատուն է: Այդ ակտիվությունը կտրուկ նվազում է լյարդի քաղցկեղի, միոկարդի ինֆարկտի, սուր ինֆեկցիոն հիվանդությունների, թունավոր հղիության և այլ դեպքերում:

**$\alpha$ -ամիլազ:**  $\alpha$ -ամիլազ ( $\alpha$ -1,4-գլյուկան-4-գլյուկանոհիդրոլազ) ֆերմենտները տարածված են կենդանական և բուսական օրգանիզմներում: Դրանք հայտնաբերված են արյան մեջ, մեզում, թքում,

ենթաստամոքսային գեղձում և այլն: Ամիլազ կոչվում են այն ֆերմենտները, որոնք կատալիզում են պոլիսախարիդներում  $\alpha$ -1,4-գլիկոզիդային կապի հիդրոլիզը, օրինակ՝ օսլայում, գլիկոգենում և այլն:

Բոլոր ամիլազները ստորաբաժանվում են երկու խմբի՝ *էնդո-ամիլազների* և *էկզոամիլազների*: Ընդ որում՝ էնդոամիլազների միակ ներկայացուցիչը համարվում է  $\alpha$ -ամիլազը: Բյուրեղական  $\alpha$ -ամիլազն անջատվել է մարդու թքագեղձերից և ենթաստամոքսային գեղձից, առնետի ենթաստամոքսային գեղձից և որոշ միկրոօրգանիզմներից:  $\alpha$ -ամիլազը հիդրոլիզում է  $\alpha$ -1,4-գլիկոզիդային կապը օսլայանման պոլիսախարիդներում՝ առանց խախտելու գլիկոզիդային կենտրոնի կոնֆիգուրացիան, հետևաբար հիդրոլիզի հիմնական արգասիքը համարվում է  $\alpha$ -մալտոզը:

Տարբեր աղբյուրներից անջատված բոլոր  $\alpha$ -ամիլազները պարունակում են Ca-ի մեկ ատոմ (ֆերմենտի մոլեկուլի հաշվով), որը որոշիչ դեր է կատարում ֆերմենտի ակտիվացման գործում: Դրա մասին է վկայում այն փաստը, որ ֆերմենտը կորցնում է ակտիվությունն այնպիսի միացությունների ներկայությամբ, որոնք ընդունակ են կապել մետաղին: Բացի դրանից՝  $\alpha$ -ամիլազի մոլեկուլից Ca-ի հեռացումը բերում է ֆերմենտի լաբիլացմանը, և այն հեշտությամբ կոագուլացվում է: Ենթադրվում է, որ կալցիումը կայունացնում է ֆերմենտ սպիտակուցի երկրորդային և երրորդային կառուցվածքները, հետևաբար նաև ակտիվության համար անհրաժեշտ մակրոկառուցվածքը:

Արյան շիճուկում  $\alpha$ -ամիլազի ակտիվության որոշումը լայնորեն օգտագործվում է կլինիկայում տարբեր հիվանդությունների ախտորոշման ժամանակ: Օրինակ՝ սուր պանկրեատիտի համար բնորոշ է մինչև 10-30 անգամ ամիլազային ակտիվության մեծացումը, իսկ ողնուղեղի հեղուկում ամիլազային ակտիվության նվազումը նկատվում է սիֆիլիսի և այլ դեպքերում:

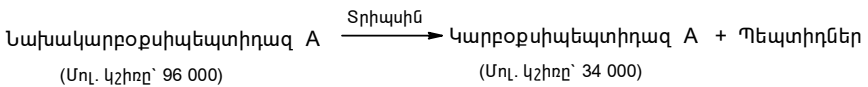
***$\beta$ -ամիլազ:***  $\beta$ -ամիլազ ( $\alpha$ -1,4-գլյուկան-4-մալտոհիդրոլազ) ֆերմենտները տարածված են բույսերում (սոյա, ցորեն և այլն):  $\beta$ -ամի-

լազը համարվում է *Էկզոամֆիլազ* և կատալիզում է  $\alpha$ -1,4-գլիկոզիդա-  
 յին կապի հիդրոլիզը օսլայանման պոլիսախարիդներում՝ հաջորդա-  
 բար պոլիսախարիդի շղթայի չվերականգնված ծայրից պոկելով  
 $\alpha$ -մալտոզի մնացորդներ: Հիդրոլիզի հիմնական արգասիքը համար-  
 վում է  $\beta$ -մալտոզը, քանի որ հիդրոլիզն ընթանում է գլիկոզիդային  
 կենտրոնի կոնֆիգուրացիայի փոփոխմամբ:

$\beta$ -ամիլազ ֆերմենտները լայնորեն կիրառվում են գարեջրի, գի-  
 նու և հացաթխման արտադրություններում:

**Կարբօքսիպեպտիդազ A:** Կարբօքսիպեպտիդազ A (պեպտի-  
 դիլ-L-ամինաթթվային հիդրոլազ) ֆերմենտը սինթեզվում է ենթա-  
 ստամոքսային գեղձում նախաֆերմենտի՝ նախակարբօքսիպեպտի-  
 դազի տեսքով: Նախակարբօքսիպեպտիդազ ֆերմենտն իրենից ներ-  
 կայացնում է 96.000 մոլային զանգվածով սպիտակուց: Նախաֆեր-  
 մենտի մոլեկուլը կազմված է մոտավորապես հավասար չափերի  
 երեք բաղադրիչներից, ինչը հաստատվել է երեք N-ծայրային ամի-  
 նաթթվային մնացորդների առկայությամբ՝ ասպարազինաթթվի, լի-  
 զինի և ցիստեինի: Նախակարբօքսիպեպտիդազ A-ն ակտիվանում է  
 տրիպսինով, ինչի արդյունքում նախաֆերմենտի 2/3-ը ճեղքվում է  
 պեպտիդների, որոնց թիվը հասնում է 40-ի (սխեմա 137):

### Սխեմա 137



Կարբօքսիպեպտիդազ A ֆերմենտը հիդրոլիզում է պեպտիդնե-  
 րի և սպիտակուցների C-ծայրային ամինաթթվային մնացորդի առա-  
 ջացրած պեպտիդային կապը՝ շղթայի C-ծայրից պոկելով ամինա-  
 թթվային մնացորդներ: Ֆերմենտը լայնորեն օգտագործվում է պոլի-  
 պեպտիդների C-ծայրային ամինաթթվային մնացորդի որոշման հա-  
 մար:

**Պեպսին:** Պեպսինը պատկանում է պրոտեոլիտիկ ֆերմենտնե-  
 րի դասին և համարվում է ստամոքսահյուսթի հիմնական ֆերմենտը:

Այն սինթեզվում է ոչ ակտիվ նախաֆերմենտի՝ պեպսինոգենի տեսքով: Պեպսինոգենն իրենից ներկայացնում է 402 ամինաթթվային մնացորդներից կազմված պոլիպեպտիդային շղթա՝ 42.000 մոլային զանգվածով:

Պեպսինոգենի փոխարկումը պեպսինի տեղի է ունենում կատալիտիկ քանակներով աղաթթվի ազդեցությամբ: Այդ ընթացքում առաջացած պեպսինն իրականացնում է պեպսինոգենի հետագա ակտիվացումը: Պրոցեսը համարվում է աուտոկատալիտիկ, ինչի շնորհիվ նրա արագությունն աստիճանաբար աճում է: Առաջացած պեպսինի մոլային զանգվածը կազմում է 34.500, հետևաբար պեպսինոգենի ակտիվացման պրոցեսում պոկվում է մոլեկուլի 1/5 մասը: Ամինաթթուներից բացի՝ պեպսինը պարունակում է նաև ֆոսֆորական թթվի մնացորդ:

Կարբօքսիպեպտիդազի միջոցով ֆերմենտային հիդրոլիզի եղանակով պարզվել է, որ պեպսինոգենի և պեպսինի C-ծայրային ամինաթթվային հաջորդականությունը նույնն է՝ Val-Leu-Ala: Պեպսինի պոլիպեպտիդային շղթան որոշակի հատվածներում կապված է դիսուլֆիդային կամրջակների միջոցով, որոնք հավանաբար կարևոր դեր են խաղում ֆերմենտի անհրաժեշտ կոնֆորմացիայի պահպանման գործընթացում: Ենթադրվում է, որ ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնում գտնվում է ասպարազինաթթվի կամ գլուտամինաթթվի մնացորդ, որը բավականին մոտ է բաշխված թիրոզինի մնացորդին: Ի տարբերություն մյուս պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների (տրիպսինի և քիմոտրիպսինի)՝ պեպսինն ավելի քիչ սպեցիֆիկ է: Այն հեշտությամբ հիդրոլիզում է պեպտիդային կապերը և չի ազդում էսթերների ու ամիդների վրա:

Պեպսինը լայնորեն կիրառվում է բարդ սպիտակուցների կառուցվածքի հետազոտման ժամանակ: Որպես բուժիչ պատրաստուկ՝ պեպսինը օգտագործվում է բժշկության մեջ մարսողական համակարգի խանգարման, ստամոքսի հիվանդությունների և սպիտակուցային անբավարարվածության բուժման գործընթացներում:

**Տրիպսին:** Տրիպսինը համարվում է աղեստամոքսային տրակտի պրոտեոլիտիկ ֆերմենտ, որն արտադրում է ենթաստամոքսային գեղձ ոչ ակտիվ նախորդի՝ տրիպսինոգենի տեսքով: Ինչպես տրիպսինը, այնպես էլ տրիպսինոգենը ստացված են բյուրեղական վիճակում, և որոշված է նրանց ամինաթթվային հաջորդականությունը: Պարզված է, որ տրիպսինոգենը պարունակում է մեծ թվով ամինադիկարբոնաթթուներ և դիամինաթթուներ և համեմատաբար աղքատ է հիստիդին, մեթիոնին և արգինին ամինաթթուներով: Տրիպսինոգենի մոլեկուլում պարունակվում են 6 դիսուլֆիդային կապեր, և այն ունի հետևյալ N-ծայրային ամինաթթվային հաջորդականությունը.



Բյուրեղական տրիպսինոգենը ակտիվանում է էնտերոպեպտիդազ կամ էնտերոկլինազ պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների ազդեցությամբ, որոնք արտադրվում են բարակ աղիքի կողմից: Էնտերոպեպտիդազն ազդեցության բարձր սպեցիֆիկությամբ օժտված ֆերմենտ է, և տրիպսինոգենը նրա միակ սուբստրատն է: Էնտերոպեպտիդազի ազդեցությամբ առաջացած տրիպսինն այնուհետև կատալիզում է տրիպսինոգենի հետագա ճեղքումը (աուտոկատալիզ):

Տրիպսինոգենը նույնպես կազմված է մեկ պոլիպեպտիդային շղթայից, սակայն դրա և տրիպսինի N-ծայրային ամինաթթվային մնացորդները տարբեր են, ինչը վկայում է այն մասին, որ ակտիվացման ժամանակ  $\text{Val}-(\text{Asp})_4-\text{Lys}$  հեքսապեպտիդային մնացորդը պոկվում է տրիպսինոգենի պոլիպեպտիդային շղթայի N-ծայրից:

Տրիպսինը ցուցաբերում է բարձր սպեցիֆիկություն այն պեպտիդային կապերի հանդեպ, որոնք առաջացած են հիմնային ամինաթթուներ լիզինի և արգինինի մասնակցությամբ: Բացի պեպտիդային կապից՝ տրիպսինը ճեղքում է նաև ամիդային և էսթերային կապերը՝ նույնպես առաջացած լիզինի և արգինինի մասնակցությամբ:

Երկվալենտ մետաղի իոնները ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ) մեծացնում են տրիպսինի հիդրոլիտիկ ակտիվությունը: Տրիպսինի ինհիբիտորի դերում հանդես են գալիս ֆոսֆորօրգանական միացու-



թյուններ, ինչպես նաև որոշ մետաղներ և բարձրամոլեկուլային սպիտակուցային նյութեր:

Տրիպսինը լայնորեն կիրառվում է թերապևտիկ պրակտիկայում: Նրա կարևոր հատկություններից է մահացած բջիջներում սպիտակուցների ճեղքումը՝ առանց ազդելու կենդանի հյուսվածքների վրա: Տրիպսինի այդ հատկությունը հնարավորություն է տալիս այն կիրառելու վերքերի և ծանր այրվածքների բուժման ժամանակ: Այն օժտված է հակաբորբոքային հատկությամբ և կիրառվում է տրոմբոֆլեբիտի, ինչպես նաև քթի, կոկորդի և այլ օրգանների բորբոքային պրոցեսների բուժման գործընթացներում: Տրիպսինը մյուս պանկրեատիկ ֆերմենտների հետ միասին *պանկրեատին* պատրաստուկի տեսքով կիրառվում է ենթաստամոքսային գեղձի հիվանդությունների բուժման ժամանակ: Տրիպսինը դեգոքսիռիբոնուկլեազի հետ միասին աերոզոլի տեսքով կիրառվում է նաև պնևմոնիայի, քրոնիկական բրոնխիտի և թոքերի էմֆիզեմի բուժման պրակտիկայում:

**Քիմոտրիպսին:** Քիմոտրիպսինը պրոտեոլիտիկ ֆերմենտ է, որն անջատվում է ենթաստամոքսային գեղձի կողմից ոչ ակտիվ նախաֆերմենտի՝ քիմոտրիպսինոգենի տեսքով: Ի տարբերություն տրիպսինոգենի՝ քիմոտրիպսինոգենը չի ակտիվանում էնտերոկլինազ ֆերմենտների ազդեցությամբ: Այն փոխարկվում է ակտիվ քիմոտրիպսինի տրիպսինի աննշան քանակների ազդեցությամբ, այսինքն՝ պրոցեսը չի համարվում աուտոկատալիտիկ: Ենթաստամոքսային գեղձից անջատվել են քիմոտրիպսինոգեն A և B, որոնք տարբերվում են իրարից ֆիզիկաքիմիական հատկություններով, որոնցից առավել լավ է ուսումնասիրված քիմոտրիպսինոգեն A-ն:

Քիմոտրիպսինոգենը քիմոտրիպսինի տրանսֆորմացման պրոցեսին բնորոշ է քիմոտրիպսինի մի շարք ակտիվ ձևերի առաջացումը՝  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\varepsilon$  և  $\pi$ : Քիմոտրիպսինի  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  և  $\delta$  ձևերը սպեցիֆիկությամբ իրար շատ մոտ են, սակայն տարբերվում են լուծելիությամբ, ինակտիվացման արագությամբ և մոլեկուլային զանգվածով: Քիմոտրիպսինի այս կամ այն ձևի առաջացումը կախված է ակտիվացման աստիճանից: Քիմոտրիպսինոգենի արագ ակտիվացումը բերում

է հիմնականում ծ-քիմոտրիպսինի, իսկ դանդաղ ակտիվացումը՝  $\alpha$ -քիմոտրիպսինի առաջացմանը: Ավելի լավ ուսումնասիրված է  $\alpha$ -քիմոտրիպսինը:

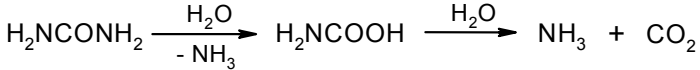
$\alpha$ -քիմոտրիպսինն իրենից ներկայացնում է սպիտակուց, որի մոլեկուլը կազմված է երեք պեպտիդային շղթաներից՝ A շղթա՝ կազմված 13 ամինաթթվային մնացորդներից, B շղթա՝ կազմված 180 ամինաթթվային մնացորդներից, և C շղթա՝ կազմված 15 ամինաթթվային մնացորդներից: Շղթաները իրար կապված են դիսուլֆիդային կամրջակներով:

Քիմոտրիպսինը հիդրոլիզում է պեպտիդային կապեր առաջացած արոմատիկ L-ամինաթթուների՝ ֆենիլալանինի, թիրոզինի և տրիպտոֆանի կարբօքսիլային խմբերի մասնակցությամբ: Քիմոտրիպսինը ազդում է նաև ամինաթթուների էսթերների և հիդրազիդների վրա:

Թերապևտիկ նպատակով բժշկության մեջ օգտագործվում են քիմոտրիպսինի հակաբորբոքային և արոտեոլիտիկ հատկությունները: Քիմոտրիպսինը տրիպսինի հետ հաճախ օգտագործվում է վերքերի և այրվածքների մաքրման, ստամոքսի խոցի և կոլիտների, կատարակտի և աչքի վիրահատություններից հետո վերքերի արագ բուժման պրակտիկայում: Քիմոտրիպսինը հաջողությամբ կիրառվում է նաև ստամոքսի քաղցկեղի ախտորոշման ժամանակ, նրա լուծույթով ստամոքսի լվացման ժամանակ անջատվում են քաղցկեղային բջիջները, որոնք կարելի է հայտնաբերել մանրադիտակով:

**Ուրեազ:** Ուրեազ (կարբամիդ-ամիդոհիդրոլազ) ֆերմենտը հայտնաբերված է ավելի քան 200 տեսակի բակտերիաներում, որոշ տեսակի խմորիչներում, սնկերում և բազմաթիվ բույսերում: Ուրեազն օժտված է բացարձակ սպեցիֆիկությամբ միզանյութի հիդրոլիզի ռեակցիայի նկատմամբ (սխեմա 138):

**Սխեմա 138**



Ուրեազ ֆերմենտի մոլային զանգվածը կազմում է 480.000, նրա կառուցվածքում առկա են 23 դիսուլֆիդային կամրջակներ, որոնք մասնակցում են մակրոկառուցվածքի, հետևաբար նաև ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի կազմավորմանը: Ֆերմենտի առաջնային կառուցվածքը ամբողջությամբ պարզաբանված է:

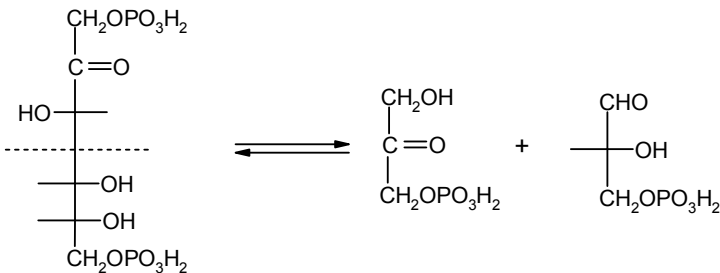
### 8.4. Լիազներ

Լիազները ֆերմենտներ են, որոնք կատալիզում են ոչ հիդրոլիտիկ եղանակով սուբստրատներից տարբեր խմբերի պոկման ռեակցիաները՝ կրկնակի կապի առաջացմամբ կամ հակառակը՝ կրկնակի կապին խմբերի միացման ռեակցիաները:

**Ալդոլազ:** Ալդոլազ (կետոզո-1-ֆոսֆատ-ալդեհիդ-լիազ) ֆերմենտը տարածված է կենդանական և բուսական հյուսվածքներում և միկրոօրգանիզմներում: Ալդոլազով հատկապես հարուստ են մկանների, երիկամների, էրիթրոցիտների, լյարդի բջիջները և խմորիչները:

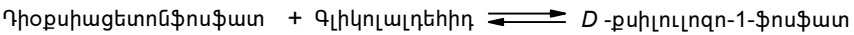
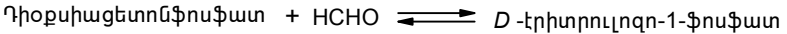
Ալդոլազը կատալիզում է *D*-ֆրուկտոզո-1,6-դիֆոսֆատի ճեղքումը՝ առաջացնելով դիօքսիացետոնֆոսֆատ և *D*-գլիցերալդեհիդ-3-ֆոսֆատ (սխեմա 139): Այդ ռեակցիան կարևոր նշանակություն ունի խմորման պրոցեսներում և մկանային բջիջներում ընթացող ածխաջրերի փոխանակման ռեակցիաներում, քանի որ այդ ժամանակ առաջացած տրիոզոֆոսֆատը հետագայում փոխարկվում է սպիրտի կամ կաթնաթթվի:

Սխեմա 139

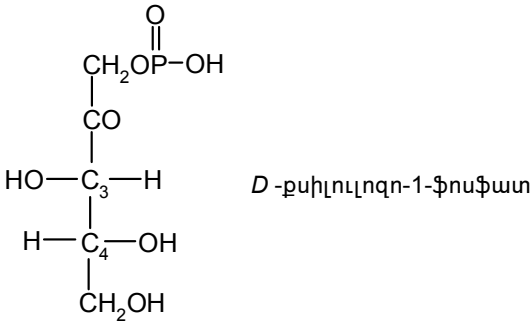


Ալդոլազը կատալիզում է մաս դիօքսիացետոնֆոսֆատի ալդոլային կոնդենսման ռեակցիան ֆորմալդեհիդի, քացախալդեհիդի, *D*-գլիցերալդեհիդի, *D*-էրիտրոզ-4-ֆոսֆատի և այլ օքսոմիացությունների հետ՝ առաջացնելով տետրոզների, պենտոզների, հեքսոզների, հեպտոզների և այլ ֆոսֆորական էսթերներ (սխեմա 140):

### Սխեմա 140



Այդ դեպքում  $C_3$  և  $C_4$  ամիսածնի ատոմների մոտ առաջանում է *տրանս*-կոնֆիգուրացիայով իզոմեր:



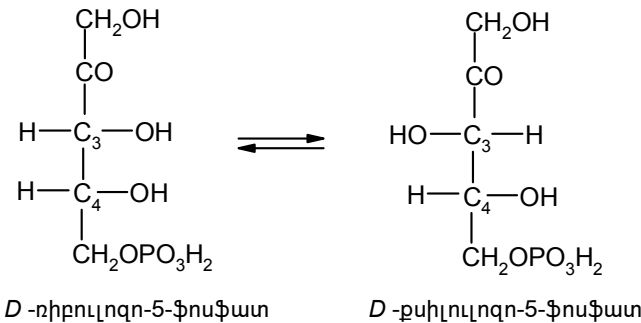
Տարբեր աղբյուրներից ստացված են մի շարք բյուրեղական ալդոլազներ: Յույց է տրված, որ խմորիչների և բակտերիաների ալդոլազները մետաղաֆերմենտներ են (դրանք այլ կերպ կոչվում են *ցինկոֆերմենտներ*), քանի որ նրանք արգելակվում են մետաղ կապող ազենտների ազդեցությամբ և նորից ակտիվանում են  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  և այլ իոններով:

Ալդոլազները այլ ֆերմենտների հետ միասին օգտագործվում են լյարդի (հեպատիտի, լյարդի քաղցկեղի և այլն) և սրտի (միոկարդի ինֆարկտի) հիվանդությունների, ինչպես մաս մկանների դիստրոֆիայի ախտորոշման գործընթացներում:

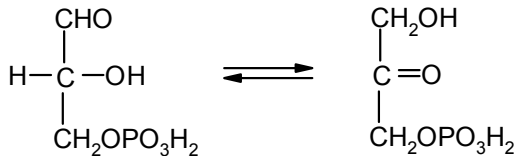
## 8.5. Իզոմերազներ

Այս խմբի ֆերմենտները կատալիզում են փոխարկումներ տարբեր տեսակի իզոմերների միջև, օրինակ՝ օպտիկական իզոմերների, *ցիս-տրանս* իզոմերների, կետո-ենոլային տաուտոմերների և այլն:

**Ռ-իբուլոզոֆոսֆատ-3-էպիմերազ:** *D*-ռիբուլոզո-5-ֆոսֆատ-3-էպիմերազ ֆերմենտը լայնորեն տարածված է բնության մեջ: Այն պարունակվում է փայծաղում, մկաններում, խմորիչներում, բակտերիաներում և մասնակցում է կենդանական ու բուսական հյուսվածքներում ընթացող ածխազրերի մետաբոլիզմի փոխարկումներին: Ֆերմենտը կատալիզում է *D*-ռիբուլոզո-5-ֆոսֆատի էպիմերացումը  $C_3$  դիրքում՝ *D*-քսիլուլոզո-5-ֆոսֆատի առաջացմամբ:

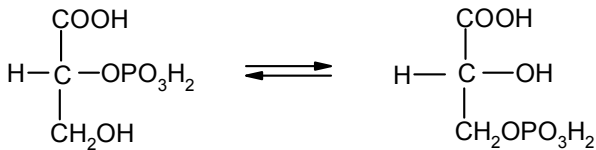


**Տրիոզոֆոսֆատիզոմերազ:** Տրիոզոֆոսֆատիզոմերազ (*D*-գլիցերալդեհիդ-3-ֆոսֆատ-կետոլիզոմերազ) ֆերմենտը կատալիզում է *D*-գլիցերալդեհիդ-3-ֆոսֆատի և դիօքսիացետոնֆոսֆատի միջև ընթացող դարձելի ռեակցիան:



Տրիոզոֆոսֆատիզոմերազը պարունակվում է արյան շիճուկում: Այդ ֆերմենտի ակտիվությունը մեծանում է էպիդեմիկ հեպատիտի դեպքում:

**Ֆոսֆոգլիցերատ-ֆոսֆոնուտազ** (*D*-ֆոսֆոգլիցերատ-2,3-ֆոսֆոնուտազ) ֆերմենտը կատալիզում է գլիկոլիզի փուլերից մեկը՝ 2-ֆոսֆո-գլիցերիհնաթթվի դարձելի փոխարկումը 3-ֆոսֆոգլիցերիհնաթթվի:



Ֆերմենտը նշված սուբստրատի համար բացարձակ սպեցիֆիկ է, այն անջատվել է բյուրեղական վիճակում խմորիչներից և մկանային հյուսվածքներից:

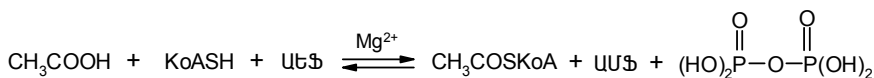
### 8.6. Լիզազներ (սինթետազներ)

Լիզազներ կամ սինթետազներ են կոչվում այն ֆերմենտները, որոնք կատալիզում են երկու մոլեկուլների միացման ռեակցիաները՝ զուգակցված ԱԵՖ-ի մոլեկուլում պիրոֆոսֆատային կապի ճեղքմամբ:

**Ացետիլ-ՔոԱ-սինթետազ**: Ացետիլ-ՔոԱ-սինթետազ [ացետիլ: ՔոԱ-լիզազ (ԱՄՖ)] ֆերմենտն անջատվել է բյուրեղական վիճակում խմորիչներից, միկրոօրգանիզմներից, լյարդից և այլ աղբյուրներից: Ֆերմենտը կատալիզում է քացախաթթվի փոխարկումը նրա ակտիվ ածանցյալի՝  $\text{CH}_3\text{COSKoA}$ , որը մասնակցում է զանազան միացությունների կենսասինթեզի պրոցեսներին (սխեմա 141):

Ֆերմենտը սպեցիֆիկ է ադենինային նուկլեոտիդների հանդեպ: ՔոԱՏՀ-ի ակցետատորի դերում կարող են ծառայել նաև պրոպիոնաթթուն և ակրիլաթթուն, թեկուզ ֆերմենտը առավելագույն խնամակցություն է ցուցաբերում քացախաթթվի նկատմամբ:

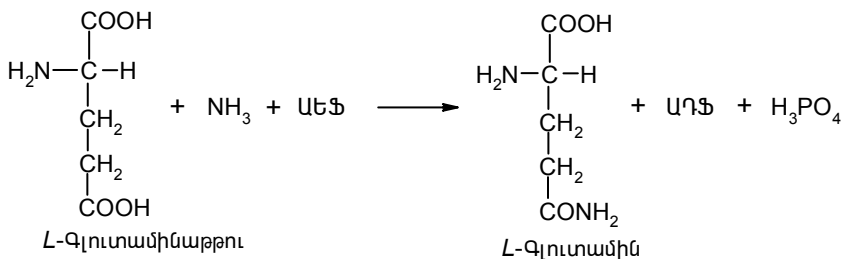
## Սխեմա 141



Ացետիլ-KoA-սինթետազ ֆերմենտների կոֆակտոր է հանդիսանում  $\text{Mg}^{2+}$  իոնը:

**Գլուտամինսինթեզազ:** Գլուտամինսինթետազ [*L*-գլուտամատ:ամոնիակ-լիզազ (ԱԴ-Ֆ)] ֆերմենտը հայտնաբերված է բակտերիաներում, ոչխարների ուղեղում, աղավնիների լյարդում, ինչպես նաև որոշ բույսերում: Ֆերմենտը կատալիզում է գլուտամինաթթվի ամիդացումը (սխեմա 142):

## Սխեմա 142

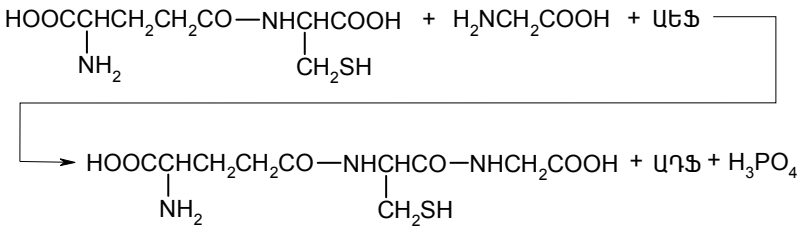


Այն օժտված է բացարձակ սպեցիֆիկությամբ *L*-գլուտամինաթթվի նկատմամբ, իսկ ամոնիակը կարելի է փոխարինել հիդրօքսիլամինով կամ հիդրազինով: Ֆերմենտի ակտիվության արտահայտման համար անհրաժեշտ է  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  կամ  $\text{Co}^{2+}$  իոնների առկայությունը: Ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնը պարունակում է SH խումբ:

**Գլուտապիրոնսինթեզազ:** Գլուտապիրոնսինթետազ [ $\gamma$ -*L*-գլուտամիլ-*L*-ցիստեին:գլիցին-լիզազ (ԱԴ-Ֆ)] ֆերմենտը հայտնաբերվել է ընդդեմում, ծլած ցորենում, աղավնու լյարդում և խմորիչներում:

Գլուտապիրոնսինթետազը կատալիզում է գլուտապիրոնի առաջացումը *L*-գլուտամիլ-*L*-ցիստեինից և գլիցինից (սխեմա 143):

### Սխեմա 143



Բույսերից անջատված ֆերմենտի ակտիվության արտահայտման համար անհրաժեշտ է  $\text{Mg}^{2+}$  իոնների առկայություն, իսկ խմորիչներից անջատված ֆերմենտը լրացուցիչ կարիք ունի նաև  $\text{K}^+$  իոնների: ԱԴՖ-ը և գլուտատիոնը վերականգնված ձևով, ինչպես նաև այն ռեագենտները, որոնք ընդունակ են կապել սուլֆիդրիլային խմբին, արգելակում են գլուտատիոնսինթետազ ֆերմենտի ակտիվությունը:



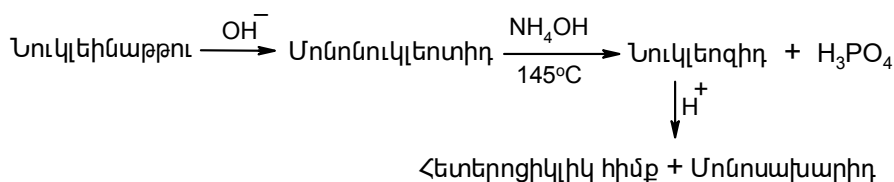
## Գլուխ 9. Նուկլեոպրոտեիններ

Նուկլեոպրոտեինները հանդիսանում են բարդ սպիտակուցների կարևոր ներկայացուցիչները: Նրանք պարունակում են տեղեկատվություն բջջի կառուցվածքի և ֆունկցիաների մասին և ապահովում են ոչ միայն նրա նորմալ գործունեությունը, այլ նաև կրկնությունները: Նուկլեոպրոտեիններում սպիտակուցը կապված է նուկլեինաթթուների հետ: Վերջիններիս անունը ծագել է *nucleus* (կորիզ) բառից, քանի որ նուկլեինաթթուներն առաջին անգամ անջատվել են բջջի կորիզից: Նուկլեինաթթուները (ԴՆԹ և ՌՆԹ) պատասխանատու են բջջում ռիբոսոմների վրա տեղի ունեցող սպիտակուցի մատրիցային սինթեզի համար:

### 9.1. Նուկլեինաթթուներ, կառուցվածքային տարրերը

Նուկլեինաթթուները համարվում են բազմահիմն թթուներ, որոնք հատուկ ֆերմենտների, թթուների, հիմքերի և քիմիական ռեագենտների ազդեցությամբ ճեղքվում են ավելի պարզ բաղադրիչների: Օրինակ՝ մեղմ պայմաններում հիմքով հիդրոլիզի ժամանակ նուկլեինաթթուները ճեղքվում են՝ առաջացնելով մոնոնուկլեոտիդներ, որոնք իրենց հերթին ջրային ամոնիակի լուծույթում մինչև 145°C տաքացման պայմաններում անջատում են ֆոսֆորական թթվի մնացորդ՝ առաջացնելով նուկլեոզիդներ: Իսկ նուկլեոզիդները թթվային հիդրոլիզի արդյունքում առաջացնում են ազոտային հիմքեր (սխեմա 144):

#### Սխեմա 144

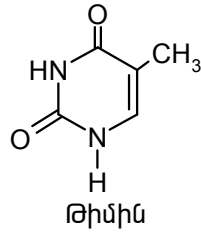
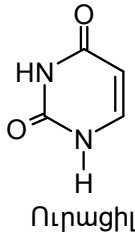
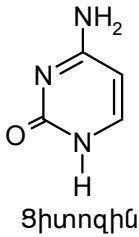


Նուկլեինաթթուների (ԳՆԹ և ՌՆԹ) քայքայման արդյունքում առաջացած հետերոցիկլիկ ազոտային հիմքերը բաժանվում են 2 խմբի՝ պիրիմիդինային և պուրինային:

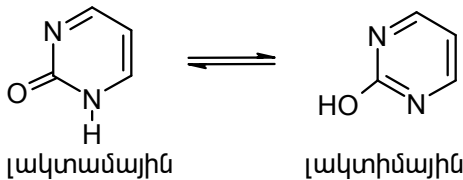
**9.1.1. Հետերոցիկլիկ ազոտային հիմքեր**

**Պիրիմիդինային հիմքեր:** Նուկլեինաթթուների և նուկլեոտիդային կոֆերմենտների կազմում հայտնաբերված են ցիտոզին, ուրացիլ և թիմին պիրիմիդինային հիմքերը:

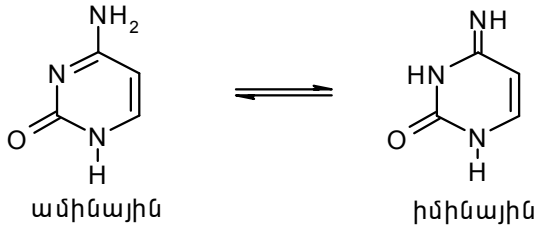
Տարբեր միկրոօրգանիզմների նուկլեինաթթուներից, բացի հիմնական պիրիմիդինային հիմքերից, անջատվել են նաև 5-մեթիլցիտոզին, 5-օքսիմեթիլցիտոզին և այլն:



Քանի որ պիրիմիդինային հիմքերը պարունակում են կրկնակի կապով զուգորդված համակարգ և 2-րդ ու 4-րդ դիրքերում OH և NH<sub>2</sub> տեղակալիչներ, նշանակում է՝ նրանք կարող են հանդես գալ տատուտոմերների տեսքով: Օրինակ՝ 2-օքսիպիրիմիդինը կարող է հանդես գալ ինչպես լակտամային, այնպես էլ լակտիմային ձևերով:

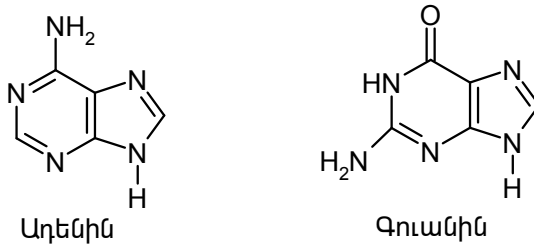


Պիրիմիդինի ամինոածանցյալներին բնորոշ է նաև ամին-իմինային տատուտոմերիան, որը կարելի է ներկայացնել ցիտոզինի ամինո և իմինո ձևերով:

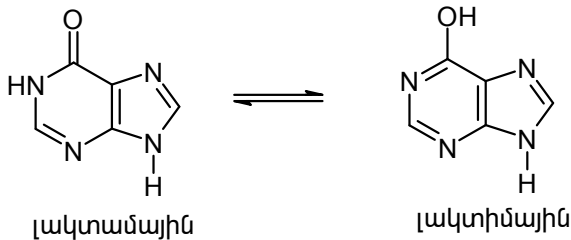


Նշված տաուտոմերային ձևերը բնորոշ են նաև պիրիմիդինային ազոտային հիմքերի սինթետիկ ածանցյալներին:

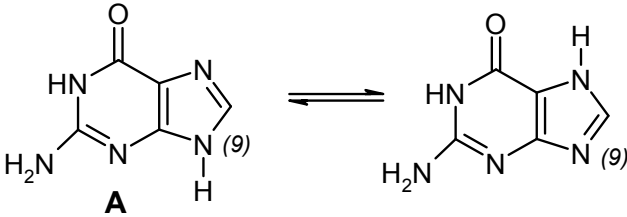
**Պյուրինային հիմքեր:** Նուկլեինաթթուները և նուկլեոպրոտեինները պյուրինային ազոտային հիմքերից հիմնականում պարունակում են ադենին և գուանին: Տարբեր միկրոօրգանիզմներում հայտնաբերված են նաև այլ պյուրինային հիմքեր, օրինակ՝ E.coli-ից անջատված ՌՆԹ-ն պարունակում է 2-մեթիլ-6-ամինոպյուրին, 1-մեթիլկետոպյուրին և այլն:



Ինչպես և պիրիմիդինային հիմքերը, պյուրինային ազոտային հիմքերը նույնպես կարող են հանդես գալ տաուտոմեր ձևերով, օրինակ՝ լակտամ-լակտիմային տաուտոմեր ձևերով.



Բացի դրանից՝ պուրինային ազոտային հիմքերի համար հայտնի է նաև իմիդազոլային օղակում կրկնակի կապի միգրացիայով պայմանավորված տաուտոմերիայի ձև, ինչը հանգեցնում է այդ նույն օղակում ջրածնի ատոմի.

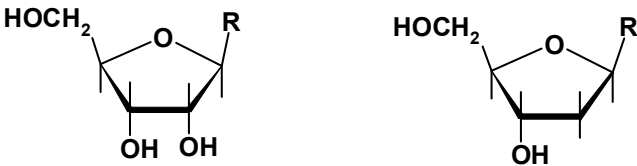


Նուկլեինաթթուների կազմում գուանինը գտնվում է **A** ձևով, քանի որ այդ հիմքի միացումը ածխաջրային մասի հետ իրականացվում է 9-րդ դիրքում գտնվող ազոտի միջոցով:

ԻԿ և ՍՄՄ սպեկտրադիտական հետազոտությունները ցույց են տվել, որ նուկլեինաթթուներում պուրինային հիմքերը հիմնականում գտնվում են լակտամային և ամինային ձևերով, սակայն արտաքին գործոնների ազդեցությամբ (ճառագայթում և այլն) նրանք կարող են փոխարկվել այլ տաուտոմերային ձևերի:

### 9.1.2. Նուկլեոզիդներ

Նուկլեինաթթուներից անջատված նուկլեոզիդներն իրենցից ներկայացնում են N-գլիկոզիդներ: Նուկլեոզիդները, որոնք ածխաջրային մասի դերում պարունակում են *D*-ռիբոզ, կոչվում են ռիբոնուկլեոզիդներ, իսկ որոնք պարունակում են 2-դեօքսի-*D*-ռիբոզ, կոչվում են դեօքսիռիբոնուկլեոզիդներ:



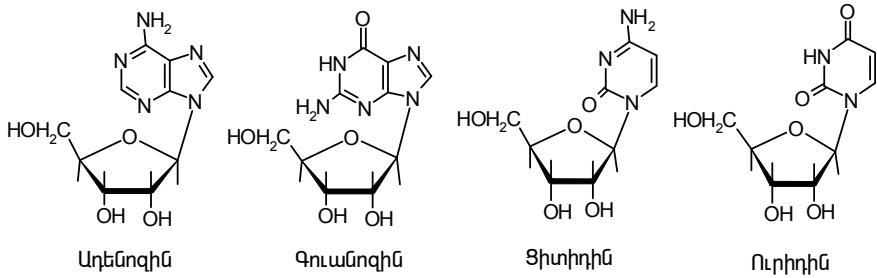
R-ը՝ պուրինային կամ պիրիմիդինային հիմք

Սովորաբար նուկլեոզիդներն անվանվում են՝ ելենլով նրանց կազմի մեջ մտնող հետերոցիկլիկ հիմքի անվանումից.

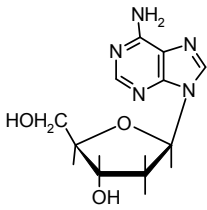
Հիմք	Նուկլեոզիդ	Կարճ անվանումը
Ցիտոզին	Ցիտիդին	<b>C</b>
Ուրացիլ	Ուրիդին	<b>U</b>
Թիմին	Թիմիդին	<b>dT</b>
-//-	Ռիբոթիմիդին	<b>T</b>
Ադենին	Ադենոզին	<b>A</b>
Գուանին	Գուանոզին	<b>G</b>
Հիպոքսանտին	Ինոզին	<b>I</b>
Քսանտին	Քսանտոզին	<b>X</b>

Նուկլեոզիդները ստացվում են ԳՆԹ-ի կամ ՌՆԹ-ի հիդրոլիտիկ ճեղքման ճանապարհով: ՌՆԹ-ն հիդրոլիզվում է մինչև նուկլեոզիդներ ամոնիակի կամ ջրային պիրիդինի ազդեցությամբ: Ջրային պիրիդինը օգտագործվում է նաև մոնոնուկլեոտիդների հիդրոլիզի համար:

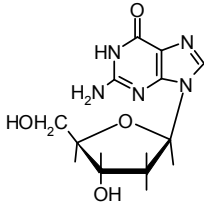
**Նուկլեոզիդների կառուցվածքը:** ՌՆԹ-ի կազմի մեջ մտնում են ադենոզինը, գուանոզինը, ցիտիդինը և ուրիդինը:



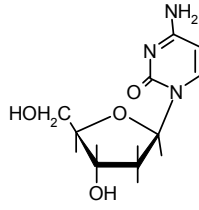
Գեզօքսիադենոզինը, դեզօքսիգուանոզինը, դեզօքսիցիտիդինը և թիմիդինը բնորոշ են կենդանական, բուսական և բակտերիալ ծագման ԳՆԹ-ի համար:



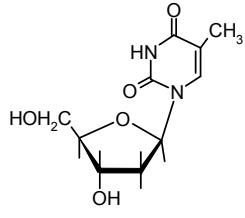
Դեզօքսիադենոզին



Դեզօքսիգուանոզին

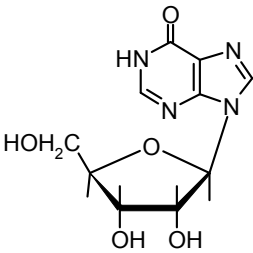


Դեզօքսիցիտիդին

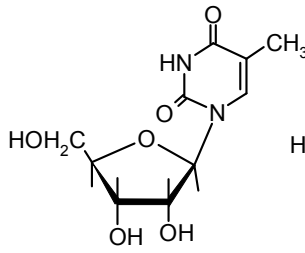


Թիմիդին

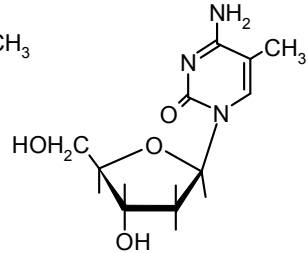
Որոշ կենդանական և բուսական ծագման օրգանիզմներից անջատվել են նաև այսպես կոչված «մինորային» նուկլեոզիդներ, օրինակ՝ ինոզինը, որը պարունակում է ազոտային հիմք հիպոքսանտինը, կամ ռիբոթիմիդինը, որի կազմի մեջ մտնում են ռիբոնուկլեինաթթուների համար ոչ բնորոշ ազոտային հիմք թիմինը, դեզօքսիմեթիլցիտիդինը և այլն:



ինոզին

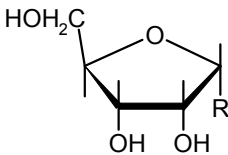


Ռիբոթիմիդին

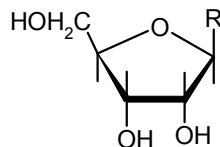


Դեզօքսիմեթիլցիտիդին

**Գլիկոզիդային կապերի կոնֆիգուրացիան:** Տեսականորեն նուկլեոզիդները, ինչպես նաև բոլոր գլիկոզիդները կարող են լինել  $\alpha$ - և  $\beta$ -անոմերների ձևով:



$\alpha$ -գլիկոզիդ



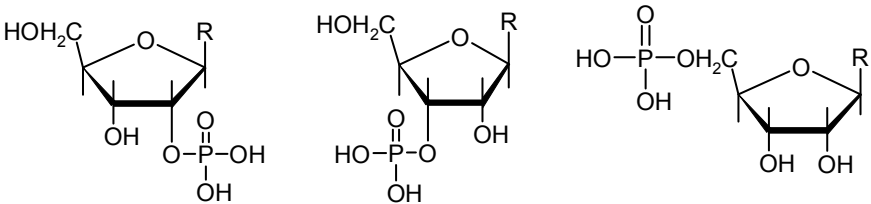
$\beta$ -գլիկոզիդ

Տարբեր հաջորդական քիմիական ռեակցիաների միջոցով հաստատվել է բնական նուկլեոզիդների մոտ  $\beta$ -կոնֆիգուրացիայի առկայությունը: Ռեակցիաների արդյունքները համեմատվել են հայտնի կոնֆիգուրացիայով  $\beta$ -գլյուկոզիլադենինի հետ:

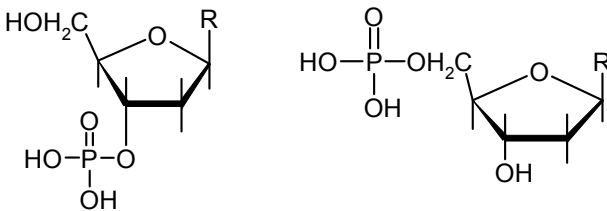
### 9.1.3. Մոնոնուկլեոզիդներ

ԴՆԹ-ի և ՌՆԹ-ի պոլիմերային շղթաները կառուցված են նուկլեոզիդների մոնոֆոսֆորական էսթրներից, որոնք այլ կերպ կոչվում են *մոնոնուկլեոզիդներ*: Դրանք մտնում են մաս նուկլեոտիդային կոֆերմենտների կազմի մեջ: Մոնոնուկլեոտիդների թթվային հիդրոլիզը բերում է հետերոցիկլիկ ազոտային հիմքերի և ածխաջրերի ֆոսֆատների առաջացմանը, ինչը վկայում է այն մասին, որ մոնոնուկլեոտիդների կազմում ֆոսֆորական թթվի մնացորդը միացած է ածխաջրի հետ:

*D*-ռիբոզի նուկլեոզիդների համար հնարավոր են 3 տեսակի մոնոնուկլեոտիդներ՝ 2', 3' և 5'-ֆոսֆատներ:



2-դեօքսի-*D*-ռիբոզի նուկլեոզիդների դեպքում ֆոսֆատների թիվն ավելի քիչ է՝ 3' և 5':



Նուկլեինաթթուներից ստացված հիմնական ֆրագմենտները հանդիսանում են հետևյալ մոնոնուկլեոտիդները.

Գ-ՆԹ-ից ստացված՝ դեզօքսիադենոզին-3' և 5'-ֆոսֆատներ (դեզօքսիադենիլաթթու),  
դեզօքսիգուանոզին-3' և 5'-ֆոսֆատներ (դեզօքսիգուանիլաթթու),  
դեզօքսիցիտիդին-3' և 5'-ֆոսֆատներ (դեզօքսիցիտիլաթթու),  
դեզօքսիթիմիդին-3' և 5'-ֆոսֆատներ (թիմիլաթթու):

Ռ-ՆԹ-ից ստացված՝ ադենոզին-3' և 5'-ֆոսֆատներ (ադենիլաթթու),  
գուանոզին-3' և 5'-ֆոսֆատներ (գուանիլաթթու),  
ցիտիդին-3' և 5'-ֆոսֆատներ (ցիտիլաթթու),  
ուրիդին-3' և 5'-ֆոսֆատներ (ուրիլաթթու):

Տարբեր դիրքում ֆոսֆատային խումբ պարունակող մոնոնուկլեոտիդները ստացվում են նուկլեինաթթուների քիմիական և ֆերմենտային հիդրոլիզի մեթոդներով:

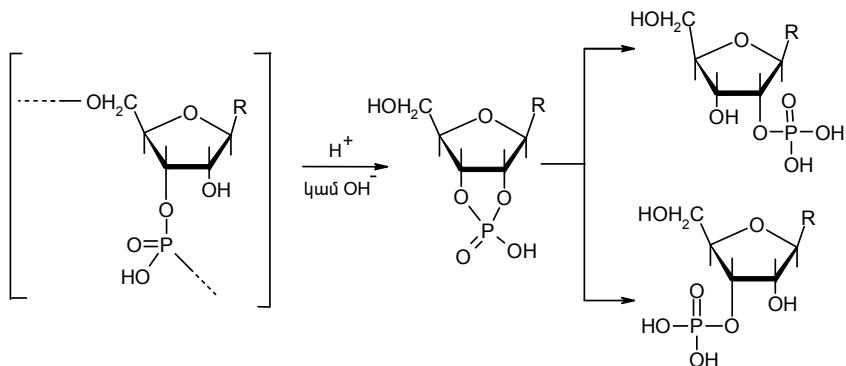
Թթուների և հիմքերի ազդեցությամբ Ռ-ՆԹ-ն ճեղքվում է՝ առաջացնելով նուկլեոզիդ-2'-ֆոսֆատների և նուկլեոզիդ-3'-ֆոսֆատների խառնուրդ (սխեմա 145):

Հիդրոլիզը տեղի է ունենում ցիկլիկ ֆոսֆատների առաջացմամբ, այն կատալիզվում է  $H^+$  և  $OH^-$  իոնների ազդեցությամբ: Այնուհետև ցիկլիկ ֆոսֆատները ճեղքվում են՝ առաջացնելով 2'- և 3'-ֆոսֆատների խառնուրդ, որոնք կարելի է իրարից բաժանել իոնափոխանակային խեժերի միջոցով:

Պիրիմիդինային խմբի դեզօքսինուկլեոտիդները ստացվում են քիմիական և ֆերմենտային հիդրոլիզի ճանապարհով, իսկ պուրինային դեզօքսինուկլեոտիդները՝ միայն ֆերմենտային հիդրոլիզի միջոցով:

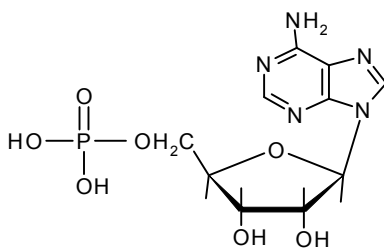


## Սխեմա 145



ԴՆԹ-ն կայուն է հիմքերի նկատմամբ: Թթուների ազդեցությամբ ԴՆԹ-ն բերում է պիրիմիդինային նուկլեոզիդ-3' և 5'-դիֆոսֆատների առաջացմանը: Ընդ որում՝ կախված ֆերմենտի բնույթից՝ կարող են առաջանալ տարբեր մոնոնուկլեոտիդներ: Օրինակ՝ ՌՆԹ պանկրեատիկ ռիբոնուկլեազը կամ օձի թույնի դիէսթերազը տալիս է նուկլեոզիդ-5'-ֆոսֆատ, իսկ ենթաստամոքսային գեղձի ռիբոնուկլեազի ազդեցությամբ առաջանում է նուկլեոզիդ-3'-ֆոսֆատ:

Անհրաժեշտ է նշել, որ *D*-ռիբոզի նուկլեոտիդներից ազատ վիճակում հանդիպում է միայն 5'-ֆոսֆատը, օրինակ՝ կենդանիների մկանային հյուսվածքներից անջատվել է ադենոզին-5'-ֆոսֆատ:

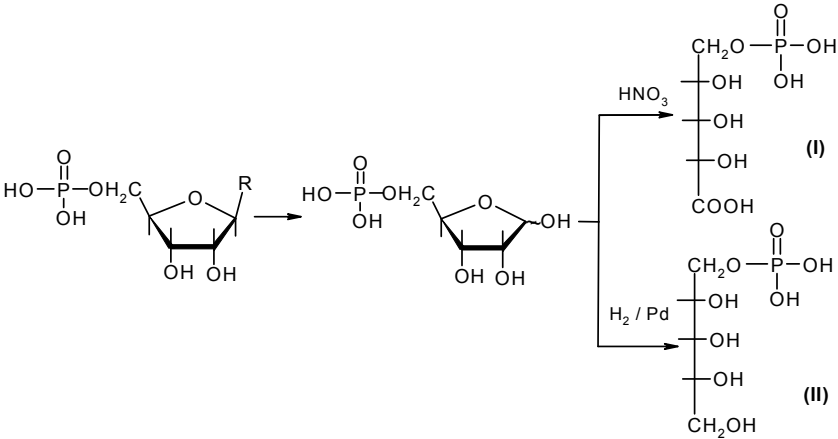


Ադենոզին-5'-ֆոսֆատ

**Մոնոնուկլեոտիդների կառուցվածքը:** Նուկլեոտիդների կառուցվածքի պարզաբանումը բերում է ֆոսֆորական թթվի մնացորդի նուկլեոզիդին միացման տեղի որոշմանը: Այդ նպատակով քիմիական մե-

թողներից օգտագործում են աստիճանական օքսիդացումը: Ինչպես հայտնի է, օքսիդացման կարող են ենթարկվել միայն 5'-ֆոսֆատները՝ պահպանելով *ghu-α*-դիոլային խումբը: Օգտագործում են նաև նուկլեոտիդների հիդրոլիզի արդյունքում առաջացած ռիբոզի ֆոսֆատների օքսիդացումը ազոտական թթվով և կատալիտիկ վերականգնումը: Օրինակ՝ նուկլեոզիդ-5'-ֆոսֆատի դեպքում նրա հիդրոլիզի արգասիքի օքսիդացումն առաջացնում է միահիմն թթվի 5'-ֆոսֆատ (I), իսկ վերականգնումը՝ առաջնային սպիրտի ֆոսֆատ (II) (սխեմա 146):

**Սխեմա 146**



Նման սխեմայով նուկլեոզիդների 2'- և 3'-ֆոսֆատներից առաջանում են համապատասխանաբար դիկարբոնաթթուների և երկրորդային սպիրտների ֆոսֆատներ: Որպեսզի բացառվի ֆոսֆորական խմբի միգրացումը  $\text{C}_2'$  և  $\text{C}_3'$  ատոմների միջև, նուկլեոտիդների հիդրոլիզն իրականացվում է սուլֆոթթվային խեժերի միջոցով, որոնց վրա ֆոսֆորական խմբի միգրացիա տեղի չի ունենում, և առաջացած ռիբոզի ֆոսֆատն իր կառուցվածքով համապատասխանում է ելային կառուցվածքին:

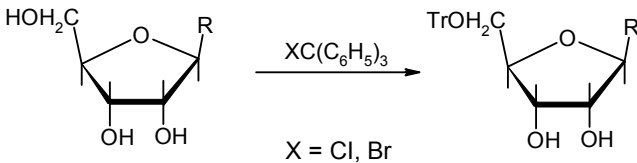
Ներկայումս նուկլեոտիդների կառուցվածքի որոշման համար հիմնականում օգտագործում են ֆերմենտներ, որոնք նախընտրաբար հիդրոլիզում են 2'-, 3'- և 5'- ֆոսֆատային կապերը: Օրինակ՝

օձի թույնի 5'-նուկլեոտիդազ ֆերմենտն օժտված է բացառապես 5'-ֆոսֆատներին հիդրոլիզելու հատկությամբ՝ առանց փոխազդելու 2'- և 3'- ֆոսֆատային կապերի հետ: Ֆերմենտային մեթոդով կարելի է տարբերել նաև 2'- և 3'- ֆոսֆատները և նախընտրաբար հիդրոլիզել դրանցից որևէ մեկը:

**Մոնոնուկլեոտիդների սինթեզը:** Նուկլեոտիդները սովորաբար սինթեզվում են նուկլեոզիդների ուղղորդված ֆոսֆորիլացմամբ: Որոշ նուկլեոտիդներ ստացվում են մոնոսախարիդի ֆոսֆատի հետ ազոտային հիմքերի անմիջական կոնդենսմամբ: Այդ դեպքում ֆոսֆորիլացման ռեակցիայի իրականացման հիմնական դժվարությունը կապված է մեղմ ֆոսֆորիլացնող ազեոտների ընտրության, ինչպես նաև հիդրօքսիլ խմբերի ընտրողական պաշտպանման հետ: Չնայած առաջնային OH խումբն ավելի ռեակցիոնունակ է մյուս OH խմբերից, հնարավոր չէ առանց մնացած OH խմբերի պաշտպանման նրան ընտրողաբար ֆոսֆորիլացնել:

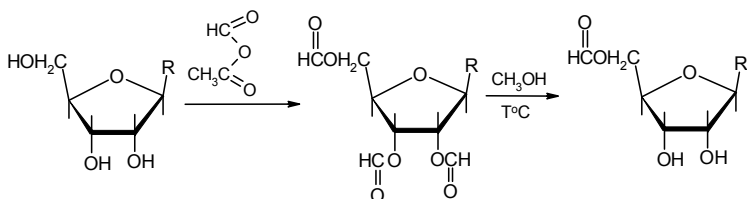
**C<sub>5</sub>'-OH խմբի ընտրողական պաշտպանումը:** C<sub>5</sub>'-ի մոտ գտնվող առաջնային հիդրօքսիլային խմբի բարձր ռեակցիոնունակությունը հնարավորություն է տալիս իրականացնելու նրա ընտրողական պաշտպանումը՝ նուկլեոզիդը տրիֆենիլլորմեթանով կամ տրիֆենիլլորմեթանով մշակելով: Պաշտպանող խումբը հեռացվում է կատալիտիկ վերականգնման ճանապարհով (սխեմա 147):

**Սխեմա 147**



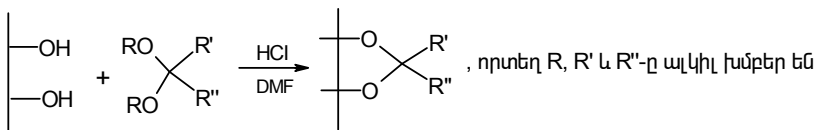
5'-պաշտպանված ռիբոնուկլեոզիդներ ստանալու համար առաջարկվել են նաև O-ֆորմիլային ածանցյալները, որոնք հեշտությամբ ստացվում են նուկլեոզիդը մրջնաթթվի և քացախաթթվի խառը անհիդրիդով մշակելու արդյունքում (սխեմա 148):

### Սխեմա 148



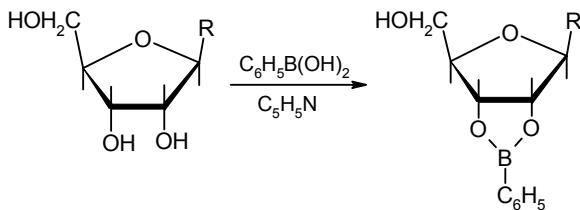
***C*<sub>2</sub>'-և *C*<sub>3</sub>'-OH խմբերի պաշտպանումը:** *C*<sub>2</sub>' և *C*<sub>3</sub>' ատոմների *ghu*- $\alpha$ -դիոլային խմբերի պաշտպանման ընդհանուր մեթոդները հիմնված են 2',3'-*O*-ակիլիլդենային ածանցյալների առաջացման վրա: Ռիբոնուկլեոզիդների 2',3'-*O*-ակիլիլդենային ածանցյալների ստացման ավելի տարածված մեթոդ է դիմեթիլֆորմամիդի միջավայրում *HCl*-ի ներկայությամբ նրանց և սցետալների կամ կետալների փոխազդեցությունը (սխեմա 149):

### Սխեմա 149



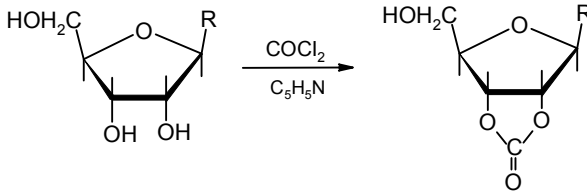
Այս եղանակով ռիբոնուկլեոզիդների մոլեկուլի մեջ են մտցվել տարբեր ակիլիլդենային խմբավորումներ, օրինակ՝ ցիկլոհեքսիլիդենային, ցիկլոպենտիլիդենային, իզոպրոպիլիդենային և այլն: Օգտագործվում են նաև նուկլեոզիդների 2',3'-ֆենիլլորային էսթրները, որոնք ստացվում են պիրիդինի միջավայրում ռիբոնուկլեոզիդների և ֆենիլլորաթթվի փոխազդեցությամբ (սխեմա 150):

### Սխեմա 150



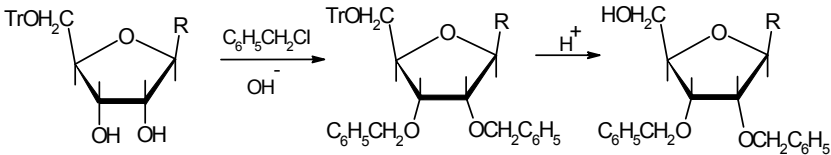
Առաջացած ֆենիլբորային էսթերի հիդրոլիզից ստացվում է ելա-  
 յին նուկլեոզիդը: Այդ նպատակի համար օգտագործվում է նաև պի-  
 րիդինի միջավայրում նուկլեոզիդի ռեակցիան ֆոսգենի հետ, որը հեշ-  
 տությամբ հեռացվում է հիմնային հիդրոլիզով (սխեմա 151):

**Սխեմա 151**



C<sub>2</sub>' և C<sub>3</sub>' հիդրօքսիլային խմբերի պաշտպանման համար օգտա-  
 գործվում են նաև 2',3'-դիբենզիլային ածանցյալներ: Դրա համար  
 հիմքի ներկայությամբ 5'-տրիտիլնուկլեոզիդները մշակում են բեն-  
 զիլքլորիդով՝ տրիտիլային խմբի հետագա հեռացմամբ թթվային հիդ-  
 րոլիզով (սխեմա 152):

**Սխեմա 152**

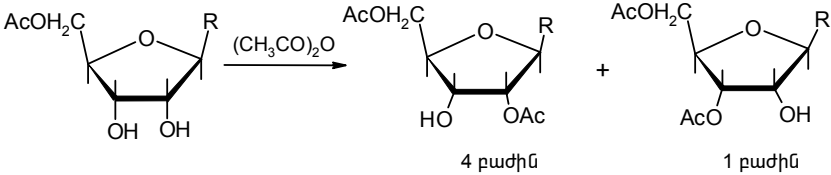


**Երկրորդային հիդրօքսիլային խմբերի ընտրողական պաշտ-  
 պանումը:** 2'-դեգոքսիոնոնուկլեոզիդների դեպքում C<sub>3</sub>' հիդրօքսիլա-  
 յին խմբի պաշտպանումն իրականացվում է նուկլեոզիդների 5'-տրի-  
 տիլային ածանցյալների ագետիլացմամբ, բենզիլացմամբ և բենզոիլ-  
 լացմամբ:

C<sub>2</sub>' և C<sub>3</sub>' հիդրօքսիլային խմբերի ընտրողական պաշտպանման  
 ժամանակ առկա դժվարությունները պայմանավորված են նրանց  
 քիմիական հատկությունների մասնությամբ: Սակայն 5'-ագետիլ-  
 նուկլեոզիդի 3'- և 2'-OH խմբերի ռեակցիոնունակության տարբե-

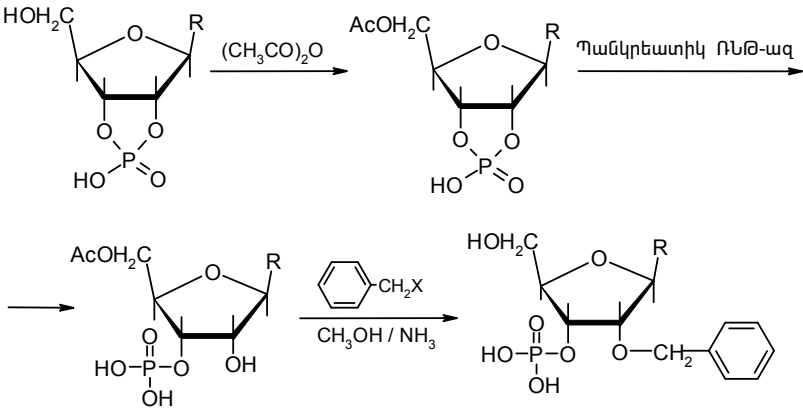
րության օգտագործմամբ հնարավոր է դարձել 1:4 հարաբերությամբ ստանալ 2',5'- և 3',5'-դիացետիլային ածանցյալներ, որոնք հնարավոր է իրարից բաժանել քրոմատոգրաֆիական մեթոդով (սխեմա 153):

**Սխեմա 153**



C<sub>2</sub>'-հիդրօքսիլային խմբի ընտրողական պաշտպանումն իրականացվել է նաև քիմիական և ֆերմենտային մեթոդների համակցմամբ (սխեմա 154):

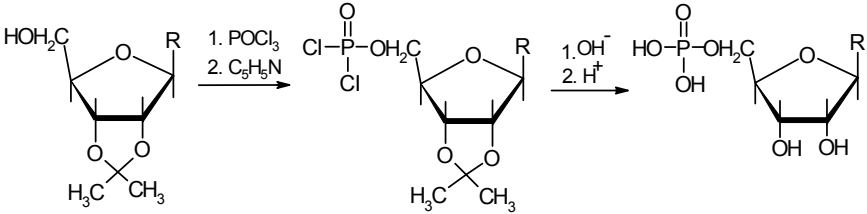
**Սխեմա 154**



**Ֆոսֆորիլացում:** Ֆոսֆորիլացման համար օգտագործում են ֆոսֆորական թթվի տարբեր ածանցյալներ: Ֆոսֆորիլացնող ազեանները պետք է բավարարեն որոշակի պահանջների, դրանք պետք է լինեն կայուն, ակտիվ և ընտրողական, որպեսզի սինթեզն ընթանա համեմատաբար մեղմ պայմաններում, առանց նուկլեոզի մոլեկուլի դեգրադացման:

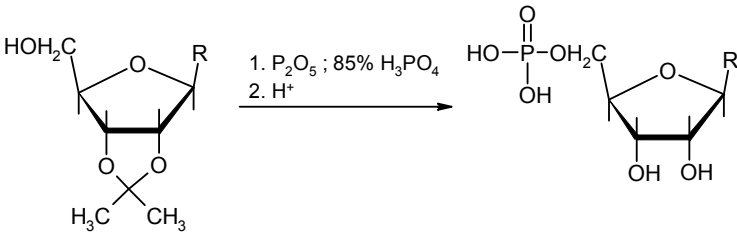
**1. Ֆոսֆորիլացում հալոիդ ֆոսֆատներով:** Ամենահին մեթոդներից է, համաձայն որի՝ պաշտպանված նուկլեոզիդը մշակվում է ֆոսֆորի օքսիքլորիդով ( $\text{POCl}_3$ ) (սխեմա 155):

**Սխեմա 155**



**2. Ֆոսֆորիլացում ֆոսֆորական թթվի անհիդրիդով:** Որպես ֆոսֆորիլացնող ազեոն՝ օգտագործվում է  $\text{P}_2\text{O}_5$  և  $\text{H}_3\text{PO}_4$  խառնուրդը, օրինակ՝ 2',3'-իզոպրոպիլիդենցիտիդինը 85%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ -ի և  $\text{P}_2\text{O}_5$ -ի խառնուրդով մշակելու արդյունքում առաջանում է ցիտիդին-5'-ֆոսֆատ (սխեմա 156):

**Սխեմա 156**

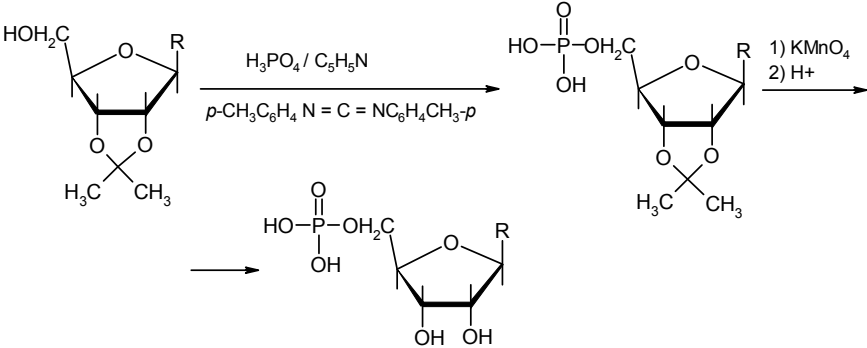


Այս մեթոդով ստացվել են բազմաթիվ պիրիմիդինային նուկլեոզիդ-5'-ֆոսֆատներ: Հայտնի է նաև ֆոսֆորիլացման մեթոդ ուղղակի ֆոսֆորական թթվի օգտագործմամբ՝ առանց անհիդրիդի: Այս դեպքում հնարավոր է իրականացնել ֆոսֆորիլացում դի-ք-տոլուոլիկարբոզիմիդի ներկայությամբ (սխեմա 157):

Այս ռեակցիան հազվագյուտ է օգտագործվում, քանի որ որպես կողմնակի արգասիքներ՝ առաջանում են դի- և տրիֆոսֆատներ,

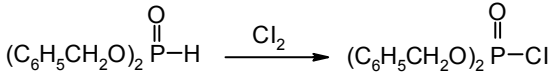
որոնց խառնուրդից հիմնական նուկլեոտիդի անջատումը կապված է դժվարությունների հետ:

**Սխեմա 157**



Ներկայումս ավելի հաճախ օգտագործվում է նուկլեոտիդների քիմիայում առաջին անգամ Տոդի կողմից օգտագործված դիբենզոլիլլոբոֆոսֆատը, որը ստացվում է ցածր ջերմաստիճանի տակ  $PbCO_3$  կատալիզատորի ներկայությամբ դիբենզոլիլլոբոֆոսֆատի քլորացմամբ (սխեմա 158):

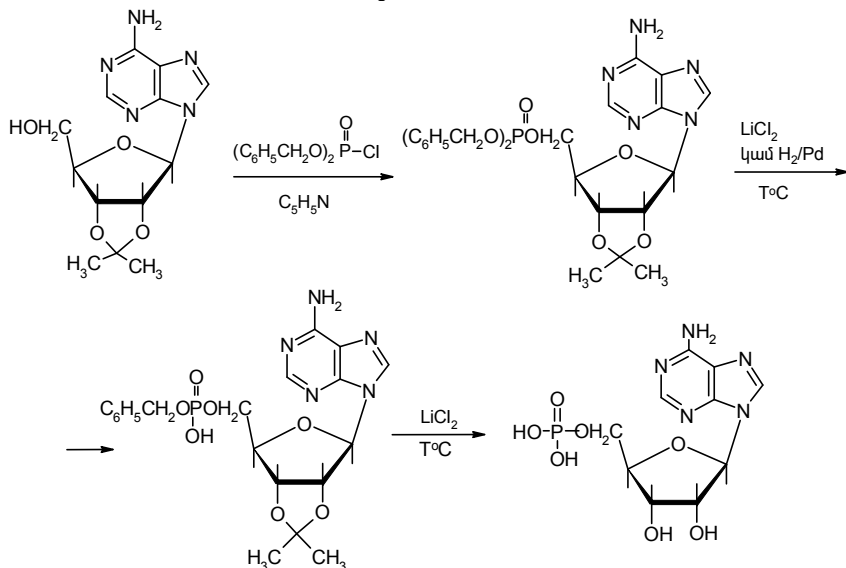
**Սխեմա 158**



Առաջացած դիբենզոլիլլոբոֆոսֆատն օգտագործվել է ադենոզին-5'-ֆոսֆատի սինթեզի համար: Ռեակցիան ընթանում է մի քանի փուլով: Նախ առաջանում է դիբենզոլիլտեղակալված ադենոզին-5'-ֆոսֆատ, որն այնուհետև տաքացման պայմաններում  $LiCl_2$ -ի ազդեցությամբ կամ կատալիտիկ հիդրոման ճանապարհով ( $H_2/Pd$ ) վերականգնվում է մինչև մոնոբենզոլիլտեղակալված ադենոզին-5'-ֆոսֆատի: Վերջին փուլում մոնոբենզոլիլտեղակալված ածանցյալը տաքացման պայմաններում  $LiCl_2$ -ի ազդեցությամբ տրանսֆորմացվում է ադենոզին-5'-ֆոսֆատի (սխեմա 159):

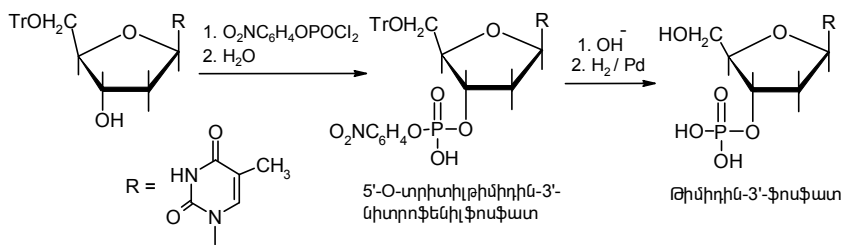


## Սխեմա 159



Իսկ դեգոքսիմոնոսկլեոտիդի 3'-դիրքում ֆոսֆորիլացման համար, որպես ֆոսֆորիլացնող ագենտ, օգտագործում են p-նիտրոֆենիլիդիլըր-ֆոսֆատ, օրինակ՝ թիմիդին-3'-ֆոսֆատի ստացման համար (սխեմա 160):

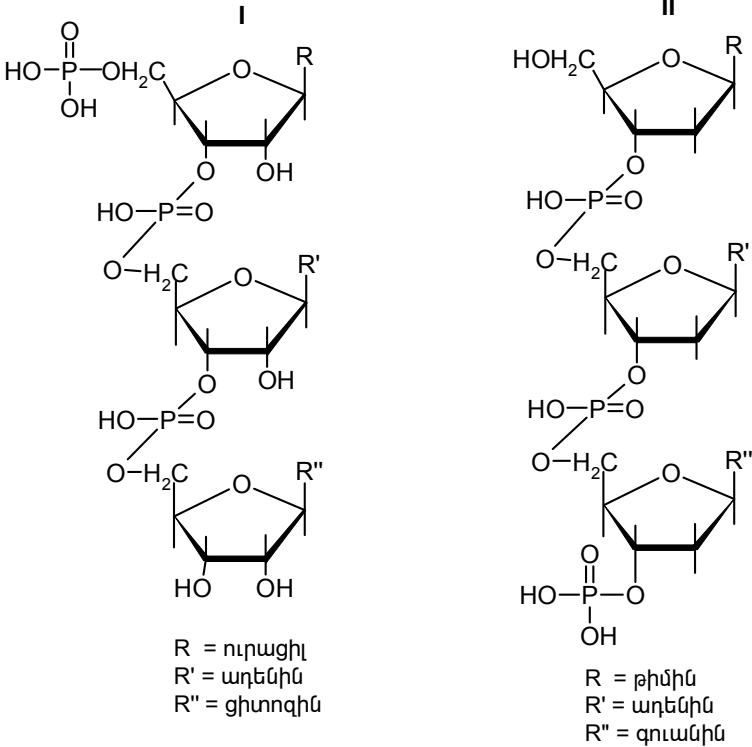
## Սխեմա 160



### 9.1.4. Պոլինուկլեոտիդներ

Պոլինուկլեոտիդներն իրենցից ներկայացնում են մոնոսկլեոտիդային միավորների շարքից կազմված բարձրամոլեկուլային միացություններ: Համաձայն ընդունված անվանակարգության՝ պոլի-

նուկլեոտիդային շղթան բնութագրվում է մոնոնուկլեոտիդների որոշակի հաջորդականությամբ, որտեղ ցանկացած նախորդ մոնոմեր կապված է հաջորդի հետ ֆոսֆոէսթերային կապով: Ստորև ներկայացված են երկու տրինուկլեոտիդներ (I և II):



Դրանք կարելի է անվանել հետևյալ ձևով. I-ը՝ ցիտիդիլիլ-(5'→3')-ադենիլիլ-(5'→3')-ուրիդիլաթթու կամ ցիտիդիլիլ-(5'→3')-ադենիլիլ-(5'→3')-ուրիդին-5'-ֆոսֆատ կամ 5'-O-ֆոսֆորուրիդիլիլ-(3'→5')-ադենիլիլ-(3'→5')-ցիտիդին, իսկ II-ը՝ թիմիդիլիլ-(3'→5')-դեզօքսիադենիլիլ-(3'→5')-դեզօքսիգուանիլաթթու կամ թիմիդիլիլ-(3'→5')-դեզօքսիադենիլիլ-(3'→5')-դեզօքսիգուանիլին-3'-ֆոսֆատ կամ 3'-O-ֆոսֆոդեզօքսիգուանիլիլ-(5'→3')-դեզօքսիադենիլիլ-(5'→3')-թիմիդին:

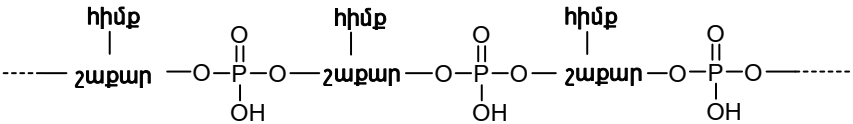
Քանի որ նուկլեոզիդների համար ընդունված են կարճ հապավումները՝ A (ադենոզին), T (ռիբոթիմիդին), dT (թիմիդին), G (գուանոզին), C (ցիտիդին), U (ուրիդին), I (ինոզին), Ψ (լեյծ ուրիդին կամ պսևդուրիդին), ապա պոլիմուկլեոտիդային շղթան հաճախ ներկայացվում է տառերով: Ընդ որում՝ եթե «P» տառը նուկլեոտիդի սինվոլից ձախ է դրված, դա բնութագրում է 5'-ֆոսֆոմոնոէսթերային խումբը, իսկ եթե «P» տառը այդ դիրքում է՝ 3'-ֆոսֆոմոնոէսթերային խումբը: Չախից այնպես դեպքում պոլիմուկլեոտիդային շղթայի ուղղությունը նշանակվում է  $C_3' \rightarrow C_5'$ : Պոլիդեզօքսիռիբոնուկլեոտիդների դեպքում բոլոր հապավումներից առաջ գրվում է «d» սինվոլը: Այսպիսով՝ I և II օլիգոնուկլեոտիդները կարճ կարելի է ներկայացնել հետևյալ ձևով՝ I-ը՝ pUpApC, II-ը՝ d(TpApGp):

**9.1.4.1. Պոլիմուկլեոտիդների կառուցվածքը**

Նուկլեինաթթուների մակրոմոլեկուլային կառուցվածքը և կենսաբանական հատկությունները որոշվում են նրանց քիմիական բաղադրությամբ, այսինքն՝ առկա մոնոնուկլեոտիդների հարաբերակցությամբ և շղթայում նրանց բաշխման հաջորդականությամբ: Նուկլեինաթթուների կառուցվածքի հետազոտման առաջին փուլը նրանց նուկլեոտիդային կազմի և բաղադրության որոշումն է: Դրա համար մախ իրականացվում է նուկլեինաթթուների հիդրոլիզը մինչև մոնոնուկլեոտիդներ (կամ ազոտային հիմքեր), այնուհետև հիդրոլիզատից անջատում են առանձին նուկլեոտիդները քրոմատոգրաֆիական եղանակով (թղթային, իոնափոխանակային կամ էլեկտրաֆորեզ) և որոշում նրանց իսկությունը և քանակությունը որևէ հայտնի մեթոդով: Ռ-ՆԹ-ի նուկլեոտիդային կազմի որոշման համար օգտագործվում է մեղմ հիմնային հիդրոլիզի տարբերակը, և առաջացած հիդրոլիզատը անալիզվում է սպեկտրալուսաչափական եղանակով:

Դ-ՆԹ-ի շղթայի ճեղքման համար բացառապես օգտագործվում է թթվային հիդրոլիզի եղանակը, որը բերում է ազոտային հիմքերի խառնուրդի առաջացման, որոնք բաժանվում և նույնականացվում են սովորական մեթոդներով:

**Միջնուկլեոտիդային կապերի տեսակները:** Համաձայն էլեկտրաչափական տիտրման տվյալների՝ ԴՆԹ-ում կամ ՌՆԹ-ում միջնուկլեոտիդային կապերի հիմնական տեսակը հանդիսանում են ֆոսֆոդիտերային կապերը: Հետևաբար, բնական նուկլեինաթթուների հիմնական առաջնային կառուցվածքը կարելի է ներկայացնել հետևյալ կերպ.



Ֆոսֆորական թթվի և շաքարի միջև առաջացած կապերի բնույթը, այսինքն՝ ԴՆԹ-ում և ՌՆԹ-ում միջնուկլեոտիդային կապերը որոշելու համար օգտագործվում են ֆերմենտային հիդրոլիզի մեթոդները: ԴՆԹ-ի դեպքում տեսականորեն հնարավոր են 3'-5', 3'-3' և 5'-5' տեսակի կապեր, սակայն իրականում բնական ԴՆԹ-ում 3'-3' և 5'-5' բնույթի կապեր չեն հայտնաբերվել: Դեզօքսիռիբոնուկլեազ ֆերմենտի ազդեցությամբ ԴՆԹ-ն ճեղքվում է՝ առաջացնելով մի շարք օլիգոնուկլեոտիդներ, որոնք, յուրահաստուկ ֆոսֆոդիտերազներով, օրինակ՝ օձի թույնի ֆոսֆոդիտերազով ազդելով, առաջացնում են բացառապես դեզօքսինուկլեոտիդ-5'-ֆոսֆատ, իսկ փայծաղի ֆոսֆոդիտերազի ազդեցությամբ առաջանում է դեզօքսինուկլեոտիդ-3'-ֆոսֆատ: Լրացուցիչ ապացույցը, որ ԴՆԹ-ն պարունակում է 3'-5' տեսակի կապ, համարվում է պանկրեատիկ ԴՆԹ-ազ ֆերմենտի ազդեցությամբ ԴՆԹ-ի հիդրոլիզատում հայտնաբերված 3'-5' դինուկլեոտիդը:

ՌՆԹ-ի պոլինուկլեոտիդային շղթան հիմքով հիդրոլիզելու ժամանակ ՌՆԹ-ն քայքայվում է՝ առաջացնելով 2'- և 3'-նուկլեոզիդ-ֆոսֆատներ: ՌՆԹ-ի այդ հատկությունը պայմանավորված է նրա կազմում C<sub>2</sub> հիդրօքսիլային խմբի առկայությամբ, որը հիմքի ներկայությամբ հեշտությամբ փոխազդում է հարևան ամխածնի ատոմի ֆոսֆատային մնացորդի հետ՝ առաջացնելով ցիկլիկ ֆոսֆատ: Ցիկլիկ ֆոսֆատի հետագա ճեղքումը հանգեցնում է 2'- և 3'-ֆոսֆատներ:

րի խառնուրդի առաջացմանը: Դա վերջնականորեն ապացուցվել է ՌՆԹ-ի հիդրոլիզատից միջանկյալ ցիկլիկ ֆոսֆատի անջատմամբ և նրա կառուցվածքի պարզաբանմամբ:

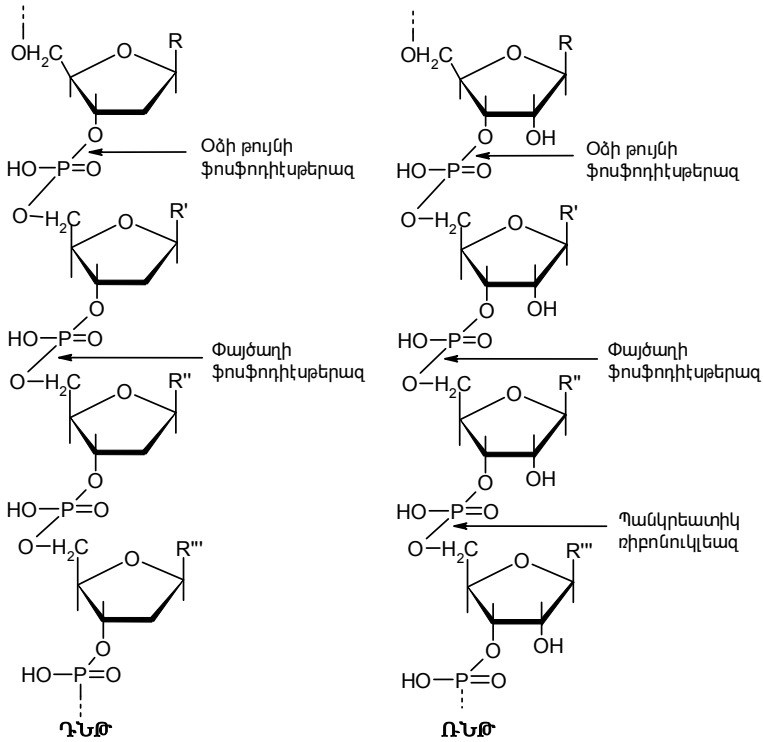
Այսպիսով՝ փորձնական տվյալների հիման վրա հաստատվել է, որ ՌՆԹ-ում մոնոնուկլեոտիդները իրար կապված են 2'-5' կամ 3'-5' ֆոսֆոդիէսթերային կապերով:

Ֆերմենտների միջոցով ՌՆԹ-ի ճեղքման հետագա հետազոտությունները ցույց են տվել, որ պոլինուկլեոտիդային շղթայի կառուցվածքը հիմնված է 3'-5' կապի վրա: Օրինակ՝ *պանկրեատիկ ռիբոնուկլեազը* (ՌՆԹ-ազը) խնամակցություն է ցուցաբերում պոլինուկլեոտիդային շղթայի պիրիմիդինային նուկլեոզիդների՝ ուրիդինի և ցիտիդինի նկատմամբ և կատալիզում է այդ նուկլեոզիդներում  $C_5'$  թթվածնի և ֆոսֆորի միջև կապի ճեղքումը՝ առաջացնելով պիրիմիդինային նուկլեոզիդ-3'-ֆոսֆատներ և պուրինային օլիգոնուկլեոտիդներ, որոնցից յուրաքանչյուրը վերջանում է պիրիմիդինային նուկլեոզիդ-3'-ֆոսֆատով:

*Փայծաղի ֆոսֆոդիէսթերազը* նման ձևով ճեղքում է ՌՆԹ-ն մինչև 3'-մոնոնուկլեոտիդների, սակայն, ի տարբերություն պանկրեատիկ ՌՆԹ-ազի, առանձնահատուկ սպեցիֆիկություն չի ցուցաբերում պուրինային կամ պիրիմիդինային միջնուկլեոտիդային կապերի նկատմամբ, այսինքն՝ տարբերություն չի դնում պուրինային և պիրիմիդինային նուկլեոտիդների միջև:

*Օձի թույնի ֆոսֆոդիէսթերազն* ազդում է ՌՆԹ-ի մոլեկուլի վրա  $C_3'$  թթվածնի և ֆոսֆորի կապի հատվածում՝ անջատելով բացառապես ռիբոնուկլեոզիդ-5'-ֆոսֆատ: Հետևաբար, ՌՆԹ-ի պոլիմերային շղթան պարունակում է ֆոսֆոդիէսթերային կապեր, որոնք կապում են մի նուկլեոտիդի  $C_3'$ -ը հարևան նուկլեոտիդի  $C_5'$ -ի հետ:

Բերված տվյալների հիման վրա ԴՆԹ-ի և ՌՆԹ-ի պոլիմերային շղթաների կառուցվածքները կարելի է ներկայացնել հետևյալ ձևով.



**Նուկլեոտիդների հաջորդականությունը:** ԳՆԹ-ում և ՌՆԹ-ում մոնոնուկլեոտիդները բաշխվում են որոշակի հաջորդականությամբ, որը պայմանավորում է տվյալ պոլիմերների ֆիզիկաքիմիական և կենսաբանական հատկությունները: Հաջորդականությունը որոշում են շղթայից մոնոնուկլեոտիդային մնացորդների աստիճանաբար պոկմամբ և նույնականացմամբ: Դեղքումն իրականացնում են ինչպես քիմիական, այնպես էլ էնզիմատիկ մեթոդներով՝ օգտագործելով հիմնականում երկու մոտեցում. 1) ծայրային նուկլեոտիդային մնացորդներն աստիճանաբար պոկում են և նույնականացնում, 2) ԳՆԹ-ազ և ՌՆԹ-ազ ֆերմենտների օգնությամբ պոլիմուկլեոտիդների շղթան մասնակի հիդրոլիզում են մինչև օլիգոնուկլեոտիդների, որոնք այնուհետև անջատվում և նույնականացվում են հայտնի մեթոդներով:

## 9.2. Գեոօրսիոիբոնուկլեինաթթուներ (ԳՆԹ)

ԳՆԹ-ն իրենից ներկայացնում է կենսապոլիմեր, որի մոլեկուլային զանգվածը վերջնականապես պարզված չէ, քանի որ ԳՆԹ-ի անջատման պրոցեսում հնարավոր է նրա մոլեկուլային զանգվածի փոքրացում ԳՆԹ-ազ ֆերմենտների ազդեցությամբ մոլեկուլի ճեղքման պատճառով, ինչպես նաև հիդրոլիզմամիկ տեղաշարժերի ուժերի ազդեցության հետևանքով: Տարբեր օրգանիզմներում ԳՆԹ-ի մոլեկուլային զանգվածը տարբեր է և տատանվում է բավականին լայն տիրույթում, օրինակ՝ T2 ֆագերից ստացած ԳՆԹ-ի մոլեկուլային զանգվածը հավասար է  $12 \cdot 10^7$ , իսկ E.coli-ից ստացած ԳՆԹ-ի մոլեկուլային զանգվածը՝  $2,8 \cdot 10^8$ :

Ցանկացած բջջում կան մեծ թվով ԳՆԹ-ի մոլեկուլներ, որոնք իրարից տարբերվում են նուկլեոտիդային կազմով և գենետիկական հատկություններով: Տարբեր օրգանիզմներից անջատված ԳՆԹ-ներն իրարից տարբերվում են հետերոցիկլիկ ազոտային հիմքերի բացարձակ և համեմատական պարունակությամբ, այսինքն՝ տարբերվում են գումարային նուկլեոտիդային կազմով: Չարգաֆը ցույց է տվել, որ ԳՆԹ-ների գումարային նուկլեոտիդային կազմի վերաբերյալ կան որոշակի ընդհանուր օրինաչափություններ: Նուկլեոտիդների միջև այդ քանակական կապը ձևակերպվել է որպես Չարգաֆի կանոն, որի դրույթները հետևյալն են.

- ադենինի և թիմինի մոլային հարաբերակցությունը ԳՆԹ-ում հավասար է 1-ի,
- գուանինի և ցիտոզինի մոլային հարաբերակցությունը հավասար է 1-ի,
- պուրինային նուկլեոտիդների գումարը (A+G) հավասար է պիրիմիդինային նուկլեոտիդների գումարին (C + T),
- ԳՆԹ-ի շղթայում 4-րդ դիրքում  $\text{NH}_2$  խմբերի թիվը (ադենիլային և ցիտիդիլային թթուներ) հավասար է նույն դիրքում կետո խմբերի թվին (գուանիլային և թիմիդիլային թթուներ):

Անհրաժեշտ է նշել, որ մի տեսակի ԴՆԹ-ից մյուսին անցնելիս փոխվում է A+T և G+C հարաբերությունը, որը կոչվում է սպեցիֆիկության գործակից:

$$\frac{A + T}{G + C} \text{ ԴՆԹ-ի սպեցիֆիկության գործակից}$$

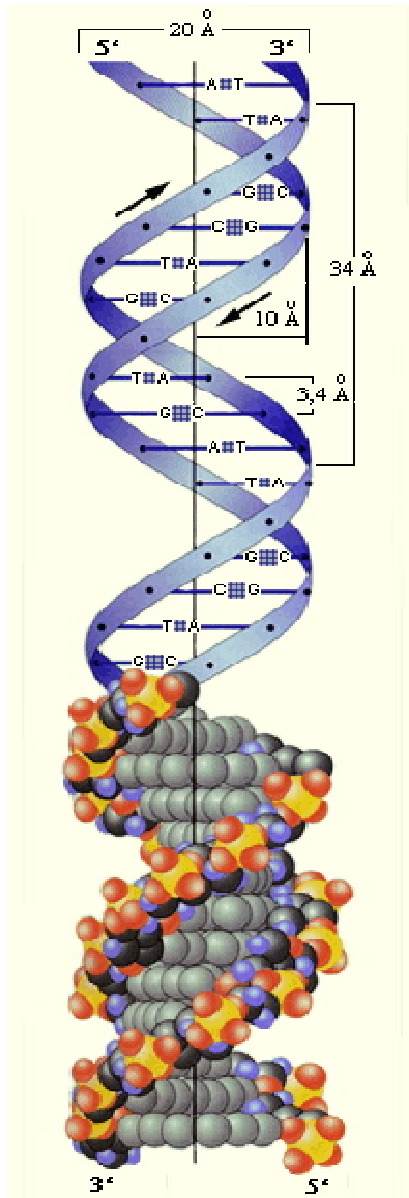
Որոշ տեսակի ԴՆԹ-ների մոտ A և T գումարային քանակը գերազանցում է G և C գումարային քանակին, այսինքն՝ սպեցիֆիկության գործակիցը մեծ է 1-ից: Գրանք կոչվում են AT տեսակի ԴՆԹ-ներ: Այլ տեսակի ԴՆԹ-ների մոտ G և C գումարը մեծ է A և T գումարից, այսինքն՝ սպեցիֆիկության գործակիցը փոքր է 1-ից: Գրանք կոչվում են GC տեսակի ԴՆԹ-ներ: Բացի դրանից՝ կան ԴՆԹ-ներ, որոնց մոտ բոլոր չորս ազոտային հիմքերի քանակները հավասար են, օրինակ՝ *E.coli* -ից ստացված որոշ ԴՆԹ-ներ:

ԴՆԹ-ի կառուցվածքի հետազոտությունը ֆիզիկական և ֆիզիկաքիմիական մեթոդներով (ռենտգենկառուցվածքային անալիզ, էլեկտրաչափական տիտրում, մածուցիկության որոշում) հնարավորություն է տվել պարզելու, որ ԴՆԹ-ի շղթան ունի պարուրած կառուցվածք:

1953 թ.-ին Ուոթսոնը և Կրիկը առաջարկել են ԴՆԹ-ի մոլեկուլի կրկնակի պարուրած կառուցվածքի մոդելը (նկար 57): Ըստ նրանց՝ ԴՆԹ-ի մոլեկուլը կազմված է երկու պոլիմուկլեոտիդային շղթաներից, որոնք ճիշտ ձևով պտտված են ընդհանուր առանցքի շուրջը՝ առաջացնելով 18-20 Å տրամագծով կրկնակի պարույր:

ԴՆԹ-ի պարույրի կմախքը կազմված է ածխաջրաֆոսֆատային շղթայից: Այդ կառուցվածքը մման է պտտվող սանդուղքի, որոնց մոտ ազոտային հիմքերը առաջացնում են աստիճանները, իսկ ածխաջրաֆոսֆատային շղթան՝ կմախքը: Սանդուղքի ամեն մի աստիճան կազմված է երկու ազոտային հիմքից, որոնք իրար հետ կապված են տարբեր տեսակի փոխազդեցությունների (ջրածնական կապեր, հիդրոֆոր ուժեր և այլն) հաշվին:





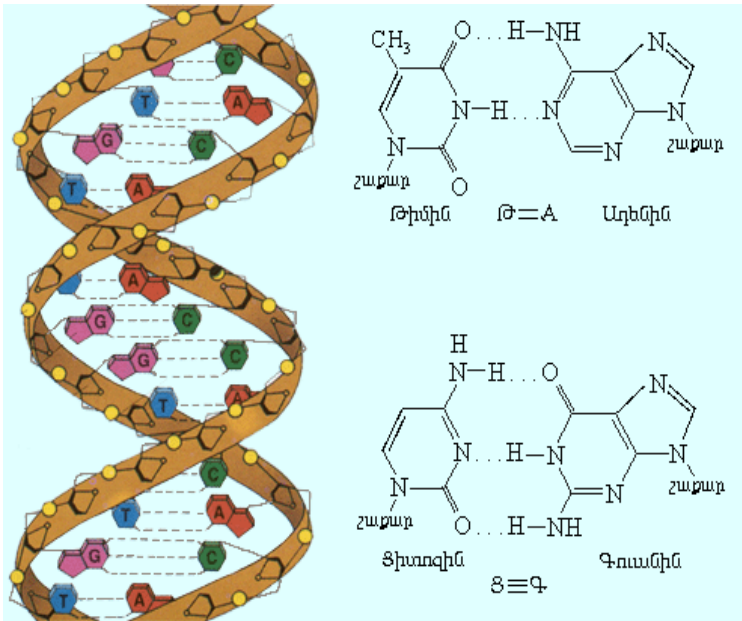
**Նկար 57.** ԳՆԹ-ի կրկնակի պարույրի սխեմատիկ պատկերն ըստ Ուոթսոնի և Կրիկի

Ընդ որում՝ ազոտային հիմքերն իրենց բավականին խոշոր և հիդրոֆոբ մակերեսով տեղաբաշխված են պարույրի ներսում, իսկ յուրաքանչյուր պարույրի պենտոգոֆոսֆատային մնացորդները բաշխված են մոլեկուլի արտաքին մասում: Ընդ որում՝ ազոտային հիմքերի հարթությունները գրեթե ուղահայաց են բաշխված պարույրի առանցքին: Միջնուկլեոտիդային հեռավորությունը կազմում է 3,4 Å, պարույրի յուրաքանչյուր քայլին համապատասխանում է 10 մուկլեոտիդային զույգ, որը և բնորոշում է քայլի երկարությունը՝ 34 Å: Հարևան մուկլեոտիդային մնացորդների միջև պտտման անկյունը ամբողջ շրթայի երկարությամբ կազմում է ~36°:

Անկախ հետերոցիկլիկ հիմքերի բնույթից՝ ածխաջրաֆոսֆատային շղթաների միջև եղած հեռավորությունը շրթայի ամբողջ երկարությամբ մնում է հաստատուն, այսինքն՝ շղթաները միմյանց նկատմամբ բաշխված են զուգահեռ: Այդ կապակցությամբ ցանկացած մուկլեոտիդային զույգում հետերոցիկլիկ հիմքերի ընտրությունը պատահական չէ և որոշվում է պարույրի ներքին տարածությունում նրանց դասավորման հնարավորությամբ: Օրինակ՝ երկու պիրիմիդինային հիմքերի բաշխումը մեկ զույգում կրեթի նրանց միջև բավականին մեծ հեռավորության, որը կխանգարի տվյալ զույգում անհրաժեշտ կապերի առաջացմանը:

ԳՆԹ-ի մոլեկուլում ազոտային հիմքերը կապված են հնարավոր առավելագույն թվով ջրածնական կապերով: Ադենինի և թիմինի զույգումը իրականացվում է պուրինային և պիրիմիդինային հիմքերի N<sub>1</sub> ազոտի ատոմների մասնակցությամբ, ինչպես նաև պիրիմիդինային օղակի C<sub>6</sub>-ի մոտ գտնվող թթվածնի և պուրինային օղակի C<sub>6</sub>-ի NH<sub>2</sub> խմբի ջրածնի միջև ջրածնական կապի առաջացմամբ: Նույն ձևով գուանինը կապվում է ցիտոզինի հետ ջրածնական կապերի առաջացման հաշվին՝ պուրինային և պիրիմիդինային հիմքերի N<sub>1</sub> ազոտի ատոմների միջև և պուրինային օղակի C<sub>6</sub>-ի թթվածնի և պիրիմիդինային օղակի NH<sub>2</sub> խմբի ջրածնի ատոմների միջև: Այս դեպքում հնարավոր է նաև երրորդ ջրածնական կապի առաջացումը գուանինի C<sub>2</sub>-ի մոտ գտնվող NH<sub>2</sub> խմբի ջրածնի և ցիտոզինի C<sub>2</sub>-ի

մոտ գտնվող թթվածնի միջև: Այսպիսով՝ ԳՆԹ-ի մոլեկուլը իրենից ներկայացնում է կապերի պինդ, ամուր կազմակերպված համակարգ: Բացի դրանից՝ մեկ շղթայում հետերոցիկլիկ հիմքերի հաջորդականությունը միանշանակ որոշում է մյուս շղթայում հիմքերի հաջորդականությունը, այսինքն՝ պոլիմոլիկետոսիդային շղթաները մեկը մյուսի հանդեպ խիստ կոմպլեմենտար են (նկար 58):



**Նկար 58.** ԳՆԹ-ի շղթայում հետերոցիկլիկ հիմքերի գույզման սխեման.  
ա. ադենին/թիմին (T/A), բ. գուանին/ցիտոզին (C/G)

Հետազայում Ուոթսոնի և Կրիկի մոդելում ճշտումներ է մտցրել Ուիլսինսոնը: Նա գտել է, որ ԳՆԹ-ի մոլեկուլի կրկնակի պարույրի տրամագիծը կազմում է 18 Å և ոչ թե 20 Å: Սակայն հիմնականում տարբեր օրգանիզմներից անջատած ԳՆԹ-ների կառուցվածքների հետազոտությունները հաստատել են Ուոթսոնի և Կրիկի մոդելի ճշտությունը:

### 9.3. Ռիբոնուկլեինաթթուներ, ՌՆԹ-ի տեսակները

Գոյություն ունեն ՌՆԹ-ի մի շարք տեսակներ, որոնք միմյանցից տարբերվում են իրենց հատկություններով: Նրանց մեծ մասը (~75-80%) իրենցից ներկայացնում են բարձրամոլեկուլային ՌՆԹ-ներ, որոնք տարածված են բոլոր տեսակի բջիջներում սպիտակուցների հետ միացած ռիբոնուկլեոպրոտեինների տեսքով: Նրանք մտնում են ցիտոպլազմայի և բջջի բաղադրիչների մեջ՝ առաջացնելով ռիբոսոմներ: Այդպիսի ՌՆԹ-ներն անվանվում են ռիբոսոմային ՌՆԹ (ռ-ՌՆԹ):

Կախված կենսաբանական ծագումից՝ ռ-ՌՆԹ-ների մոլեկուլային զանգվածը կարող է տատանվել  $1,7-2,1 \cdot 10^6$  սահմաններում: Համաձայն փորձնական տվյալների՝ ռ-ՌՆԹ-ն միասեռ չէ և կազմված է տարբեր մոլեկուլային զանգվածներով և սեղիմենտացման գործակիցներով երեք տեսակի ՌՆԹ-ներից: Բարձրամոլեկուլային ՌՆԹ-ների թվին են պատկանում նաև վիրուսային ՌՆԹ-ները (մոլային զանգվածը՝  $2 \cdot 10^6$ ), որոնք իրենց բնույթով նույնպես միասեռ չեն:

Բջջի բոլոր ՌՆԹ-ների մոտ 10-15%-ը հանդիսանում են ցածրամոլեկուլային ՌՆԹ-ներ (մոլային զանգվածը՝ 25.000-30.000, պոլիմերացման աստիճանը՝ 80%): Այդ ՌՆԹ-ները լուծվում են բջջահյութում, որտեղ նրանք գտնվում են սպիտակուցների հետ չկապված, ազատ վիճակում: Այդ ՌՆԹ-ներն անվանվում են «լուծելի», *լրասուպորոսային*, *ադասպորոսային* կամ *փոխադրող* ՌՆԹ-ներ, ինչը պայմանավորված է ամինաթթուների հետ սպեցիֆիկ ձևով կապվելու և բջջի ներս տեղափոխելու նրանց հատկությամբ: Դա կարճ գրվում է փ-ՌՆԹ, որն առկա է կենդանիներում, բակտերիաներում, բույսերում, խմորիչներում, սնկերում և այլն: Քանի որ առանձին ամինաթթուների տրանսպորտը բջջում իրականացնում են անհատական փ-ՌՆԹ-ները, հետևաբար նրանց թիվը բջջում բավականին շատ է: Անհատական փ-ՌՆԹ-ները սովորաբար անվանվում են՝ ելնելով տեղափոխող ամինաթթվի անվանումից, օրինակ՝ վալինային փ-ՌՆԹ, ալանինային փ-ՌՆԹ և այլն, իսկ դրանց ամբողջությունը դիտվում է որպես գումարային փ-ՌՆԹ:

Ռիբոսոմներից անջատվել է բարձրամոլեկուլային Ռ-ՆԹ-ի նոր տեսակ, որը բջջում ունակ է անընդհատ ճեղքման և սինթեզի: Այդ Ռ-ՆԹ-ների անվանման համար օգտագործվում են տարբեր տերմիններ՝ ի-Ռ-ՆԹ (ինֆորմացիոն), մ-Ռ-ՆԹ (մատրիցային) և messenger RNA: Մ-Ռ-ՆԹ-ի կառուցվածքային յուրահատկություններից է նրանց նուկլեոտիդային կազմի համապատասխանությունը նույն բջջում գտնվող Գ-ՆԹ-ի նուկլեոտիդային կազմին: Մ-Ռ-ՆԹ-ի քանակը կազմում է բոլոր բջջային Ռ-ՆԹ-ների 1-10%-ը:

Համաձայն ժամանակակից տեսության՝ մ-Ռ-ՆԹ-ն հանդես է գալիս որպես գենետիկական ինֆորմացիայի հաղորդող Գ-ՆԹ-ից սպիտակուցին և անմիջապես մասնակցում է սպիտակուցի սինթեզին: Սպիտակուցների սինթեզի կինետիկայի հետազոտությունը ցույց է տվել, որ մ-Ռ-ՆԹ-ի գոյատևման ժամկետը բավարար է մի քանի տասնյակ սպիտակուցների մոլեկուլներ սինթեզելու համար: Ընդ որում՝ տարբեր ծագման մ-Ռ-ՆԹ-ները տարբերվում են իրարից գոյատևման ժամկետով: Բակտերիալ բջիջների մ-Ռ-ՆԹ-ները ավելի լաբիլ են, քան կենդանիների բջիջների մ-Ռ-ՆԹ-ները: Օրինակ՝ *E.coli* բջիջների մ-Ռ-ՆԹ-ի կիսատրոհման պարբերությունը կազմում է 1,5-2 րոպե, իսկ սպիտակուցի սինթեզն իրականացվում է 20-30 վրկ-ում: Կենդանիների բջիջների մ-Ռ-ՆԹ-ների կիսատրոհման պարբերությունը հասնում է ժամերի, որոշ դեպքերում՝ օրերի: Սովորաբար մ-Ռ-ՆԹ-ների կիսատրոհման պարբերությունները բջջում կախված են տվյալ բջջում գտնվող Ռ-ՆԹ-ազ ֆերմենտների ակտիվությունից և Ռ-ՆԹ-ազների ակտիվ ինհիբիտորների քանակից:

Մ-Ռ-ՆԹ-ները տարբերվում են իրարից ինչպես չափերով, այնպես էլ բաղադրությամբ, այսինքն՝ մ-Ռ-ՆԹ-ների շարքում նկատվում է բավականին ուժեղ հետերոգենություն: Մ-Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլային զանգվածը տատանվում է  $3 \cdot 10^4$ - $6 \cdot 10^7$  մարգում, իսկ նրանց սեդիմենտացման գործակիցը՝ 4 S-ից մինչև 30 S՝ *E.coli* բջիջների մոտ և 4 S-ից մինչև 50-65 S՝ կենդանիների բջիջների մոտ: Մ-Ռ-ՆԹ-ների բազմատեսակությունը պայմանավորված է բջջում սինթեզվող սպիտակուցների բազմատեսակությամբ:

**Ռ-ՆԹ-ի քիմիական սպեցիֆիկությունը:** Ռ-ՆԹ-ի գումարային կազմի հետազոտությունը ցույց է տվել, որ նրա մոտ Գ-ՆԹ-ի համար Չարգաֆի կանոնի դրույթներից միայն մեկն է գործում՝ գուանինի և ուրացիլի գումարային պարունակությունը հավասար է ադենինի և ցիտոզինի գումարային պարունակությանը: Այս կանոնին ենթարկվում են Ռ-ՆԹ-ի բոլոր տեսակները, բացառություն է կազմում վիրուսների Ռ-ՆԹ-ն: Ռ-ՆԹ-ում, ի տարբերություն Գ-ՆԹ-ի, պուրինային և պիրիմիդինային հիմքերի մոլային հարաբերությունը հավասար չէ մեկի և կարող է փոփոխվել՝ կախված ծագման աղբյուրից: Սովորաբար Ռ-ՆԹ-ում, որպես կանոն, պուրինային նուկլեոտիդների մոլային պարունակությունը մեծ է կամ մոտավորապես հավասար է պիրիմիդինային նուկլեոտիդների պարունակությանը:

$$\frac{G + A}{C + U} \geq 1$$

Սպեցիֆիկության գործակիցը Ռ-ՆԹ-ի համար փոփոխվում է ավելի նեղ տիրույթում, քան Գ-ՆԹ-ի դեպքում:

$$\frac{A + U}{G + C} \text{ Ռ-ՆԹ-ի սպեցիֆիկության գործակից}$$

Կենդանիների օրգանիզմում այն փոփոխվում է 1.3-1.66, բույսերի մոտ՝ 1.08-1.21, բակտերիաների մոտ՝ 1.05-1.35, իսկ վիրուսների մոտ՝ 0.78-1.23 մարզերում:

Սովորաբար տարբերվում են 2 տեսակի Ռ-ՆԹ-ներ.

$$\text{GC տեսակի ՌՆԹ, երբ } \frac{A + U}{G + C} < 1, \text{ AU տեսակի ՌՆԹ, երբ } \frac{A + U}{G + C} > 1:$$

Ռ-ՆԹ-ների գերակշռող տեսակները պատկանում են GC-տիպին, այսինքն՝ նրանց սպեցիֆիկության գործակիցը  $< 1$ -ից: AU-տիպի Ռ-ՆԹ հիմնականում հանդիպում է վիրուսների, ինչպես նաև որոշ տեսակի սնկերի և միջատների մոտ:

Նկատվում է տարբերություն բարձրամոլեկուլային *n*-Ռ-ՆԹ-ների և ցածրամոլեկուլային *ψ*-Ռ-ՆԹ-ների նուկլեոտիդային կազմի մեջ:

Բջջի գումարային փ-ՌՆԹ-ներում, որպես կանոն, նկատվում են ցիտոզինի համեմատաբար մեծ պարունակություն և ադենինի փոքր պարունակություն, քան ռ-ՌՆԹ-ներում: Բացի դրանից՝ ցածրամոլեկուլային փ-ՌՆԹ-ների համար բնութագրական է ոչ սովորական նուկլեոտիդների առկայությունը: Ներկայումս այդպիսի միներային նուկլեոտիդների թիվը հասնում է մինչև 20-ի, օրինակ՝ դրանցից է պսևդուրիդիլաթթուն: Միներային բաղադրիչների մեծ մասը պարունակում է մեթիլացված ածանցյալներ, օրինակ՝ 3-մեթիլուրացիլ, 5-մեթիլցիտոզին, 5-օքսիմեթիլցիտոզին, N<sub>2</sub>- և N<sub>6</sub>-մեթիլգուանիններ և ադենիններ, կամ N<sub>2</sub>, N<sub>6</sub>-դիմեթիլգուանին և այլն:

Ռ-ՌՆԹ-ներում միներային բաղադրիչները պարունակվում են չնչին քանակությամբ: Ռ-ՌՆԹ-ի նուկլեոտիդային կազմի որոշումը կապված է որոշակի դժվարությունների հետ, որը պայմանավորված է բնական աղբյուրներից դրանց անջատման դժվարություններով և նրանց համեմատաբար մեծ չափերով: Սակայն տարբեր մեթոդների օգտագործմամբ հնարավոր է դարձել գումարային փ-ՌՆԹ-ի նուկլեոտիդային հաջորդականության որոշումը սկսած ակցեպտորային ծայրից, այսինքն՝ ազատ 3'-OH պարունակող ծայրից, որին միացած է ամինաթթուն: Պարզված է, որ բոլոր հայտնի փ-ՌՆԹ-ները ունեն նույն ծայրային տրինուկլեոտիդը՝ *p C p C p A*:

**ՌՆԹ-ի մակրոմոլեկուլային կառուցվածքը:** ՌՆԹ-ի մակրոմոլեկուլային կառուցվածքը և ֆիզիկաքիմիական հատկությունները համեմատաբար ավելի վատ են ուսումնասիրված: Դա հիմնականում կապված է ՌՆԹ-ի հոմոգեն պրեպարատների անջատման դժվարությունների հետ, ինչը պայմանավորված է ՌՆԹ-ի լաբիլությամբ: ՌՆԹ-ի ճեղքման կինետիկական հետազոտությունները պանկրեատիկ ՌՆԹ-ազ ֆերմենտների ազդեցությամբ, որոնք իրականացվել են սպեկտրադիտական մեթոդներով (օպտիկական, էլեկտրոնային, մագնիսական, հիդրոդինամիկ և այլն), ցույց են տվել, որ վիրուսային ՌՆԹ-ն, ռ-ՌՆԹ-ն և փ-ՌՆԹ-ն կառուցված են մեկ թելանի պոլի-նուկլեոտիդային շղթայի ձևով: Ընդունված է, որ լուծույթում ՌՆԹ-ն ունի կանոնավոր, կարգավորված կառուցվածք, այսինքն՝ նրան բնորոշ է որոշակի երկրորդային կառուցվածք, որը կարող է փոփոխվել՝

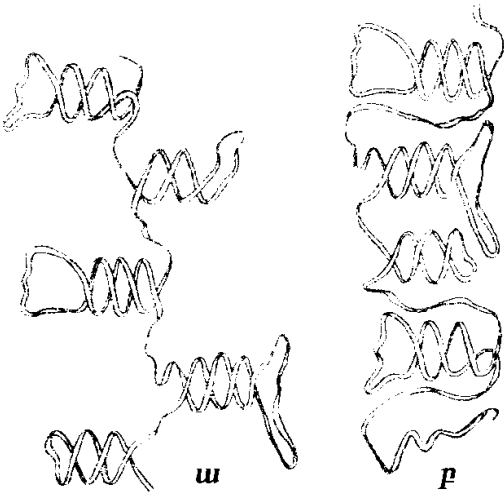
կախված մի շարք գործոններից, մասնավորապես միջավայրի pH-ից, լուծույթի իոնական ուժից, ջերմաստիճանից: Ռ-ՆԹ-ի օպտիկական և հիդրոդինամիկ հատկությունների հետազոտությունը ցույց է տվել, որ այդ երկրորդային կառուցվածքն իրենից ներկայացնում է պարուրածն հատվածներ, որոնք կառուցված են Գ-ՆԹ-ի պարույրի ձևով:

Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլում պարունակվող պարուրածն մարզերի մասին է վկայում նրանց օպտիկական սպեկտրներում հիպոքրոմային էֆեկտների առկայությունը: Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլում նկատվում է բավականին բարձր օպտիկական ակտիվություն (օպտիկական պտույտի արժեք), այն դեպքում, երբ նույն Ռ-ՆԹ-ի բաղադրության մեջ մտնող բոլոր մոնոնուկլեոտիդների խառնուրդն օժտված է բավականին ցածր օպտիկական ակտիվությամբ: Դա վկայում է նրա շղթայում պարուրածն կառուցվածքների առկայության մասին: Տարբեր սպեկտրադիտական տվյալների հիման վրա պարզվել է, որ Ռ-ՆԹ-ի շղթայի պարուրվածության աստիճանը հասնում է 50-84%: Օրինակ՝ սպեկտրալուսաչափական հետազոտությունների հիման վրա պարզվել է, որ *n*-Ռ-ՆԹ-ում նուկլեոտիդների մինչև 78%-ը մասնակցում է պարույրների առաջացմանը (pH=7, իոնական ուժը՝ 0,1, T=25°C), իսկ վիրուսային Ռ-ՆԹ-ում՝ մինչև 84%-ը: Պարզված է, որ մեկ պարույրի առաջացմանը առավելագույնը մասնակցում են 10 նուկլեոտիդային գույգ, որը համապատասխանում է պարույրի մեկ քայլին, իսկ պարույրի նվազագույն չափերը սահմանափակված են 4-6 նուկլեոտիդային գույգերով: Իսկ չգույգված մոնոնուկլեոտիդները կապում են պարուրածն հատվածները: Նման երկրորդային կառուցվածքը ապահովում է Ռ-ՆԹ-ի մոլեկուլի ճկունությունը, որը տարբերվում է Գ-ՆԹ-ի մոլեկուլի պինդ, կոշտ կառուցվածքից: Այսպիսով՝ *n*-Ռ-ՆԹ-ի երկրորդային կառուցվածքն իրենից ներկայացնում է կարճ պարուրածն հատվածների հավաքածու, որոնք բաշխված են մոլեկուլի ամբողջ երկարությամբ, և որոնք կապված են իրար ոչ պարուրածն հատվածներով: Մակայն հայտնաբերված են նաև Ռ-ՆԹ-ներ, որոնք ունեն կոշտ կառուցվածք, նույնիսկ ավելի կոշտ, քան Գ-ՆԹ-ն, օրինակ՝ վիրուսներից անջատված որոշ Ռ-ՆԹ-ներ, որոնց

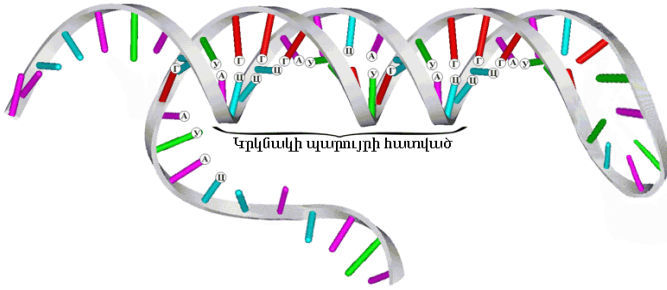


կառուցվածքի կոշտությունը պայմանավորված է մակրոմոլեկուլի անխաչրաֆոսֆատային կմախքում առկա լրացուցիչ փոխազդեցություններով (նկար 59):

Ջերմաստիճանի բարձրացմամբ, քիմիական ազեմտների ազդեցությամբ, ինչպես նաև լուծույթի իոնական ուժի փոքրացման դեպքում պարուրածն հատվածները խախտվում են, այսինքն՝ խախտվում են երկրորդային կառուցվածքի կանոնավորվածությունը, կարգավորվածության տարրերը: Լուծույթում ՌՆԹ-ի կոնֆորմացիան կախված է տվյալ պայմաններում ներմոլեկուլային փոխազդեցությունների հարաբերությունից, այսինքն՝ հետերոցիկլիկ հիմքերի միջև առաջացած լրացուցիչ կապերի հարաբերությունից, ինչպես նաև լիցքավորված ֆոսֆատային խմբերի էլեկտրաստատիկ վանողական փոխազդեցությունից: Լուծույթի ցածր իոնական ուժի դեպքում (0,1-0,01), երբ ֆոսֆատների միջև էլեկտրաստատիկ վանումը նկատելի արտահայտված է, որպես կանոն, պարուրածն մարզերը պետք է իրար վանեն, ինչի հետևանքով մոլեկուլը պետք է ձգտի դասավորվել պարույրի առանցքին ուղղահայաց (կառուցվածք **բ**):



(I)



(II)

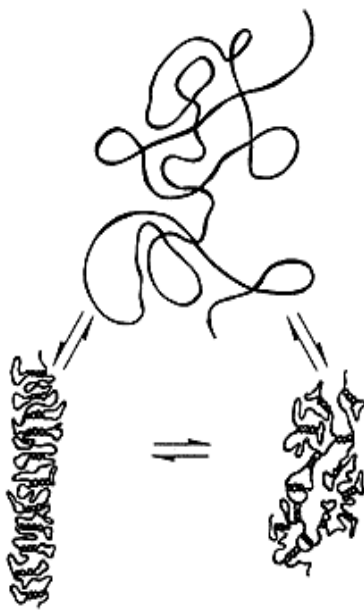
**Նկար 59.** Լուծույթում ՌՆԹ-ի երկրորդային կառուցվածքը (I), պարուրածն մարզերի բաշխման երկու հնարավոր տարբերակներ՝ *uu* և *pp*. Կրկնակի պարույր պարունակող ՌՆԹ-ի մոլեկուլի հատված (II)

Մասնավորապես *uu* կառուցվածքի դեպքում յուրաքանչյուր պարուրածն հատվածի կողմնորոշումը հարևան պարուրածն հատվածների նկատմամբ ֆիքսված չէ, և նրանք առանցքի շուրջը կարող են բաշխվել անկանոն ձևով, իսկ *pp* կառուցվածքի դեպքում հնարավոր են առանձին հարևան պարուրածն հատվածների միջև լրացուցիչ փոխազդեցություններ՝ մետաղների իոնների հետ իոնական, ջրածնական և այլ կապերով:

Որոշ հետազոտողներ գտնում են, որ ՌՆԹ-ի կայուն և հավաք կառուցվածքի ապահովման համար որոշիչ դեր են խաղում երկարժեք մետաղի իոնները՝  $Mg^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  և այլն:

Ինչպես արդեն նշվել է, ՌՆԹ-ի կոնֆորմացիան լուծույթում կախված է լուծույթի իոնական ուժից, ջերմաստիճանից և այլ գործոններից: Կախված պայմաններից՝ բարձրամոլեկուլային ՌՆԹ-ն կարող է գտնվել 3 կոնֆորմացիաների տեսքով՝ *սսիմենտրիկ չողիկի (uu)*, *հավաք կծիկի (pp)* և *բացված, քանդված թելի (qq)* տեսքով:

Յածր իոնական ուժով լուծույթներում սենյակային ջերմաստիճանում ՌՆԹ-ի մոլեկուլն ունի իրար նկատմամբ զուգահեռ հարթություններում բաշխված պարուրածն հատվածներից կազմված *սսիմենտրիկ հավաք չողիկի* տեսք (*uu*) (նկար 60):



**Նկար 60.** Լուծույթում Ռ-ՆԹ-ի մակրոմոլեկուլի կոնֆորմացիայի փոփոխությունը՝ կախված լուծույթի իոնական ուժից և ջերմաստիճանից

Լուծույթի իոնական ուժի մեծացման հետ, երբ մեծանում է լիցքավորված ֆոսֆատային խմբերի էկրանացման աստիճանը, և, հետևաբար, փոքրանում են էլեկտրաստատիկ փոխազդեցությունները, հավաք ասիմետրիկ ձողիկը դառնում է ավելի քիչ ասիմետրիկ և աստիճանաբար անցնում է մի վիճակի, որը նման է *հավաք կծիկի* (**p**): Լուծույթի ջերմաստիճանի բարձրացման, ինչպես նաև իոնական ուժի փոքրացման դեպքում ( $10^{-4}$ -ից փոքր՝ աղազրկված լուծույթի դեպքում), օրինակ՝ թթուների, հիմքերի և այլ գործոնների ազդեցությամբ տեղի է ունենում լրացուցիչ կապերի խզում, և մոլեկուլը ձեռք է բերում *բացված թելի* տեսք (**q**): Ընդ որում՝ նման փոփոխությունները՝  $u \rightleftharpoons p \rightleftharpoons q$ , տեղի են ունենում նաև տաքացման դեպքում, առանց իոնական ուժի փոփոխման: Դա վերաբերում է n-Ռ-ՆԹ-ներին և որոշ վիրուսային Ռ-ՆԹ-ներին:

## **Գլուխ 10. Սպիտակուցաածխաջրային կոմպլեքսներ**

Բջջի կառուցվածքային բաղադրիչների մեջ լայն տեղ են գրավում կենսապոլիմերները, որոնք իրենց կազմում պարունակում են ածխաջրեր և սպիտակուցներ: Դրանք բազմազան են իրենց կառուցվածքով և ֆունկցիաներով, հանդիպում են մարդու և կենդանիների հյուսվածքներում, բույսերում, բակտերիաներում և այլն: Բջջապատերի կազմում նրանք առաջացնում են կենսաբանական ակտիվ մակերևույթներ, որոնք միացնում են բջջիցները միմյանց հետ: Այդ նյութերն առաջացնում են հյուսվածքների հեղուկ ֆազը և նպաստում են օրգանիզմում տեղափոխման (տրանսպորտի) և պաշտպանական ֆունկցիաների իրականացմանը: Ցանկացած սպիտակուց-ածխաջրային կոմպլեքս կազմված է 2 մասից՝ ածխաջրային և սպիտակուցային բաղադրիչներից:

Ածխաջրերն իրենցից ներկայացնում են պոլիօքսիկարբոնիլային միացություններ: Դրանք դասակարգվում են մոնոսախարիդների, օլիգոսախարիդների և պոլիսախարիդների:

**Մոնոսախարիդները** սովորաբար պարունակում են 3-9 ածխածնի ատոմներ, ընդ որում՝ դրանցից ավելի տարածված են պենտոզները և հեքսոզները: Մոնոսախարիդների թվին են պատկանում նաև նրանց ածանցյալները, որոնք առաջանում են մեկ OH խումբը H-ով փոխարինելու դեպքում՝ դեզօքսիշաքարներ, NH<sub>2</sub>-ով փոխարինելու դեպքում՝ ամինոշաքարներ, ածանցյալներ, որոնք պարունակում են COOH խումբ՝ ուրոնային թթուներ և բազմաֆունկցիոնալ միացություններ՝ սիալային թթուներ:

**Օլիգոսախարիդները** պարունակում են իրար հետ գլիկոզիդային կապերով կապված 2-10 մոնոսախարիդային մնացորդներ:

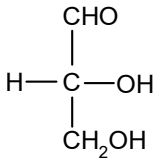
**Պոլիսախարիդները** պոլիմերային միացություններ են, որոնք կազմված են որոշակի ձևով իրար հետ կապված մոնոսախարիդային մնացորդներից:

Սովորաբար սպիտակուցաածխաջրային կոմպլեքսների ածխաջրային բաղադրիչներն իրենցից ներկայացնում են օլիգո- և պո-

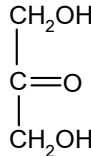
լիսախարիդներ, իսկ սպիտակուցային բաղադրիչը՝ օլիգո- և պոլիպեպտիդներ: Գրանք կապված են իրար հետ O-գլիկոզիդային կապերով:

### 10.1. Մոնոսախարիդներ

Մոնոսախարիդներին բնորոշ է  $C_nH_{2n}O_n$  բանաձևը: Գրանց ամենացածր ներկայացուցիչը պարունակում է երեք ածխածնի ատոմ՝ գլիցերալդեհիդը ալդոզների դեպքում և դիօքսիացետոնը կետոզների դեպքում:



Գլիցերալդեհիդ



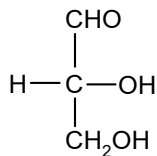
Դիօքսիացետոն

#### 10.1.1. Կառուցվածքային առանձնահատկությունները

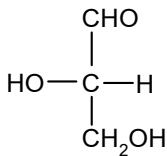
**Կոնֆիգուրացիան:** Քանի որ մոնոսախարիդները պարունակում են ածխածնի քիրալային ատոմներ, նշանակում է՝ նրանք կարող են հանդես գալ կոնֆիգուրացիոն ստերեոիզոմերների ձևով, օրինակ՝ տետրոզներն ունեն 2, պենտոզները՝ 3 և հեքսոզները՝ 4 քիրալային C-ատոմներ: Յուրաքանչյուր կոնֆիգուրացիային համապատասխանում է 2 օպտիկական իզոմեր՝ աջ և ձախ պտտող անտիպոդներ:

Մոնոսախարիդի քիրալային ատոմների կոնֆիգուրացիայի որոշման համար դրանք համեմատվում են գլիցերալդեհիդի քիրալային ածխածնի ատոմների կոնֆիգուրացիաների հետ: Վերջիններս որոշիչ դեր են խաղում մոնոսախարիդը *L*- կամ *D*- շարքին դասելու համար:

Ստերեոիզոմերների ընդհանուր թիվը շարքերում որոշվում է  $2^n$  ֆորմուլայով, որտեղ *n*-ը քիրալային ատոմների թիվն է:



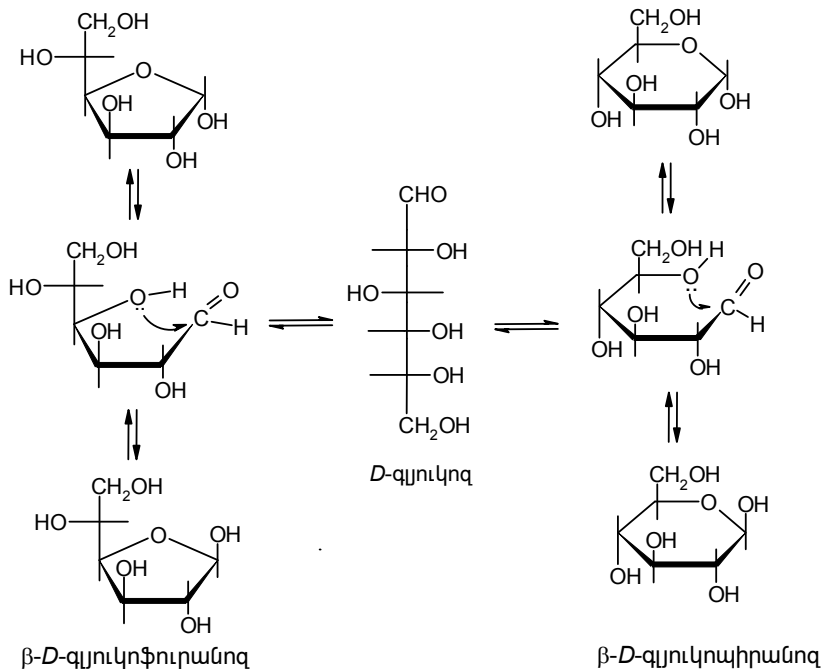
*D*-գլիցերալդեհիդ



*L*-գլիցերալդեհիդ

Սովորաբար պենտոզները և հեքսոզները լինում են ցիկլիկ ձևերով, որոնք իրենցից ներկայացնում են կիսաացետալներ (կամ լակտալներ): Այդ ձևերն առաջանում են կարբոնիլային խմբի ածխածնի ատոմի վրա ածխածնային շղթայում նրանից բավականին հեռու գտնվող սպիրտային խմբի թթվածնի ատոմների մուկլեոֆիլային գրոհման շնորհիվ (սխեմա 161):

### Սխեմա 161



Յիկլման արդյունքում առաջանում է նոր քիրալային ածխածնի ատոմ, և իզոմերների թիվը կրկնապատկվում է: Նոր առաջացած քիրալային կենտրոնը կոչվում է գլիկոզիդային (կամ անոմերային), իսկ հիդրօքսիլը, որը գտնվում է այդ ածխածնի ատոմի մոտ՝ գլիկոզիդային: Անոմերային կենտրոնի շուրջն առաջացած իզոմերները կոչվում են  $\alpha$ - և  $\beta$ -անոմերներ:

Իզոմերները, որոնք տարբերվում են իրարից մյուս քիրալային ածխածնի ատոմների կոնֆիգուրացիաներով, կոչվում են էպիմերներ, օրինակ՝ գլյուկոզը և մանոզը, ըստ  $C_2$ -ի, համարվում են էպիմերներ:

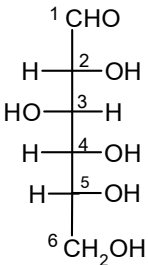
Մոնոսախարիդներն ի վիճակի են ենթարկվելու տաուտոմերային փոխարկումների: Օրինակ՝ ջրային միջավայրում  $pH=6,9$ -ի պայմաններում հավասարակշռական վիճակում գլյուկոզան պարունակում է միայն  $0,0026\%$  ալդեհիդային ձև (ըստ պոլյարոգրաֆիկ տվյալների):  $\alpha$ - և  $\beta$ -անոմեր ձևերի հարաբերությունը կախված է լուծիչի բնույթից, օրինակ՝ ջրում սենյակային ջերմաստիճանի պայմաններում հավասարակշռական վիճակում գտնվում են  $36\%$   $\alpha$ - $D$ -գլյուկոզ և  $64\%$   $\beta$ - $D$ -գլյուկոզ ( $[\alpha]_D^{20} = +52.6^\circ$ ), իսկ բացարձակ մեթանոլում՝  $45\%$   $\alpha$ - $D$ -գլյուկոզ և  $55\%$   $\beta$ - $D$ -գլյուկոզ: Մոնոսախարիդները լուծելու դեպքում մինչև հավասարակշռական վիճակի ստեղծումը նկատվում է լուծույթի օպտիկական պտույտի փոփոխություն, որը հայտնի է որպես **մուրառուրացիա**, և այն պայմանավորված է անոմերիզացիայով ( $C_1$ -ի մոտ կոնֆիգուրացիայի փոփոխությամբ):

**Կոնֆորմացիան:** Կոնֆորմացիան մոլեկուլում ատոմների տարբեր տարածական բաշխումն է, որը ծագում է մեկ կամ մի քանի պարզ կապերի շուրջ պտույտի արդյունքում:

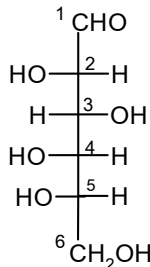
Կոնֆորմացիոն իզոմերներն ունեն նույն մոլեկուլային բանաձևը, նույն կառուցվածքը, նույնական կոնֆիգուրացիա, սակայն տարբեր կոնֆորմացիաներ: Կոնֆորմացիաներն իրարից տարբերվում են ազատ էներգիայի արժեքով, որը պայմանավորված է կովալենտ ձևով չկապված ատոմների և խմբերի փոխազդեցությամբ: Սովորաբար այդ տարբերությունը մեծ չէ, և դա հնարավորություն է

տալիս սենյակային ջերմաստիճանում կոնֆորմացիոն իզոմերներին անցնելու մի ձևից մյուսին: Սակայն հաճախ կոնֆորմացիոն իզոմերներն ունեն բավականին բարձր էներգիական պատճեն, նրանց անցումը մեկը մյուսին դժվարացված է, ինչը հնարավորություն է տալիս առանձնացնելու իզոմերներին: Նման կոնֆորմացիոն իզոմերները կոչվում են ատրոպիզոմերներ:

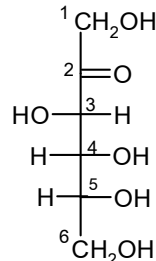
**Մոնոսախարիդների կառուցվածքի արտահայտման անվանակարգությունը:** Մոնոսախարիդների ացիկլիկ ձևերի պատկերման համար ընդունվում է Ֆիշերի պրոյեկցիոն բանաձևը:



*D*-Գլյուկոզ



*L*-Գլյուկոզ



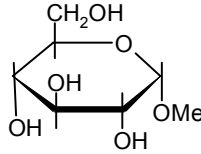
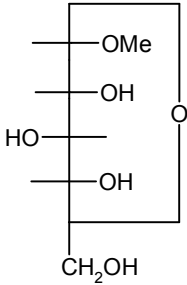
*D*-Ֆրուկտոզ

Կոնֆիգուրացիաները սովորաբար արտահայտվում են *D* և *L* սիմվոլներով: Եթե անհրաժեշտ է նշել օպտիկական պտույտի նշանը, ապա ավելացվում է *դեքստրո* և *լևո* կամ (+) և (-), ռացեմատ ձևը նշանակում է (*D,L*) կամ ( $\pm$ ), իսկ *մեզո* ձևի դեպքում անվանման սկզբում ավելացվում է *մեզո*: Օրինակ՝ *D*-գլյուկոզ կամ *D*-(*դեքստրո*)-գլյուկոզ կամ *D*-(+)-գլյուկոզ, *D*-ֆրուկտոզ կամ *D*-(*լևո*)-ֆրուկտոզ կամ *D*-(-)-ֆրուկտոզ:

Մոնոսախարիդների ցիկլիկ ձևերի անվանակարգությունում ցիկլի չափերն արտահայտվում են մոնոսախարիդների անվան մեջ «ոզ» վերջավորությունը փոխարինելով «ֆուրանոզ»-ով՝ 5-անդամանի, «պիրանոզ»-ով՝ 6-անդամանի և «սեպտանոզ»-ով՝ 7-անդամանի օղակների դեպքում: Անոմերների արտահայտման համար անվանման մեջ լրացուցիչ մտցվում են  $\alpha$ - կամ  $\beta$ -տերմինները:



Ածխաջրերի անոմեր կենտրոնի հիդրօքսիլ խմբի հաշվին առաջացած եթերները կոչվում են գլիկոգլիներ, այսինքն՝ ավելացվում է «գլի» վերջավորությունը:

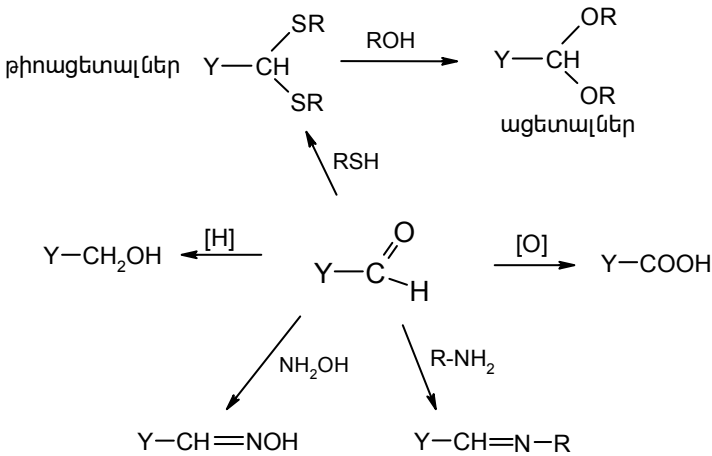


Մեթիլ- $\alpha$ -D-Գլյուկոպիրանոզի

**10.1.2. Մոնոսախարիդների քիմիական հատկությունները**

**Կարբոնիլային խմբի մասնակցությամբ ռեակցիաներ:** Ալդոզների և կետոզների ալդեհիդային խմբերը մասնակցում են կարբոնիլային խումբ պարունակող միացություններին բնորոշ ռեակցիաներին (սխեմա 162):

**Սխեմա 162**



**Սպիրտային OH խմբերի մասնակցությամբ ռեակցիաներ:**

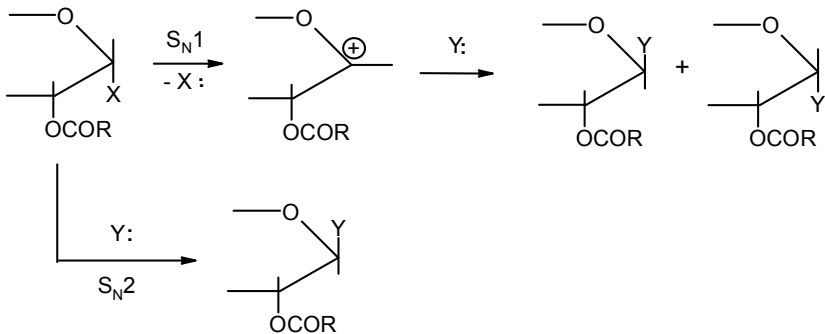
Սպիրտային OH խմբերը ռեակցում են կարբոնաթթուների, սպիրտների, ալդեհիդների և կետոնների հետ՝ առաջացնելով էսթերներ և եթերներ, ցիկլիկ ագետալներ և կետալներ: Սպիրտային խմբերով առաջացած ածանցյալներն օգտագործվում են մոնոսախարիդների բնութագրման համար, ինչպես նաև օլիգո- և պոլիսախարիդների սինթեզի գործընթացներում՝ որպես հիդրօքսիլային խմբերի պաշտպանման ձև: Սովորաբար մոնոսախարիդների կառուցվածքում կան մեկ առաջնային և մի քանի երկրորդային սպիրտային խմբեր:

Ցիկլիկ մոնոսախարիդների դեպքում երկրորդային հիդրօքսիլային խմբերի շարքում, ըստ ռեակցիոնունակության, առանձնացվում է գլիկոզիդային հիդրօքսիլային խումբը, ինչի պատճառով առավել նշանակություն են ձեռք բերել հենց այդ հիդրօքսիլային խմբի տեղակալմամբ առաջացած մոնոսախարիդների ածանցյալները:

**Գլիկոզիդային OH խմբի ռեակցիաները:**

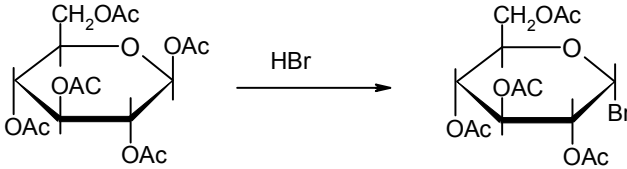
Ի տարբերություն մյուս սպիրտային խմբերի՝ գլիկոզիդային OH խումբը հեշտությամբ մասնակցում է նուկլեոֆիլային տեղակալման ռեակցիաներին: Գլիկոզիդային կենտրոնի մոտ նուկլեոֆիլային տեղակալման ռեակցիաներն ընթանում են  $S_N1$  և  $S_N2$  մեխանիզմներով, որոնց արդյունքում գլիկոզիդային կենտրոնի մոտ տեղի են ունենում մասնակի կամ լրիվ ռացեմացում և կոնֆիգուրացիայի փոփոխություն (սխեմա 163):

**Սխեմա 163**



Առավել նշանակություն է ձեռք բերել գլիկոլիդային հիդրօքսիլ խմբի փոխարինումը հալոգենով: Դա իրականացվում է մոնոսախարիդի ացիլաձանցյալը քացախաթթվի միջավայրում HBr-ով կամ HCl-ով մշակելով (սխեմա 164):

**Սխեմա 164**



Առաջացած ացիլհալոգենոզները լայնորեն կիրառվում են մոնոսախարիդների տարբեր աձանցյալների սինթեզի ռեակցիաներում, այդ թվում նաև՝ O-գլիկոլիդների սինթեզի ժամանակ:

**10.1.3. Մոնոսախարիդների օպտիկական հատկությունները**

Դրանք անգույն նյութեր են, լավ լուծվում են ջրում, քիչ լուծելի են սպիրտներում և քացախաթթվում: Բազմաթիվ մոնոսախարիդներ անջատվել են բյուրեղական վիճակում:

Ածխաջրերի շարքում օպտիկական պտույտի արժեքը ոչ միայն բնութագրում է օպտիկական մաքրության աստիճանը, այլ նաև որոշիչ դեր է խաղում կոնֆիգուրացիայի և կոնֆորմացիայի որոշման համար: Մոնոսախարիդների դեպքում օպտիկական հատկությունների բնութագրման համար օգտագործվում է մոլեկուլային օպտիկական պտույտի արժեքը, որը որոշվում է հետևյալ բանաձևով.

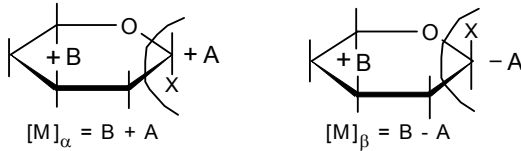
$$[M] = \frac{M \cdot [\alpha]_D^{25}}{100}$$

որտեղ M-ը մոլեկուլային զանգվածն է,  
 $[\alpha]_D^{25}$ -ն՝ տեսակարար օպտիկական պտույտի արժեքը,  
[M]-ը՝ մոլային պտույտի արժեքը,

$$[\alpha]_D^{25} = \frac{\alpha_{\text{չափ}} \cdot 100}{c \cdot l}$$

որտեղ  $\alpha_{\text{չափ}}$ -ը չափված պտույտի արժեքն է,  
c-ն՝ կոնցենտրացիան (գ/100գ),  
l-ը՝ կուվետի լայնությունը (դմ):

Համաձայն Խաղսոնի՝ ցիկլիկ հեքսապիրանոզների մոտ մոլային պտույտի արժեքը կարելի է արտահայտել որպես **A** և **B** բաղադրիչների գումար: **A**-ն բնութագրում է տեղակալիչներով անոմեր կենտրոնի ներդրումն ընդհանուր օպտիկական պտույտի արժեքի մեջ, իսկ **B**-ն՝ մոլեկուլի մնացած քիրալային կենտրոնների ներդրումը:



Երկու անոմերների մոլային պտույտի թվային արժեքների տարբերությունը համարվում է հաստատուն մեծություն (2A), որը բնորոշվում է անոմեր կենտրոնի մոտ տեղակալիչներով և կախված չէ մոլեկուլի մնացած քիրալ կենտրոնների կոնֆիգուրացիաներից:

$$[M]_{\alpha} - [M]_{\beta} = B + A - B + A = 2A$$

Երկու անոմերների մոլային պտույտի արժեքների գումարը մինևույն ալդոլի տարբեր ածանցյալների համար կախված չէ անոմեր կենտրոնի մոտ գտնվող տեղակալիչների բնույթից և համարվում է հաստատուն մեծություն (2B):

$$[M]_{\alpha} + [M]_{\beta} = B + A + B - A = 2B$$

Փորձնական տվյալները բավականին լավ համաձայնեցվում են Խաղսոնի կանոնի հետ: Այդ կանոնից նկատվում են որոշ շեղումներ, որոնք բացատրվում են մոնոսախարիդի կոնֆիգուրացիայի ազդեցությամբ, արսիալ և էկվատորիալ հիդրօքսիլ խմբերի տարբերությամբ:

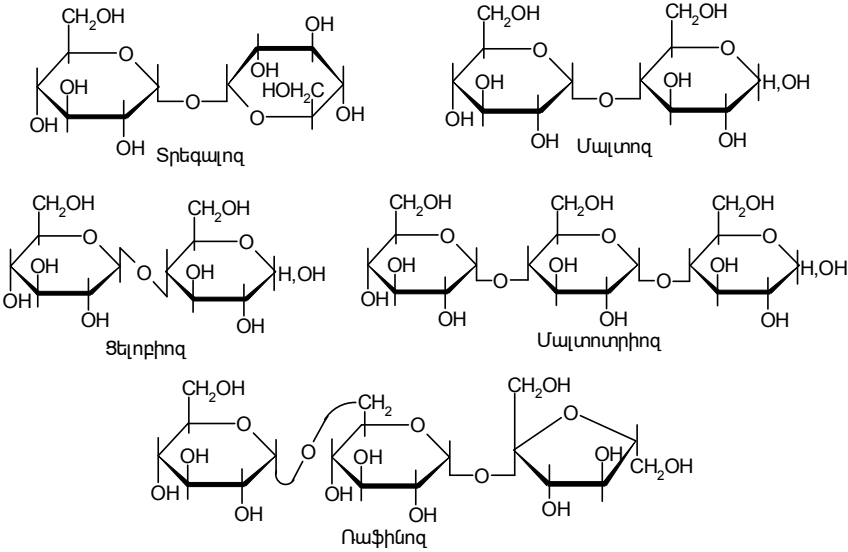
## 10.2. Օլիգոսախարիդներ

### 10.2.1. Օլիգոսախարիդների կառուցվածքը

Դրանք կազմված են մոնոսախարիդների մնացորդներից (2-10), կապված իրար հետ գլիկոզիդային կապերով, որոնք թթվային լուծույթում հեշտությամբ քայքայվում են: Ազատ վիճակում օլիգոսա-

խարիդները լայն տարածված են բուսական բջիջներում և կենդանիների հյուսվածքներում: Կապված վիճակում նրանք պոլիսախարիդների կառուցվածքային միավորներն են, գտնվում են մարդկանց, կենդանիների, բույսերի, միկրոօրգանիզմների բջիջներում:

Կախված մոնոսախարիդների քանակից՝ օլիգոսախարիդները դասակարգվում են դի-, տրի-, տետրա- և այլ սախարիդների: Մոնոսախարիդների մնացորդները կարող են իրար միանալ կամ միայն կիսասացետալային հիդրօքսիլային խմբերի հաշվին կամ էլ մեկ մոնոսախարիդի կիսասացետալային և մյուս մոնոսախարիդի սպիրտային հիդրօքսիլային խմբերի հաշվին:



Առաջին դեպքում առաջացած օլիգոսախարիդը դասվում է չվերականգնվողների խմբին (օրինակ՝ տրեգալոզ, ռաֆինոզ), քանի որ նրանք այլևս չեն կարող ցուցաբերել ալդեհիդներին բնորոշ ռեակցիաներ: Երկրորդ դեպքում մոնոսախարիդներից մեկը, որի մոտ պահպանվել է ազատ կիսասացետալային հիդրօքսիլային խումբը, կարող է հանդես գալ բացված վիճակում և ցուցաբերել վերականգնող հատկություն (օրինակ՝ մալտոզ, ցելոբիոզ): Վերականգնող օլի-

գոսախարիդների առաջացմանը կարող են մասնակցել տարբեր սպիրտային OH խմբեր:

Երկու տեսակի օլիգոսախարիդներն էլ հանդես են գալիս  $\alpha$ - և  $\beta$ -անոմերային ձևերով: Օլիգոսախարիդների կառուցվածքը կարող է լինել ինչպես զծային (օրինակ՝ մալտոտրիոզ), այնպես էլ ճյուղավորված (օրինակ՝ ռաֆինոզ):

**Օլիգոսախարիդների անվանակարգությունը:** Որոշ օլիգոսախարիդներ ունեն տրիվիալ անվանումներ, օրինակ՝ մալտոզ, ցելոբիոզ, լակտոզ և այլն: Գոյություն ունի նաև օլիգոսախարիդների համակարգված անվանակարգություն, համաձայն որի՝ օգտագործվում է երկու համակարգ: Ըստ առաջին համակարգի՝ վերականգնող օլիգոսախարիդներն անվանվում են գլիկոզիլադոզաներ կամ գլիկոզիլետոզներ: Գլիկոզիդային կապի դիրքը և ուղղվածությունը ցուցադրվում են ածխածնի ատոմների համարով, որոնց մոտ տեղի է ունեցել տեղակալումը:  $\alpha$ - և  $\beta$ -սիմվոլներով նշանակվում է գլիկոզիդային կապի ստերեոքիմիան,  $D$ - կամ  $L$ -սիմվոլներով՝ մոնոսախարիդային մնացորդների կոնֆիգուրացիան և  $O$ -սիմվոլով՝ տեղակալումը թթվածնի ատոմի մոտ: Այդ համակարգի համաձայն՝ մալտոզները պետք է անվանվեն  $4-O-\alpha-D$ -գլյուկոպիրանոզիլ- $D$ -գլյուկոպիրանոզներ, իսկ լակտոզները՝  $4-O-\beta-D$ -գալակտոպիրանոզիլ- $D$ -գլյուկոպիրանոզներ:

Չվերականգնվող շաքար տրեզալոզն անվանվում է  $1-O-\alpha-D$ -գլյուկոպիրանոզիլ- $\alpha-D$ -գլյուկոպիրանոզիդ: Մոնոսախարիդների թիվը օլիգոսախարիդում աճելու դեպքում գլիկոզիդային կապը նշանակվում է 2 նիշով, որոնց միջև դրվում է սլաք: Օրինակ՝ մալտոտրիոզն անվանվում է  $O-\alpha-D$ -գլյուկոպիրանոզիլ-(1→4)- $O-\alpha-D$ -գլյուկոպիրանոզիլ-(1→4)- $D$ -գլյուկոպիրանոզ:

Հաշվի առնելով նման անվանակարգման բարդությունը՝ երաշխավորվում է օգտագործել անվանակարգման կրճատ ձևը, համաձայն որի՝ մոնոսախարիդային մնացորդները անվանվում են առաջին երեք լատինական տառերով, օրինակ՝ գլյուկոզը անվանվում է Glc: Դրանից հետո նշվում է մոնոսախարիդի ձևը, օրինակ՝ պիրանո-

զի դեպքում՝ ք, ֆուրանոզի դեպքում՝ ֆ: Համաձայն այդ դասակարգման՝ մալտոզը կարտահայտվի հետևյալ ձևով՝ 4-O- $\alpha$ -D-Glcp-D-Glcp, իսկ մալտոտրիոզը՝ O- $\alpha$ -D-Glcp-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-Glcp-(1 $\rightarrow$ 4)-D-Glcp:

Երկրորդ համակարգն էությամբ նման է ածխաջրերի անվանակարգմանը: Օլիգոսախարիդի անվանումը կազմվում է նրա գծային սեգմենտի անվանումից, ընդ որում՝ վերջիններիս անվանման համար օգտագործվում է տրիվիալ անվանումը: Որոշակի մնացորդի մոտ տեղակալումը նշվում է համապատասխան համարով՝ վերևից ինդեքսով նշելով մոնոսախարիդը, որը պարունակում է տեղակալված խումբ: Ընդ որում՝ 1 համարը միշտ տրվում է վերականգնող մնացորդին: Համաձայն այդ համակարգի՝ մալտոտրիոզան կարելի է անվանել հետևյալ ձևով՝ 4<sup>2</sup>- $\alpha$ -D-գլյուկոպիրանոզիլմալտոզ (4<sup>2</sup>-ը նշանակում է, որ տեղակալումը տեղի է ունեցել մալտոզի II գլիկոզիլային մնացորդի C<sub>4</sub> ածխածնի մոտ):

**Օլիգոսախարիդների հապկությունները:** Դրանք պինդ նյութեր կամ թանձրահյութեր են: Դրանցից շատերը լավ լուծվում են ջրում, սակայն մոլեկուլային զանգվածի մեծացմանը զուգընթաց ջրում նրանց լուծելիությունը կտրուկ ընկնում է: Օլիգոսախարիդները մոնոսախարիդների նման դժվար են բյուրեղացվում: Սովորաբար բյուրեղացման համար որպես լուծիչ օգտագործվում է ջուրը: Թթուների ազդեցությամբ օլիգոսախարիդները քայքայվում են՝ առաջացնելով մոնոսախարիդներ, իսկ հիմքերի ազդեցությամբ հեշտությամբ իզոմերվում են:

Գլիկոզիդային կապերը հեշտությամբ ճեղքվում են նաև ֆերմենտների ազդեցությամբ: Հատուկ գլյուկոզիդազները մեծ սպեցիֆիկությամբ ճեղքում են խիստ որոշակի դիրքում գտնվող գլիկոզիդային կապերը, ինչը հաճախ օգտագործվում է գլիկոզիդային կապի կոնֆիգուրացիայի որոշման համար: Օրինակ՝ մալտազը ճեղքում է միայն մալտոզի  $\alpha$ -գլիկոզիդային կապը և չի ազդում ցելոբիոզի վրա:

### 10.2.2. *Գլիկոզիդային կապերի առաջացման մեթոդները*

Մոնոսախարիդներից օլիգոսախարիդների առաջացման մեթոդները կապված են երկու հիմնական խնդիրների լուծման հետ.

- հիդրօքսիլային խմբերի պաշտպանում,
- գլիկոզիդային կապի առաջացում:

Պաշտպանող խմբերի ընտրությունը կատարվում է՝ ելնելով հետևյալ հիմնական պահանջներից՝ պաշտպանող խմբերը գլիկոզիդային կապի առաջացման պրոցեսում պետք է լինեն իներտ և հեռանա առանց այդ կապերի քայքայման: Ածխաջրերի քիմիայում այդ նպատակի համար ավելի հաճախ օգտագործում են սցետիլային, բենզոիլային, տոզիլային, տրիտիլային, բենզիլային, իզոպրոպիլիդենային, բենզիլիդենային և այլ ածանցյալներ: Հաճախ պաշտպանում են բոլոր OH խմբերը և հետո սելեկտիվ ձևով հեռացնում այն հիդրօքսիլային խմբի պաշտպանող խումբը, որը պետք է մասնակցի գլիկոզիդային կապի առաջացմանը:

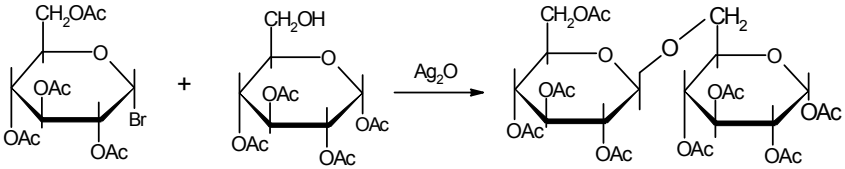
Հայտնի են գլիկոզիդային կապի առաջացման մի շարք մեթոդներ:

***Քենիզու Կնորեի մեթոդ:*** Քենիզու Կնորեի ռեակցիայի հիմքում ընկած է ացիլգլիկոզիլիալոզենիդների և միայն մեկ ազատ սպիրտային OH խումբ պարունակող պաշտպանված մոնոսախարիդների փոխազդեցությունը: Որպես հալոգենաջրածնի ակցեպտոր՝ օգտագործվում են արծաթի կարբոնատ կամ օքսիդ, սնդիկի սցետատ կամ ցիանիդ, իսկ ջրի կապման համար ավելացվում է չոր  $\text{CaSO}_4$ : Ռեակցիայի ուղղվածությունը կախված է ացիլհալոգենոզի կառուցվածքից, հատկապես  $\text{C}_1$  և  $\text{C}_2$  ատոմների մոտ տեղակալիչների համեմատական կոնֆիգուրացիայից:

1,2-*ցիս*-ացիլհալոզենոզների ռեակցիան ընթանում է  $\text{S}_{\text{N}}2$  մեխանիզմով և բերում է 1,2-*տրանս* գլիկոզիդային կապի առաջացմանը: Օրինակ՝ տետրա-*Օ*-ացետիլ- $\alpha$ -*D*-գլյուկո-պիրանոզիլբրոմիդի և 1,2,3,4-տետրա-*Օ*-ացետիլ- $\alpha$ -*D*-գլյուկոպիրանոզի փոխազդեցության արդյունքում առաջանում է  $\alpha$ -գենցիոբիոզի օկտասցետատ (սխեմա 165):



## Սխեմա 165



տետրա-Օ-ացետիլ- $\alpha$ -D-  
գլյուկոպիրանոզիլբրոմիդ

1,2,3,4-տետրա-Օ-ացետիլ-  
 $\alpha$ -D-գլյուկոպիրանոզ

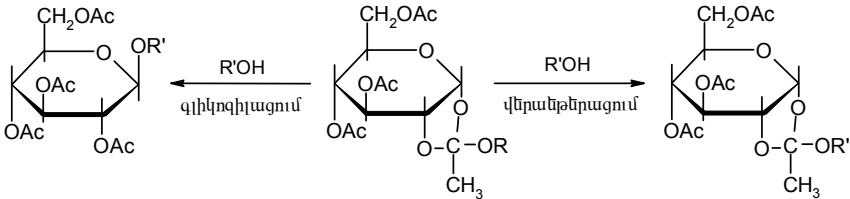
$\alpha$ -գենցիոբիոզի օկտաացետատ

1,2-*տրանս*-ացիլիալոզենոզների դեպքում ռեակցիան կարող է ընթանալ ինչպես կոնֆիգուրացիայի փոփոխությամբ՝ 1,2-*ցիս*-գլիկոզիդային կապով օլիգոսախարիդի առաջացմամբ, այնպես էլ առանց կոնֆիգուրացիայի փոփոխության: Առաջացած արգասիքների հարաբերությունը կախված է ռեակցիայի պայմաններից, լուծույթի պտտությունից և ջերմաստիճանից:

Սովորաբար 1,2-*ցիս*-օլիգոսախարիդների ելքը մեծ չէ, դրա համար Քեննիգս Կնորեի ռեակցիան հիմնականում դիտվում է որպես 1,2-*տրանս*-օլիգոսախարիդների սինթեզի մեթոդ:

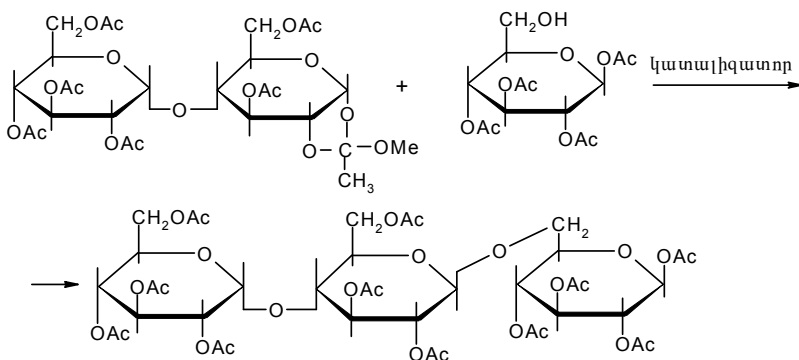
**Օրթոթերային մեթոդ:** Մոնոսախարիդների օրթոթերները սպիրտների հետ փոխազդեցության ժամանակ ենթարկվում են *վերաթերացման* կամ *գլիկոզիլացման* (սխեմա 166):

## Սխեմա 166



Քիչ բևեռային լուծիչներում կատալիզատորների ներկայությամբ մախընտրաբար ընթանում է վերաթերացման ռեակցիան: Այն օգտագործվում է, օրինակ, տրիսախարիդների ստացման համար (սխեմա 167):

## Սխեմա 167



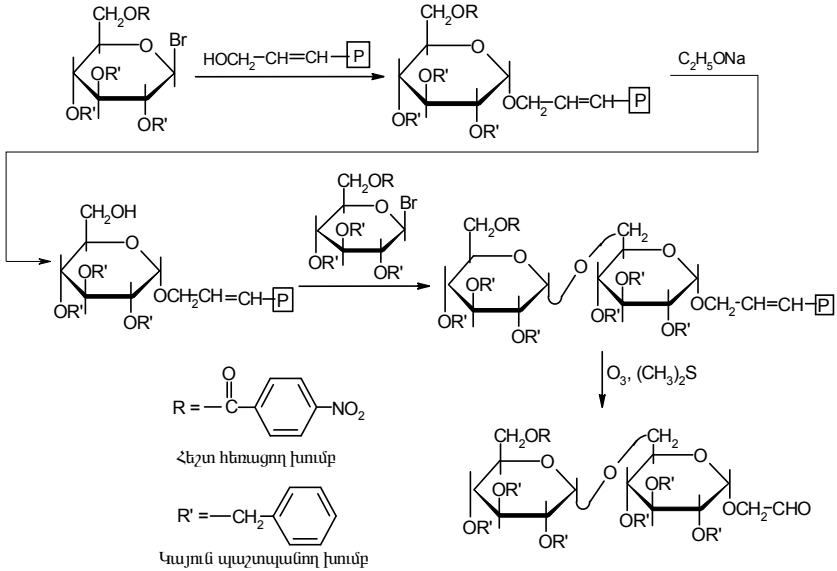
Այդ մեթոդը ավելի մեծ ելքեր է ապահովում, քան Քենիգս Կոնրեի մեթոդը:

**Օլիգոսախարիդների պինդֆազային սինթեզը:** Մշակվել է պոլիմերային հենքի վրա օլիգոսախարիդների սինթեզի մեթոդ, որն էությանը շատ նման է պոլիմերային հենքի վրա պեպտիդային սինթեզին: Որպես պոլիմեր՝ օգտագործվել է պոլի-[n-(1-օբսիպրոպեն-3-իլ-1)]-ստիրոլը: Այն իրենից ներկայացնում է ստիրոլի և դիվինիլբենզոլի հոմոպոլիմեր՝ մինչև 1-2% դիվինիլբենզոլի և 10% ալիլսպիրտի մնացորդների պարունակությամբ: Ընդ որում՝ մոնոսախարիդի մնացորդը պետք է 1-ին դիրքում պարունակի ռեակցիոնունակ խումբ, սովորաբար՝ Br: Հիդրօբսիլային խմբերից մեկը, որը պետք է մասնակցի գլիկոզիդային կապի առաջացմանը, շրջափակվում է համեմատաբար հեշտ հեռացվող պաշտպանիչ խմբով, իսկ մնացած OH խմբերը՝ կայուն պաշտպանիչ խմբերով: Օլիգոսախարիդի ամբողջ շղթան սինթեզվում է բարձրամոլեկուլային պոլիմերի հենքի վրա:

Որպես հեշտ հեռացող պաշտպանիչ խումբ՝ կարելի է օգտագործել, օրինակ, p-նիտրոբենզոիլային ածանցյալը, իսկ որպես դժվար հեռացող կայուն պաշտպանիչ խումբ՝ բենզիլային խումբը: Առաջին էտապում մոնոսախարիդը իր ակտիվ գլիկոզիդային Br տեղակալիչի շնորհիվ կովալենտային ձևով կապվում է պոլիմերի ալիլսպիրտային մնացորդի հետ: Այնուհետև պոլիմերի մակերեսին նստած գլյուկոզի

մնացորդի 6-րդ դիրքի հիդրօքսիլի նիտրոբենզոլիլային պաշտպանիչ խումբը հեռացվում է նատրիումի մեթիլատի միջոցով՝ հիմք ստեղծելով հաջորդ գլյուկոզի մնացորդի միացման համար: Ազատված C<sub>6</sub>-OH-ը կոնդենսվում է հաջորդ ակտիվ բրոմտեղակաված մոնոսախարիդի մնացորդի հետ՝ առաջացնելով առաջին 1→6 գլիկոզիդային կապը պոլիմերի մակերեսին, և այսպես շարունակ՝ մինչև անհրաժեշտ օլիգոշաքարային շղթայի սինթեզը: Ռեակցիայի ավարտից հետո առաջացած օլիգոսախարիդը առանձնացվում է պոլիմերային խեժից օզոնի միջոցով օքսիդացմամբ (սխեմա 168):

**Սխեմա 168**



**Օլիգոսախարիդների ֆերմենտատիվ սինթեզը:** Բջջիջներում օլիգոսախարիդների կենսասինթեզն իրականացվում է նրանց տրանս-գլիկոզիլացմամբ տրանսգլիկոզիլազ ֆերմենտների միջոցով: Այդ պրոցեսում գլիկոզիլային մնացորդների դերում հանդես են գալիս շաքարների ֆոսֆատները, նուկլեոտիդները և օլիգոսախարիդները, իսկ ակցետատորի դերում՝ հիդրօքսիլ պարունակող միացությունները:

Տրանսգլիկոզիլազները ցուցաբերում են սպեցիֆիկություն որոշակի կոնֆիգուրացիայով գլիկոզիդային կապերով դոնորների նկատմամբ և իրականացնում են գլիկոզիլային մնացորդի տեղափոխում կոնֆիգուրացիայի պահպանմամբ:

*In vitro* կենսասինթեզի պրոցեսների իրականացման համար օգտագործում են ֆերմենտներ, որոնք անջատում են միկրոօրգանիզմներից, բուսական կամ կենդանական ծագում ունեցող բջիջներից և հյուսվածքներից: Այդ ֆերմենտներով առավել հարուստ է լյարդը: Դրանց տիպիկ օրինակ է սախարոզի կամ տրեզալոզի ֆերմենտային սինթեզը: Ֆերմենտային սինթեզը կապված է որոշ դժվարությունների հետ, որոնք առաջին հերթին պայմանավորված են ֆերմենտների անջատման և մաքրման խնդիրներով:

### 10.3. Պոլիսախարիդներ

Պոլիսախարիդներ են անվանվում բարձրամոլեկուլային ածխաջրերը, որոնք կարելի է դիտել որպես մոնոսախարիդների կամ նրանց ածանցյալների պոլիկոնդենսման արդյունք: Դրանք բավականին տարածված են բնության մեջ և կազմում են երկրագնդի վրա կենսապոլիմերների գերակշռող մասը՝ հանդիսանալով բոլոր կենդանական և բուսական բջիջների, ինչպես նաև որոշ միկրոօրգանիզմների բաղադրամասերը: Բույսերը պարունակում են 80-90% պոլիսախարիդներ և համարվում են նրանց ստացման հիմնական աղբյուրը: Դրանք իրականացնում են հենքի դեր, ապահովում են բջիջների կամ նրանց ազրեզատների ամրությունը և տարբերվում են թթվային ու ֆերմենտային հիդրոլիզի նկատմամբ կայունությամբ  $\beta$ -գլիկոզիդային կապի առկայության շնորհիվ, օրինակ՝ ցելյուլոզը՝ որպես բույսերի հիմնական պոլիսախարիդ և այլն:

Ներբջջային պոլիսախարիդները համարվում են էներգիական, օրինակ՝ մկանների գլիկոգենը կամ բույսերի օսլան: Այդ միացություններն ունեն լաբիլ  $\alpha$ -գլիկոզիդային կապ, որոնք հեշտությամբ քայքայվում են թթվային կամ ֆերմենտային հիդրոլիզի ժամանակ:

Կենդանիների հյուսվածքների պոլիսախարիդները (հեպարին, հիալուրոնաթթու և այլն) իրականացնում են պաշտպանական և իմունային ֆունկցիաներ: Դրանք ունեն ավելի բարդ կառուցվածք՝ համեմատած մանրէային և բուսական ծագում ունեցող պոլիսախարիդների հետ: Դրանց բնութագրական կողմն այն է, որ նրանք պարունակում են մի քանի տեսակի մոնոսախարիդներ և գլիկոզիդային կապեր:

Պոլիսախարիդների սկզբնական անվանումը սովորաբար կապված է եղել նրանց անջատման աղբյուրի հետ (օսլա, ցելյուլոզ և այլն): Ներկայումս օգտագործվում է համակարգված անվանակարգություն, համաձայն որի՝ պոլիսախարիդի անվանումը կազմվում է մոնոսախարիդի անվանումից, միայն «ոզ» վերջավորությունը փոխվում է «ան» վերջավորությամբ, օրինակ՝ գլյուկոզի պոլիսախարիդը՝ գլյուկան, մանոզինը՝ մանան և այլն:

Պոլիսախարիդները, ըստ քիմիական կառուցվածքի, բաժանվում են հոմոգլիկանների (հոմոպոլիսախարիդների) և հետերոգլիկանների (հետերոպոլիսախարիդների): Հոմոգլիկանները հիդրոլիզի ժամանակ առաջացնում են միայն մեկ մոնոսախարիդ, օրինակ՝ օսլան, ցելյուլոզը, խիտինը: Իսկ հետերոգլիկանները հիդրոլիզի ժամանակ առաջացնում են մի քանի մոնոսախարիդներ, օրինակ՝ հեմիցելյուլոզը և այլն:

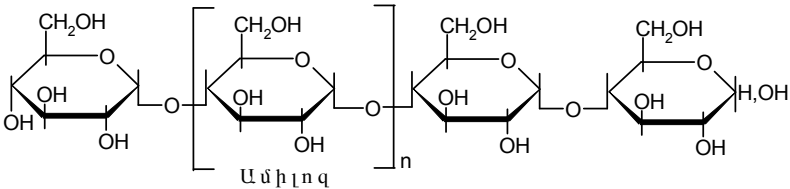
Պոլիսախարիդները սովորաբար անջատվում են պինդ ամորֆ փոշու ձևով: Դրանք լավ լուծվում են ջրում, ավելի վատ՝ դիմեթիլֆորմամիդում և դիմեթիլսուլֆօքսիդում, գործնականում չեն լուծվում ցածր սպիրտներում:

Պոլիսախարիդների շղթայի վերջում սովորաբար գտնվում է շաքարի վերականգնող մնացորդը, սակայն, քանի որ այդ մնացորդի տեսակարար զանգվածը ամբողջ մոլեկուլի համեմատ շատ փոքր է, պոլիսախարիդներում վերականգնող հատկությունը շատ թույլ է արտահայտված:

### 10.3.1. Պոլիսախարիդների որոշ ներկայացուցիչներ

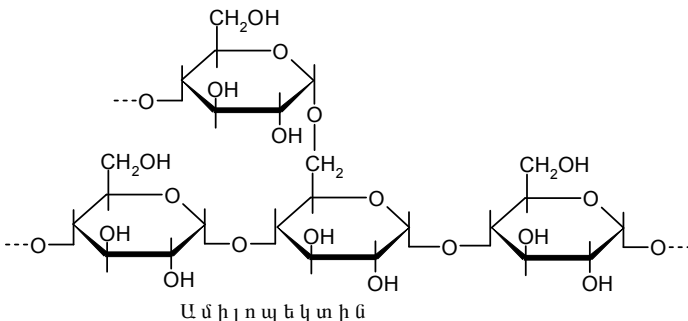
**Օսլա:** Օսլան բույսերի հիմնական պահեստային ածխաջուրն է, և այն կազմում է բուսական հյուսվածքների չոր զանգվածի 30-60%-ը: Այն կազմված է գլյուկոզ պարունակող երկու հոմոպոլիսախարիդներից՝ *ամիլոզից* և *ամիլոպեկտինից*: Կախված անջատման աղբյուրից՝ դրանց հարաբերությունն օսլայում տատանվում է և հավասար է 1:6 կամ 1:3, իսկ առանձին դեպքերում՝ 3:1: Իսկ որոշ բույսերի օսլան ընդհանրապես չի պարունակում ամիլոզ:

*Ամիլոզն* իրենից ներկայացնում է *D*-գլյուկոզի մնացորդներից կազմված չճյուղավորված պոլիմեր՝ միացած իրար հետ  $\alpha$ -(1→4) գլիկոզիդային կապերով, մոլային զանգվածը՝ 50.000:



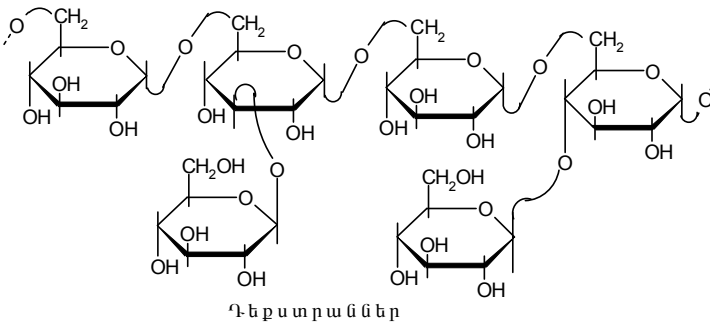
Ամիլոզի ֆերմենտային հիդրոլիզի ժամանակ, որպես վերջնական արգասիք, առաջանում է մալտոզ դիսախարիդ:

*Ամիլոպեկտինն* իրենից ներկայացնում է ճյուղավորված կառուցվածք, որը նույնպես կազմված է *D*-գլյուկոզի մնացորդներից: Ամիլոպեկտինի գծային շղթան պարունակում է  $\alpha$ -(1→4) գլիկոզիդային կապ, իսկ ճյուղավորված հատվածները՝  $\alpha$ -(1→6):



**Գլիկոզեն:** Գլիկոզենը կենդանի օրգանիզմի ածխաջրերի հիմնական պահեստային ձևն է: Այն իր կառուցվածքով շատ նման է ամիլոպեկտինին և կազմված է *D*-գլյուկոզի մնացորդներից, որոնք կապված են իրար հետ  $\alpha$ -(1→4) և  $\alpha$ -(1→6) գլիկոզիդային կապերով: Սակայն, ի տարբերություն ամիլոպեկտինի, գլիկոզենն ունի ավելի մեծ մոլեկուլային զանգված:

**Դեքստրաններ:** Դրանք հոմոպոլիսախարիդներ են, որոնք կազմված են *D*-գլյուկոզի մնացորդներից՝  $\alpha$ -(1→6) գլիկոզիդային կապերի գերակշռմամբ: Կողբային ճյուղավորումները կապված են կենտրոնական շղթայի հետ 3-րդ և 4-րդ դիրքերով:

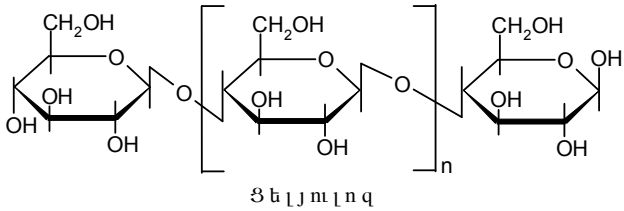


Դեքստրանները առաջանում են շաքարներից հատուկ դեքստրանասախարազ ֆերմենտների ազդեցությամբ, որոնք սինթեզվում են *Leuconostoc misenteroides* դասի մանրէների կողմից: Կախված օգտագործվող շտամի ակտիվությունից՝ դեքստրանը սինթեզվում է տարբեր ճյուղավորվածությամբ:

Դեքստրանը բժշկության մեջ կիրառություն է գտել որպես արյան պլազմայի փոխարինող: Անհրաժեշտ է նշել, որ ֆերմենտային եղանակով ստացված դեքստրանը անմիջապես չի կարելի օգտագործել որպես ներարկման դեղապատրաստուկ: Դրա համար նախօրոք անհրաժեշտ է թթվային հիդրոլիզի կամ ուլտրաձայների միջոցով նրա մոլեկուլը ենթարկել ճեղքման՝ մինչև 50.000-70.000 մոլեկուլային զանգվածով ֆրագմենտների առաջացմամբ:

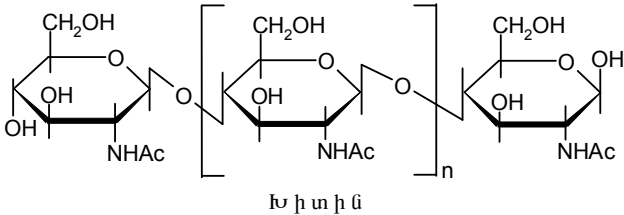
**Ֆելյուլոզ:** Ֆելյուլոզը համարվում է առավել տարածված բուսական հոմոպոլիսախարիդ: Նա կատարում է բույսերի, բուսական նյութի հենքի դերը և իրենից ներկայացնում է պոլիմեր՝ կազմված 600-9.000 գլյուկոզի մնացորդներից՝ 100.000-1.500.000 միջին մոլեկուլային զանգվածով:

Ֆելյուլոզի մոլեկուլում *D*-գլյուկոզի մնացորդները կապված են իրար  $\beta$ -(1→4) գլիկոզիդային կապերով, ինչն էլ որոշում է նրա գծային կառուցվածքը: Ֆելյուլոզի կառուցվածքային յուրահատկություններն ապահովում են նրա բնութագրիչ մեխանիկական ամրությունը և կայունությունը տարբեր քիմիական ռեագենտների հանդեպ:



Ֆելյուլոզը, որպես  $\beta$ -գլյուկան, չի ճեղքվում աղեստամոքսային տրակտի սովորական ֆերմենտների (ամիլազ, մալտազ) ազդեցությամբ:

**Խիտին:** Խիտինը հոմոպոլիսախարիդ է, որը պարունակում է ամինոշաքարային մնացորդներ: Այն կազմված է *N*-ացետիլգլյուկոզամինի մնացորդներից, որոնք կապված են իրար հետ  $\beta$ -(1→4) գլիկոզիդային կապերով:





## 10.4. Սպիտակուցաածխաջրային կոմպլեքսների սպիտակուցային բաղադրիչը

Սպիտակուցաածխաջրային կոմպլեքսի սպիտակուցային բաղադրիչը կազմված է պեպտիդային կապով իրար միացած ամինաթթուներից: Նրանց մոտ նկատվում են որոշ բնորոշ յուրահատկություններ՝ արոմատիկ և ծծումբ պարունակող ամինաթթուների համեմատաբար ցածր պարունակություն, իսկ որոշ գլիկոպրոտեինների մոտ նաև օքսիհամինաթթուների (Ser, Thr) բարձր պարունակություն:

### 10.4.1. Դասակարգումը

Դրանք խառը կենսապոլիմերներ են, որոնց դասակարգումը կառուցվածքի բարդության պատճառով կապված է դժվարությունների հետ: Ներկայումս, որպես ավելի իրական, ընդունված է Գոտշալկի դասակարգման համակարգը, համաձայն որի՝ բոլոր սպիտակուցաածխաջրային կոմպլեքսները դասակարգվում են երկու հիմնական խմբի:

**Ա. Պոլիսախարիդ-սպիտակուցային կոմպլեքսներ:** Դրանք բնութագրվում են իրենց կազմում կրկնվող հատվածների և համեմատաբար մեծ թվով մոնոսախարիդային մնացորդների առկայությամբ: Պոլիսախարիդի և սպիտակուցի միջև կապը *կովալենտ* է կամ *էլեկտրոստատիկ*:

**Բ. Գլիկոպրոտեիններ:** Դրանք կոնյուգացված սպիտակուցներ են, որոնք, որպես պրոստետիկ խումբ, պարունակում են մեկ կամ մի քանի հետերոսախարիդներ՝ համեմատաբար ոչ մեծ թվով մոնոսախարիդների մնացորդներով, որոնք չունեն կրկնվող հատվածներ և կապված են պոլիպեպտիդային շղթայի հետ կովալենտ կապով:

Ա խմբի կենսապոլիմերների համար բնութագրական է ածխաջրերի բարձր պարունակությունը՝ 70-80%: Դրանցից որոշները սուլֆիրացված են և համարվում են ուժեղ թթուներ: Դրանց ածխաջրային ֆրագմենտները ունեն կանոնավոր կառուցվածք, և ածխաջուրը կապված է պեպտիդի հետ կովալենտ կապով (օրինակ՝ հեպարինը,

խոնդրոիտինսուլֆատը և այլն) կամ իոնական և ջրածնական կապերով (օրինակ՝ գլիկուրոնոգլիկոզիլամինոգլիկանները և այլն):

**B** խմբի կամ գլիկուպրոտեինների մոտ առավելությունը պատկանում է սպիտակուցային ֆրագմենտին, ինչի կապակցությամբ նրանք ունեն որոշ կառուցվածքային առանձնահատկություններ, որով տարբերվում են **A** խմբի կենսապոլիմերներից: Ածխաջրային ֆրագմենտներն ավելի հաճախ ներկայացվում են ոչ կանոնավոր կառուցվածքով՝ օլիգո- կամ պոլիսախարիդների տեսքով:

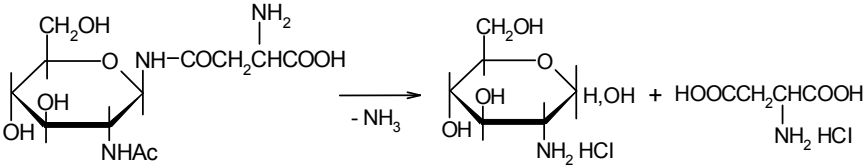
Շղթայում մոնոսախարիդների պոլիմերման աստիճանը մեծ չէ: Որոշ գլիկուպրոտեիններ պարունակում են դիսախարիդներ, որոշները՝ օկտասախարիդներ և այլն: Ընդհանուր առմամբ՝ գլիկուպրոտեինների մոլեկուլը կարելի է ներկայացնել մեկ կամ մի քանի պեպտիդային կապերով, որոնց հետ սերինի և թրեոնինի մնացորդների OH խմբերի կամ ասպարազինաթթվի COOH խմբի միջոցով կապված են մեկ կամ մի քանի հետերոսախարիդային մնացորդներ՝ ~512-35.000 մոլեկուլային զանգվածով: Գլիկուպրոտեինների մոլեկուլային զանգվածը տատանվում է 16.000-ից մինչև մի քանի միլիոնի սահմաններում:

#### ***10.4.2. Կոմպլեքսում սպիտակուցի և ածխաջրի կապի տեսակները***

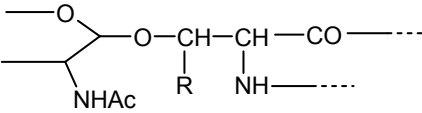
Հեպարինի և խոնդրոիտինսուլֆատի կառուցվածքում, որոնք նախկինում համարվել են պոլիսախարիդներ, պոլիսախարիդը կապված է սպիտակուցի հետ հիմնալաբիլ կապերով: Մյուս կողմից՝ շատ ածխաջրասպիտակուցային կոմպլեքսներ պարունակում են հիմքերի նկատմամբ կայուն ածխաջուր-ամինաթթու կապեր: Այդ կարգի կապերը հայտնաբերվել են այն բանից հետո, երբ գլիկուպրոտեինը ենթարկվել է ֆերմենտային դեստրուկցիայի (օրինակ՝ պրոնազ ֆերմենտի միջոցով) մինչև գլիկոպեպտիդների, իսկ այնուհետև վերջինիս պեպտիդային շղթան կարճացվել է մինչև մեկ ամինաթթվի ֆերմենտային եղանակով (օրինակ՝ պեպսին և կարբօքսիպեպտիդազ ֆերմենտների միջոցով): Օրինակ՝ ձվի ալբումինի դեստրուկցիայի

արդյունքում ստացվել է հետերոսախարիդ՝ կապված ասպարագինաթթվի (Asp) մեկ մնացորդի հետ: Այդ ամինաթթվի և շաքարի միջև կապը բավականին կայուն է հիմնային միջավայրում, իսկ թթվային միջավայրում այն ավելի կայուն է, քան գլիկոզիդային կապը: Այդպիսի հետերոսախարիդի (կապված Asp մնացորդի հետ) մասնակի հիդրոլիզից հետո ստացվել է ցածրամոլեկուլային մոնոսախարիդ՝ կապված ամինաթթվային մնացորդի հետ՝ Asp-N-ացետիլգլյուկոզամին: Իսկ այդ միացության թթվային հիդրոլիզից անջատվել են ամոնիակ, ասպարագինաթթու և 2-ամինո-2-դեզօքսիգլյուկոպիրանոզ: Դա վկայում է այն մասին, որ ելային կենսապոլիմերի կառուցվածքում շաքարի մնացորդը և ամինաթթուն կապված են ամիդային կապով (սխեմա 169):

**Սխեմա 169**



Հիմնալաբիլ կապերով ածխաջրասպիտակուցային կոմպլեքսների հետազոտությունը հնարավորություն է տվել բացահայտելու ամինաշաքարների և օքսիամինաթթուների (Ser, Thr) միջև առաջացած O-գլիկոզիդային կապերի առկայությունը նրանց կառուցվածքում:

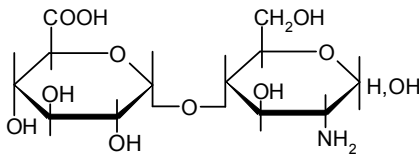


Նման կարգի կապեր հայտնաբերված են հեպարինում, խոնդրոիտինսուլֆատում և այլ ածխաջուր-սպիտակուցային կոմպլեքսներում: Ածխաջրային օղակի և պեպտիդային շղթայի միջև կապող օղակը համարվում են քսիլոզը և սերինը:

### 10.4.3. Որոշ հայտնի ածխաջուր-սպիտակուցային կոմպլեքսներ

**Հեպարին:** Հեպարինը հյուսվածքների թթվային ածխաջրասպիտակուցային կոմպլեքս է: Այն արտադրվում է երիկամների կողմից, քիչ քանակությամբ պարունակվում է մկաններում, թրագեղձերում, վահանաձև գեղձում: Սովորաբար հեպարինն անջատվում է խոշոր եղջերավոր անասունների երիկամներից և թոքերից՝ Na-ական աղի տեսքով, որը իրենից ներկայացնում է ամորֆ, սպիտակ փոշի: Այն լավ լուծվում է ջրում և հիմնային լուծույթներում, չի լուծվում օրգանական լուծիչներում:

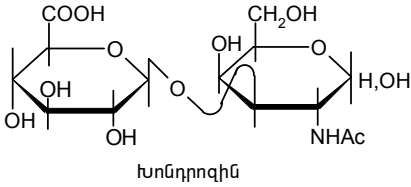
Հեպարինը սուլֆացված է, չորս մոնոսախարիդային օղակներում միջին հաշվով պարունակում է ծծմբական թթվի հինգ մնացորդներ, ընդ որում՝ ի տարբերություն այլ մուկոպոլիսախարիդների՝ հեպարինի մոտ սուլֆացված են նաև  $\text{NH}_2$  խմբերը: Հեպարինը կարելի է քայքայել, ճեղքել օլիգոսախարիդների միայն դեսուլֆացումից հետո: Առաջացած օլիգոսախարիդների կառուցվածքի հետազոտումից հետո ենթադրվել է, որ այդ պոլիմերի կառուցվածքային միավորը համարվում է 4-O- $\alpha$ -D-գլյուկոպիրանոսուրոնոզիլ-2-ամինո-2-դեօքսի-գլյուկոպիրանոզը:



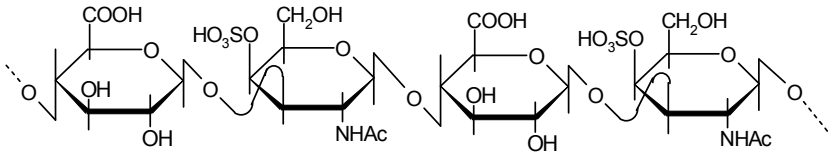
Հեպարինի մոլեկուլը պարունակում է շաքարային շղթա, որը կազմված է իրար հետ  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)-գլիկոզիդային կապերով կապված դիսախարիդի 50 մնացորդներից, մոլեկուլային զանգվածը՝ 16.000-20.000: Հեպարինը պարունակում է նաև պեպտիդային բաղադրիչ, որը կապված է պոլիսախարիդի հետ հիմնալարելի կովալենտ կապով: Այդ կապը պարունակող հատվածների կառուցվածքը պարզվել է թթվային հիդրոլիզատի անալիզի արդյունքում: Հեպարինի թթվային հիդրոլիզի և հիդրոլիզի արգասիքի դեսուլֆացման դեպքում առաջանում է օլիգոսախարիդ, որը պարունակում է L-սերին ամինաթթուն:

Հեպարինի մոտ, ինչպես նաև այլ սուլֆուրացված պոլիսախարիդների դեպքում, նկատվում է սուլֆոխմբերի կողմնորոշում պարույրի արտաքին մակերեսին, ինչի շնորհիվ այն ձեռք է բերում բարձր մակերեսային լիցք: Նախկինում ենթադրվում էր, որ սուլֆոխմբերը իրար հետ կապվում են կովալենտային կապով: Սակայն հետագա հետազոտությունների արդյունքում պարզվել է, որ հեպարինի կոնֆիգուրացիան կայունանում է հիմնականում ոչ թե կովալենտային, այլ ջրածնական կապերի հաշվին, որոնք առաջանում են N-սուլֆոխմբի և հարևան մնացորդի C<sub>3</sub>-ի մոտ գտնվող OH խմբի մասնակցությամբ: Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ սուլֆոխմբերի 33%-ը հեռացնելու դեպքում տեղի են ունենում մոլեկուլի կոնֆիգուրացիայի փոփոխություն և կենսաբանական ակտիվության անկում:

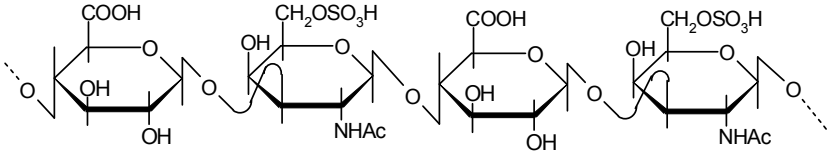
**Խոնդրոիտինսուլֆատներ:** *Խոնդրոիտինսուլֆատները* (կամ *խոնդրոիտինծմբակաև թթուն*) պարունակվում են մաշկում, ոսկրային հյուսվածքներում և այլ օրգաններում: Խոնդրոիտինսուլֆատների հիդրոլիզի ժամանակ հիդրոլիզատներում հայտնաբերվել է *խոնդրոզին* դիսախարիդը:



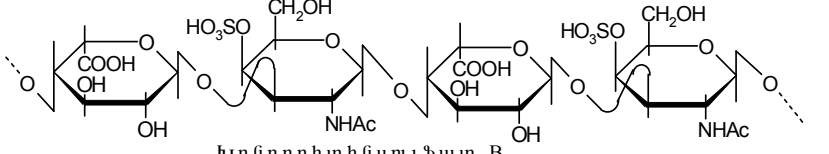
Գոյություն ունեն խոնդրոիտինսուլֆատների մի քանի տեսակներ՝ A, B, C և D, որոնք միմյանցից տարբերվում են ամիսաջրային մասի կառուցվածքով, հատկություններով և ֆերմենտների նկատմամբ խնամակցությամբ: Խոնդրոիտինսուլֆատներ A-ն և C-ն պարունակում են պոլիսախարիդ՝ կազմված հիմնականում խոնդրոզինի մնացորդներից, որոնք կապված են իրար հետ  $\beta$ -(1→4) գլիկոզիդային կապերով: A-ն և C-ն տարբերվում են իրարից խոնդրոզինի մնացորդի սուլֆոխմբի դիրքով: Խոնդրոիտինսուլֆատ A-ի դեպքում սուլֆոխմբերը գտնվում է գալակտոզամինի C<sub>4</sub> դիրքում, իսկ C-ի դեպքում՝ C<sub>6</sub> դիրքում:



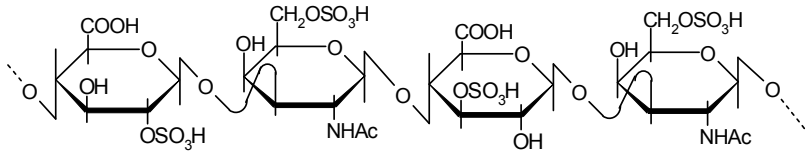
Խոնդրոիտինսուլֆատ A



Խոնդրոիտինսուլֆատ C



Խոնդրոիտինսուլֆատ B



Խոնդրոիտինսուլֆատ D

Խոնդրոիտինսուլֆատ B-ն D-գլյուկուրոնաթթվի փոխարեն պարունակում է L-իդուրոնաթթու, և բացի դրանից՝ ավելի հավանական է ամինաշաքարի C<sub>4</sub> դիրքում OH խմբի սուլֆացումը: Կան տվյալներ, որոնք վկայում են այն մասին, որ խոնդրոիտինսուլֆատ D-ն պարունակում է 2 սուլֆոխմբեր խոնդրոզինի նույն մնացորդի մեջ՝ ամինաշաքարի C<sub>6</sub> դիրքում և գլյուկուրոնաթթվի C<sub>2</sub> կամ C<sub>3</sub> դիրքերում:

Խոնդրոիտինսուլֆատ C-ի մոլեկուլային զանգվածը հասնում է մինչև 55.000: Պապային ֆերմենտով այն ճեղքելուց հետո անջատվել են ֆրագմենտներ 28.000 և 22.000 մոլային զանգվածներով: Գրա հիման վրա ենթադրվել է, որ խոնդրոիտինսուլֆատների մոլեկուլը կազմված է պեպտիդների միջոցով կապված 2 պոլիսախարիդային շղթաներից: Ընդ որում՝ պոլիմերի ~70%-ը կազմում է պոլիսախարիդը:

## Գլուխ 11. Քրոնոպրոտեիններ

Քրոնոպրոտեինների շարքին են պատկանում սպիտակուցային մասից և գունավորված պրոտատեիկ խմբից կազմված բարդ սպիտակուցները: Բնականաբար, այդ խմբի մեջ մտնում են միացություններ, որոնք տարբերվում են իրարից ինչպես քիմիական կառուցվածքով, այնպես էլ իրենց կենսաբանական դերով: Կենդանի բջջում կարևոր ֆիզիոլոգիական ֆունկցիաներ են կատարում պորֆիրին պարունակող քրոնոպրոտեինները՝ *հեմոպրոտեինները* և *քլորոֆիլլը*: Հեմոպրոտեինները մասնակցում են բջիջների շնչառության, իսկ քլորոֆիլլը՝ ֆոտոսինթեզի պրոցեսներին: Այդ երկու պրոցեսների միջև ընդհանուրը համարվում են էլեկտրոնների տրանսպորտը և դրա հետ կապված ֆոսֆորիլացման պրոցեսները, մի դեպքում՝ օքսիդացնող, մյուս դեպքում՝ ֆոտոսինթետիկ:

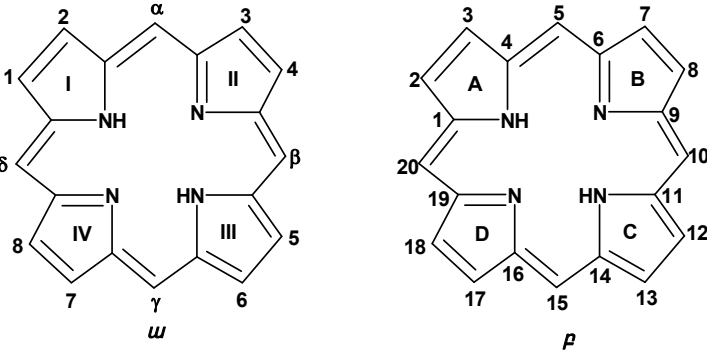
Հեմոպրոտեինները բարդ սպիտակուցներ են, որոնք, որպես պրոտատեիկ խումբ, պարունակում են երկաթապորֆիրին: Դրանցից առավել լավ է հետազոտված *հեմոգլոբինը*, որին յուրահատուկ են մոլեկուլին դարձելի ձևով թթվածինը կապելը և արյան միջոցով այն փոխադրելը: *Միոգլոբինը* նույնպես ի վիճակի է դարձելի ձևով կապել թթվածինը և մկաններում իրականացնել թթվածնի կարճաժամկետ պահեստավորման դերը:

Հեն պարունակող ֆերմենտներից են *կաթալազը* և *պերօքսիդազը*, որոնք կատալիզում են ջրածնի պերօքսիդի քայքայման ռեակցիան: *Ցիտոքրոմը*, որպես էլեկտրոնների փոխադրիչ, մասնակցում է կենդանի բջջում տեղի ունեցող օքսիդավերականգնման պրոցեսներին: *Քլորոֆիլի* հիմքում ընկած է մագնեզիում պորֆիրինային կառուցվածքը, որն ապահովում է ֆոտոսինթեզի պրոցեսին նրա արդյունավետ մասնակցությունը:

### 11.1. Պորֆիրիններ

Պորֆիրինների քիմիական կառուցվածքի հիմքում ընկած է քսան անդամանի արոմատիկ մակրոցիկլ պորֆինը, որը կազմված է

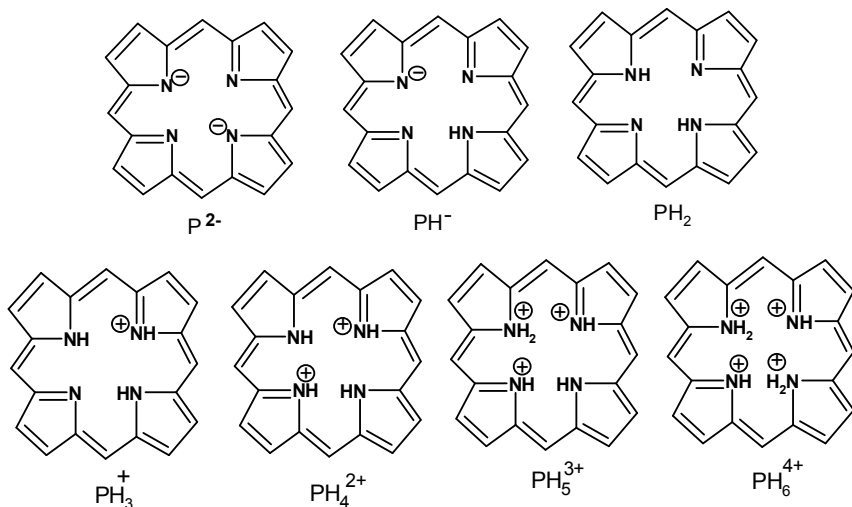
մոնոածխածնային կամրջակներով իրար կապված չորս պիրոլինային օղակներից: Պորֆիրինների ածանցյալների մոտ ածխածնի ատոմները համարակալվում են ըստ Ֆիշերի (*u*) և IUPAC-ի (*p*):



**Ֆիզիկաքիմիական հատկությունները:** Չուգորդված կրկնակի կապերի համակարգը պորֆիրինային օղակին դարձնում է շատ կայուն և բնորոշում է նրա ածանցյալների գունավորվածությունը: Բոլոր բնական պորֆիրինները լավ լուծվում են քացախաթթվում, հանքային թթուներում, դիօքսանում, պիրիդինում և ավելի վատ՝ սպիրտում, ացետոնում և եթերներում: Բնական պորֆիրինները պարունակում են կարբօքսիլային խմբեր և հանդիսանում են ամֆոտեր միացություններ, որոնք լավ լուծվում են ինչպես թթուներում, այնպես էլ հիմքերի ջրային լուծույթներում: Այդ լուծույթներից էլ նրանք բյուրեղացվում են՝ pH-ը հասցնելով իզոէլեկտրիկ կետի արժեքին:

Պորֆիրինների թթվահիմնային հատկությունները պայմանավորված են նրանց մոլեկուլում գտնվող ազոտի երկու ատոմների առկայությամբ, որոնք ի վիճակի են տալ կամ միացնել պրոտոն: Հետևաբար, պորֆիրինի մոլեկուլը տեսականորեն կարող է գոյություն ունենալ երկու անիոնային, չորս կատիոնային և մեկ չեզոք մասնիկների տեսքով: Դրանք են  $P^{2-}$ ,  $PH^{-}$ ,  $PH_2$ ,  $PH_3^{+}$ ,  $PH_4^{2+}$ ,  $PH_5^{3+}$  և  $PH_6^{4+}$  ձևերը:



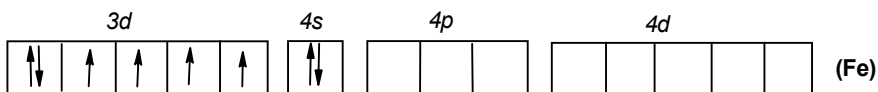


### 11.1.1. Մերադասպորֆիրիններ

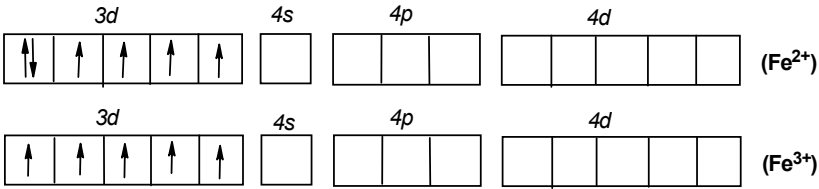
Պորֆիրինները կարող են առաջացնել կոմպլեքսային աղեր ոչ միայն Fe-ի հետ, ինչպես օրինակ՝ հեմինում ( $\text{Fe}^{3+}$ ) և հեմում ( $\text{Fe}^{2+}$ ), կամ Mg-ի հետ, օրինակ՝ մագնեզիումպորֆիրիններում, այնպես էլ Zn, Cu, Co և այլ մետաղների հետ: Այդ կոմպլեքսների կայունությունը տարբեր է:

Բնության մեջ հիմնականում հանդիպում են Fe-ի (հեմոգլոբին և ցիտոքրոմ) և Mg-ի (քլորոֆիլ) իոնների հետ պորֆիրինային կոմպլեքսներ: Անջատվել է նաև Cu-ի պորֆիրինային կոմպլեքսը՝ *ուրոպորֆիրինը*: Co-ը մտնում է պորֆիրինաման համակարգերի մեջ, օրինակ՝ ցիանկոբալամինի կամ վիտամին B<sub>12</sub>-ի դեպքում:

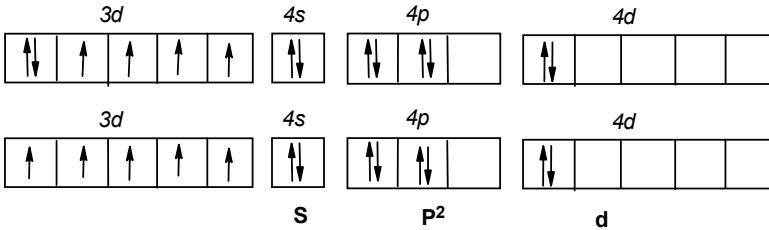
Ինչպես<sup>6</sup> է առաջանում երկաթի պորֆիրինային կոմպլեքսը: Երկաթի արտաքին էլեկտրոնային թաղանթն ունի  $3d^6 4s^2$  էլեկտրոնային կառուցվածք:



Երկարժեք  $Fe^{2+}$  իոն առաջացնելու համար այն պետք է կորցնի 2 էլեկտրոն, իսկ  $Fe^{3+}$  իոնի համար՝ 3 էլեկտրոն:



Եթե պորֆիրինի մոլեկուլից հեռացվի  $2H$ , որոնք գտնվում են ազոտի ատոմների մոտ, կստացվի  $P^{2-}$  իոնը, որի մոտ ազոտի բոլոր ատոմները ունեն ազատ էլեկտրոնային զույգ և կարող են առաջացնել չորս  $Fe-N$  կապ: Հետևաբար, առավել ձեռնտու հիբրիդիզացված վիճակը համարվում է  $dsp^2$  կառուցվածքը:



$Fe$ -ի իոնը գտնվում է պորֆիրինային օղակի կենտրոնում, և նրա առաջացրած բոլոր չորս կոորդինացիոն կապերն ուղղված են դեպի քառակուսու գագաթները: Ընդ որում՝  $3d$ -օրբիտալում համապատասխանաբար չորս և հինգ չզույգված էլեկտրոնների գտնվելն այնքան ձեռնտու է, որ այդ կոնֆիգուրացիայի պահպանման համար կապող էլեկտրոնային զույգերից մեկը զբաղեցնում է էներգետիկ տեսակետից ավելի քիչ ձեռնտու  $4d$  օրբիտալը: Ազատ  $4s$  օրբիտալը հավանաբար պատասխանատու է լուծիչի կամ սպիտակուցային շղթայի հետ կապվելու համար:

**Էլեկտրոնային սպեկտրները:** Պորֆիրիններն ունեն շատ բնորոշ էլեկտրոնային սպեկտրներ: Այդ հանգամանքը լայնորեն օգտագործվում է բնական պորֆիրինների կառուցվածքի պարզաբանման,

նրանց բնութագրման և նույնականացման համար: Պորֆիրինների սպեկտրներում կան կլանման երկու ինտենսիվ շերտեր՝ ուլտրամանուշակագույն (ՌԲՍ) մարզում 400 նմ ալիքի երկարության տակ հզոր, բարձր ինտենսիվությամբ կլանում (Սորեի կլանում) և չորս թույլ կլանման շերտեր տեսանելի մարզում: Սորեի կլանման շերտն առկա է փակ զուգորդված համակարգով բոլոր տետրապիրոլային միացությունների սպեկտրներում: Սորեի կլանման ինտենսիվությունը մոտ 10-20 անգամ մեծ է տեսանելի մարզում կլանումների ինտենսիվություններից:

Սորեի կլանման մարզն օգտագործվում է կենսաբանական օբյեկտներում պորֆիրինների միկրոքանակների որոշման համար: Իսկ տեսանելի մարզում գտնվող չորս կլանումներն օգտագործվում են պորֆիրինի կառուցվածքի (տեղակալիչների բնույթի, դիրքերի և այլն) մասին տեղեկատվություն ստանալու համար: Այդ չորս կլանումները տեսանելի մարզում սովորաբար նշանակվում են հռոմեական I, II, III և IV նիշերով:

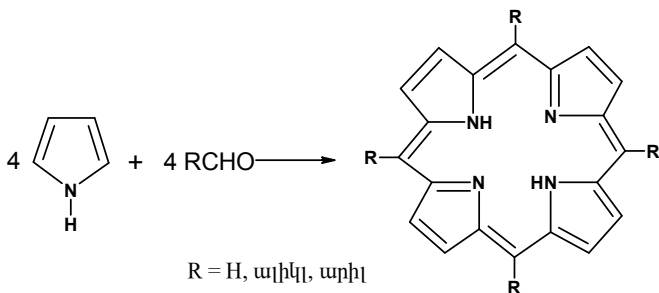
Էլեկտրոնային սպեկտրներում Սորեի կլանումը և I ու III կլանումները վերաբերում են էլեկտրոնային անցումներին, իսկ II և IV կլանումները՝ էլեկտրոնատատանողական անցումներին:

### **11.1.2. Պորֆիրինների սինթեզը**

Բնական պորֆիրինների կառուցվածքի վերջնական պարզաբանման հիմնական մեթոդն արհեստական եղանակով նրանց սինթեզելն է: Ներկայումս պորֆիրինների սինթեզի հայտնի մեթոդները կարելի է բաժանել 3 խմբի՝ ըստ այն միացությունների բնույթի, որոնք օգտագործվում են վերջնական ցիկլման փուլում մակրոցիկլ ստանալու նպատակով:

**Սինթեզ մոնոպիրոլներից:** Պորֆինը ( $R=H$ ) և նրա մեզո-տետրատեղակալված ածանցյալները ստանում են պիրոլի և ալդեհիդների կոնդենսման արդյունքում՝ ըստ Ռ-ոզեմունդի մեթոդի (սխեմա 170):

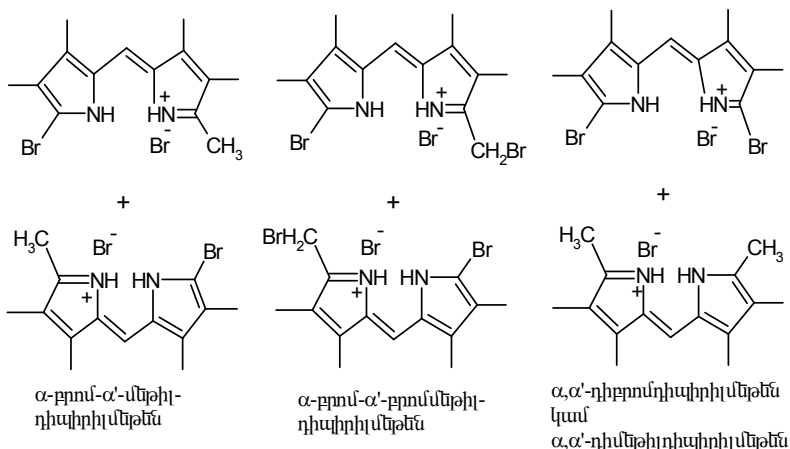
## Սխեմա 170



Այս մեթոդը լայնորեն օգտագործվում է *մեզո*-տետրաֆենիլ տեղակալված պորֆիրինների և նրանց մետաղական կոմպլեքսների ստացման համար (ելքը ~20%): Ռ-ոգենմունդի ռեակցիան չի կարելի օգտագործել բնական պորֆիրինների կամ նրանց ածանցյալների սինթեզի համար:

**Սինթեզ դիպիրոլներից:** Բնական պորֆիրինների կառուցվածքի պարզաբանման և սինթեզի մեթոդները հիմնականում հիմնված են *բրոմացված դիպիրիլմեթեններից* պորֆիրինների սինթեզի ռեակցիաների վրա (սխեմա 171):

## Սխեմա 171

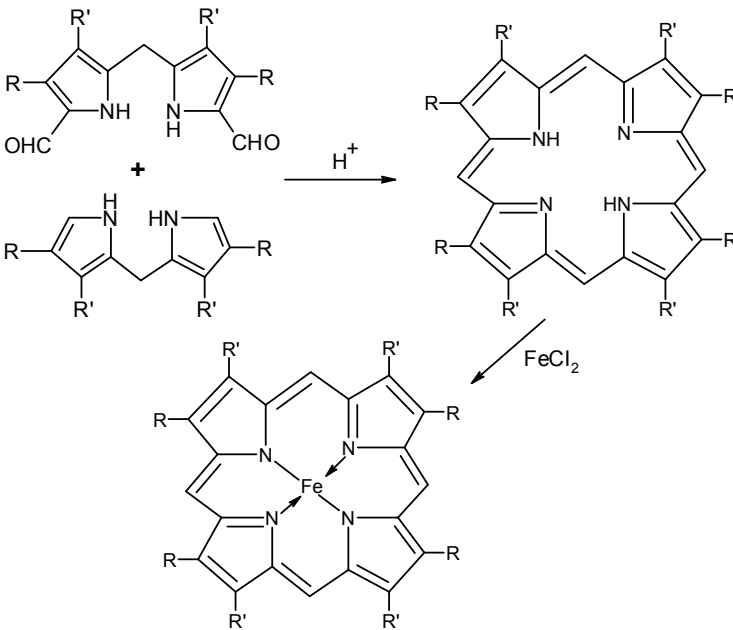


Սովորաբար կոնդենսման ռեակցիաներն իրականացվում են գինեթթվի, սաքաթթվի կամ մեթիլսաքաթթվի միջավայրում՝ մինչև եռման ջերմաստիճան տաքացման պայմաններում:

Այս մեթոդով պարզաբանվել է մի շարք բնական պորֆիրինների կառուցվածքը:

**Մակ Դոնալդի ռեակցիան:** Պորֆիրինների ստացման հայտնի մեթոդներից է նաև նրանց սինթեզը  $\alpha, \alpha'$ -դիֆորմիլ- և  $\alpha, \alpha'$ -չտեղակալված դիպիրիմեթաններից, որը մշակվել է Մակ Դոնալդի կողմից (սխեմա 172):

### Սխեմա 172



Առաջացած պորֆիրինի մեջ Fe-ի իոնի ներմուծման համար այն մշակվում է FeCl<sub>2</sub>-ի լուծույթով: Պորֆիրինային օղակի մեջ պղնձի իոնի ներմուծման համար օգտագործվում է պղնձի ացետատ՝ Cu(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>:

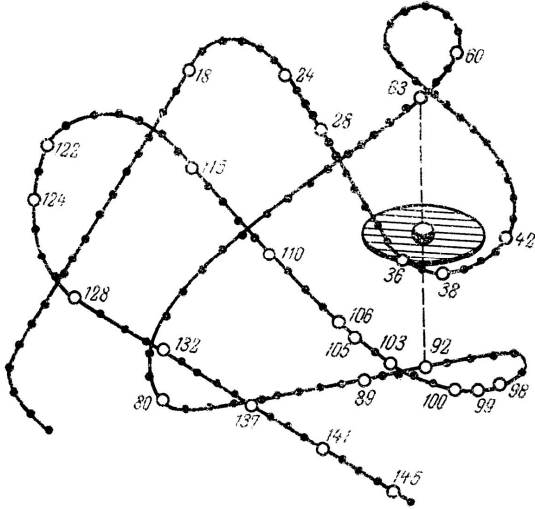
## **11.2. Հեմոգլոբին և միոգլոբին**

### **11.2.1. Հեմոգլոբինի կառուցվածքը**

Հեմոգլոբինը հանդիսանում է էրիթրոցիտների հիմնական բաղադրամասը, որի պրոստետիկ խումբը (պրոտոհեմը) կապված է սպիտակուցային մասի (գլոբոնի) հետ: Նրա բնորոշ առանձնահատկությունն է դարձելի ձևով կապել թթվածինը և այն փոխադրել թոքերից հյուսվածքներ, իսկ այնտեղից հակառակ ուղղությամբ տեղափոխել ածխաթթու գազը: Հեմոգլոբինները լայնորեն տարածված են բնության մեջ, և մոլեկուլի չափերը նրանց տարբեր տեսակների մոտ տարբեր են: Օրինակ՝ ձկների, երկկենցաղների և թռչունների մոտ հեմոգլոբինի մոլեկուլային զանգվածը կազմում է 61.000-72.000, իսկ կաթնասունների մոտ՝ 66.000-68.000: Բոլոր հեմոգլոբինները կառուցված են չորս պոլիպեպտիդային շղթայից, որոնցից յուրաքանչյուրը կապված է մեկ հեմ խմբի հետ: Սակայն որոշ տեսակների մոտ հանդիպում է բավականին ցածր մոլեկուլային զանգվածով հեմոգլոբին, օրինակ՝ միքսինների մոտ հեմոգլոբինի մոլեկուլային զանգվածը հավասար է 34.000, հավանաբար այն կազմված է երկու պոլիպեպտիդային շղթաներից:

Հեմոգլոբինի կառուցվածքը հետազոտվել և պարզաբանվել է Պերուտցի կողմից ռենտգենկառուցվածքային անալիզի մեթոդով ձիու օքսիհեմոգլոբինի օրինակի վրա: Պարզվել է, որ հեմոգլոբինի մոլեկուլն առաջին մոտեցմամբ իրենից ներկայացնում է 6,4 նմ երկարությամբ, 5,5 նմ լայնությամբ և 5,0 նմ բարձրությամբ սֆերոիդ: Այն կազմված է չորս բաղադրիչներից՝ երկուական  $\alpha$ - և  $\beta$ -պոլիպեպտիդային շղթաներից: Երկու տեսակի պոլիպեպտիդային շղթաների կոնֆիգուրացիան գրեթե նույնն է: Բացի դրանից՝ պարզվել է, որ պոլիպեպտիդային շղթայի այդպիսի բարդ և ոչ կանոնավոր կառուցվածքն ամբողջությամբ համընկնում է միոգլոբինի մոլեկուլի կառուցվածքի հետ: Ինչպես  $\alpha$ -, այնպես էլ  $\beta$ -պոլիպեպտիդային շղթաները կազմված են ութ պարույրներից, որոնք կապված են իրար հետ ոչ պարույրային հատվածներով (երկրորդային կառուցվածք): Եվ հենց այդ ոչ պարույրային հատվածներով էլ պայմանավորված են պոլի-

պեպտիդային շղթայի ճկունությունը և պտտվելու հնարավորությունը, որի արդյունքում առաջանում է բարդ տարածական կառուցվածք (երրորդային կառուցվածք) (նկար 61):



**Նկար 61.** Հեմոգլոբինի β-շղթայի երրորդային կառուցվածքը

Պոլիպեպտիդային շղթայի որոշակի հատվածներում ամինաթթվային մնացորդների դիրքն ընդգծելու համար այդ հատվածները նշանակվում են տառերով: Պարուրածն հատվածները N ծայրից սկսած նշանակվում են լատիներեն A-ից մինչև H տառերով: Ոչ պարույրային հատվածներն արտահայտում են երկու տառերով, որոնք բնորոշում են տվյալ ոչ պարույրային հատվածը միացնող երկու հարևան պարուրածն հատվածները (օրինակ՝ BC կամ EF): Հետևաբար, ոչ պարուրածն N- և C-ծայրային հատվածները համապատասխանաբար կնշանակվեն NA և HC: Ցանկացած պարույրային և ոչ պարույրային հատվածների ներսում ամինաթթվային մնացորդները համարակալվում են սկսած N-ծայրից: Օրինակ՝ LysE 10 (66) նշանակումը ցույց է տալիս, որ β-շղթայի 66-րդ դիրքում գտնվում է լիզինի մնացորդ, որը զբաղեցնում է E պարույրի 10-րդ դիրքը:

Պոլիպետիդային շղթան այնպես է ծռնվում, որ առաջացած կծիկի ներսի տարածությունում հայտնվում են ոչ բևեռային ամինաթթուները (Ala, Val, Leu, Phe և այլն), իսկ արտաքին մասում՝ լիցքավորված և բևեռային ամինաթթվային մնացորդները: Կողքային խմբերի նման վերադասավորվածությունն ապահովում է սպիտակուցային մոլեկուլի նվազագույն էներգիան, իսկ պոլիպետիդային շղթայի կայունացմանը լրացուցիչ նպաստում է հեմ խումբը:

Հենոզլոբինի չորրորդային կառուցվածքը, այսինքն՝ չորս պոլիպետիդային շղթաների դասավորվածությունը մեկը մյուսի նկատմամբ, պարզաբանվել է Պերուտցի կողմից ռենտգենկառուցվածքային անալիզի տվյալների հիման վրա: Մոլեկուլի կենտրոնում գտնվում է բավականին լայն ճեղքվածք, որի միջով անցնում են ջրի և էլեկտրոլիտների մոլեկուլները: Պոլիպետիդային շղթաների N-ծայրերը դուրս են գալիս դեպի մոլեկուլի գագաթները, իսկ C-ծայրերը թաքնված են խորքում:  $\alpha$ - և  $\beta$ -շղթաներն ունեն բազմաթիվ շփման կետեր, որոնք իրար հետ պահպանում են տարածական կառուցվածքը: Ավելի բազմազան են  $\alpha_1\beta_1$  շփումները, որոնք ներգրավում են 34 ամինաթթվային մնացորդների ավելի քան 110 ատոմներ, որոնց գերակշռող մասը համարվում են ոչ բևեռային ամինաթթուներ:  $\alpha_1\beta_2$  շփումները ներգրավում են 19 ամինաթթվային մնացորդների մինչև 80 ատոմներ, որոնց միջև փոխազդեցությունները մնում են ոչ բևեռային բնույթի:

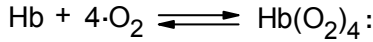
### ***11.2.2. Հենոզլոբինի ֆիզիոլոգիական դերը***

Հենոզլոբինի կարևորագույն կենսաբանական դերը հանդիսանում է թթվածնի փոխադրումը թոքերից դեպի տարբեր հյուսվածքներ: Այդ պրոցեսը հիմնված է դարձելի ձևով թթվածնի հետ կապվելու հենոզլոբինի ունիկալ հատկության վրա: Սակայն պարզվել է, որ հենոզլոբինին բնորոշ են նաև մի շարք այլ լրացուցիչ մեխանիզմներ, որոնք ապահովում են թթվածնով թոքերի առավելագույն հագեցվածությունը և առավելագույն չափով նրանց տեղափոխումը հյուս-

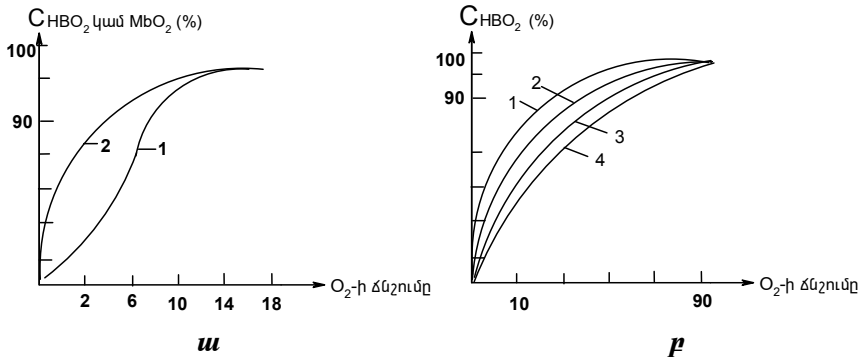


վածքներին: Այդպիսի մեխանիզմներից են **հեմ-հեմային փոխազդեցությունը** և **Բորի էֆեկտը**:

Հեմոգլոբինի ռեակցիան թթվածնի հետ ընթանում է ըստ հետևյալ գումարային հավասարման.



Լրիվ հագեցվածության դեպքում 1 գ հեմոգլոբինը կարող է կապել 1.33 մլ  $\text{O}_2$ : Սակայն ֆիզիոլոգիական պայմաններում արյան հեմոգլոբինը հագեցվում է թթվածնով ոչ լիարժեք, այլ միայն 95%-ով: Հեմոգլոբինի հետ կապված թթվածնի քանակությունը կախված է նրա պարզիալ ճնշումից (նկար 62, **ա**): Ընդ որում՝ կորի տեսքի և դիրքի վրա ազդում են ջերմաստիճանը և pH-ը, ինչպես նաև  $\text{CO}_2$ -ի պարզիալ ճնշումը (նկար 62, **բ**):



**Նկար 62.** Թթվածնով հեմոգլոբինի (1) և միոգլոբինի (2) հագեցման կորերը (**ա**),

թթվածնով հեմոգլոբինի հագեցման կորերը ածխաթթու գազի տարբեր պարզիալ ճնշումների դեպքում (**բ**)

(1.  $\text{PCO}_2 = 0$ , 2.  $\text{PCO}_2 = 3$ , 3.  $\text{PCO}_2 = 20$ , 4.  $\text{PCO}_2 = 40$  մմ սնդ. սյուն)

Ինչպես հետևում է նկարից, ինչքան մեծ է  $\text{CO}_2$ -ի ճնշումը, այնքան դժվար է կլանվում  $\text{O}_2$ -ը: Թոքերում, որտեղ  $\text{O}_2$ -ի պարզիալ ճնշումը համեմատաբար բարձր է ( $\text{PO}_2=108$  մմ ս.ս.), իսկ  $\text{CO}_2$ -ի ճնշումը փոքր է ( $\text{PCO}_2=40$  մմ ս.ս.), հեմոգլոբինը կլանում է առավելագույն չա-

փով  $O_2$ , այսինքն՝ այն հազեցվում է թթվածնով: Իսկ հյուսվածքներում հակառակը՝  $PO_2=30$  մմ ս.ս., իսկ  $PCO_2=50$  մմ ս.ս. և օքսիհեմոգլոբինը հեշտ դիսոցվում է՝ առաջացնելով թթվածին և հեմոգլոբին:

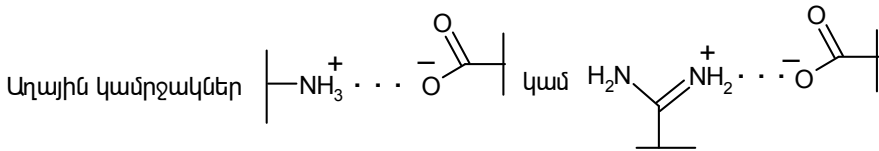
Բոլոր չորս պոլիպեպտիդային շղթաների մեջ մտնող հեմ խմբերի փոխազդեցությունները թթվածնի հետ իրար կապակցված են, այսինքն՝ մեկ հեմային խմբի կապումը թթվածնի հետ մեծացնում է մյուս հեմ խմբերի խնամակցությունը թթվածնի հանդեպ: Այդ էֆեկտը ստացել է *հեմ-հեմային փոխազդեցություն* անվանումը: Հեմ-հեմային փոխազդեցության ֆիզիոլոգիական դերը պայմանավորված է ոչ միայն թթվածնի նկատմամբ հեմոգլոբինի խնամակցության մեծացմամբ, այլ նաև այդ նույն խնամակցության փոքրացմամբ հյուսվածքներում օքսիհեմոգլոբինի դիսոցման հետագա փուլում: Դա առավել կարևոր է, քանի որ հյուսվածքներում թթվածնի պարցիալ ճնշումը բավականին փոքր է թոքերում նրա պարցիալ ճնշումից:

Հեմոգլոբինում հեմ խմբերը չեն կարող անմիջապես իրար հետ փոխազդել նրանց միջև եղած մեծ տարածության պատճառով (2.5-3.7 նմ): Այդ փոխազդեցությունը հավանաբար համարվում է պոստերիկ: Օքսի- և դեզօքսիհեմոգլոբինների ռենտգենկառուցվածքային անալիզը ցույց է տվել, որ օքսիզեմացման ժամանակ տեղի է ունենում հեմոգլոբինի չորրորդային կառուցվածքի բավականին փոփոխություն, այսինքն՝ հեմ-հեմային փոխազդեցությունը կապված է հենց օքսիզեմացման պրոցեսում դեզօքսի-կոնֆորմացիայից օքսի-կոնֆորմացիայի անցման հետ:

Հայտնի է ևս մեկ մեխանիզմ, որն աջակցում է թթվածնի արդյունավետ անցմանը հեմոգլոբինին, այն կոչվում է Բորի էֆեկտ: Դա բնութագրում է pH-ից կախված թթվածնի հանդեպ հեմոգլոբինի խնամակցության փոփոխությունը:  $pH > 6,0$  դեպքում հեմոգլոբինը միջավայրից պրոտոն է միացնում և անջատում է թթվածին: Հյուսվածքներում թթվածինն անջատելուց հետո հեմոգլոբինը չեզոքացնում է պրոտոնին, որն առաջանում է արյան մեջ  $CO_2$ -ի կլանման շնորհիվ, և հեշտանում է  $CO_2$ -ի տրանսպորտը հյուսվածքներից դեպի թոքեր: Իսկ  $pH < 6,0$  դեպքում փոքրանում է հեմոգլոբինի խնամակցությունը թթվածնի նկատմամբ, որը հեշտացնում է թթվածնի արդյու-

նավեա անջատումը հյուսվածքներում, որտեղ բիկարբոնատ իոնի պարունակությունը բարձր է:

Հեմ-հեմային փոխազդեցության մնան Բորի էֆեկտը ծագում է օքսիգենացման և դեօքսիգենացման պրոցեսներում հեմոգլոբինի մոլեկուլի շորրորդային կառուցվածքի փոփոխության հետևանքով: Օքսիգենացման ժամանակ աղային կամրջակների քայքայման հետևանքով տեղի է ունենում պրոտոնի անջատում, իսկ դեօքսիգենացման ժամանակ աղային կամրջակների առաջացման հետևանքով տեղի է ունենում պրոտոնի կլանում (չեզոքացում):



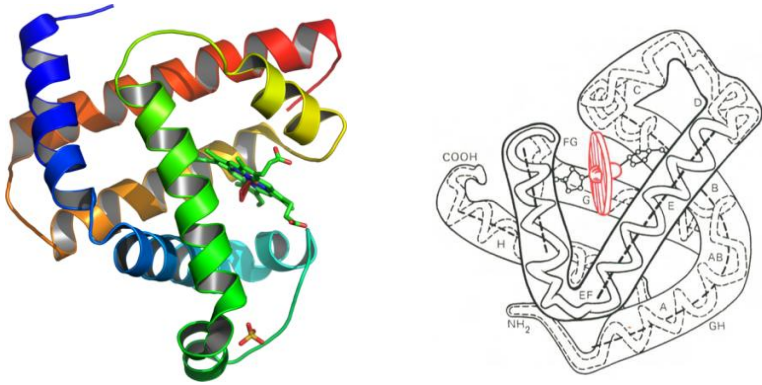
### 11.2.3. Միոգլոբինի կառուցվածքը

Միոգլոբինը (Mb) համարվում է բարդ սպիտակուց, որը մտնում է շատ կենդանի օրգանիզմների մկանների մեջ: Նրա մոլեկուլը կազմված է մեկ պոլիպեպտիդային շղթայից՝ կապված պրոտոնհեմի մեկ խմբի հետ: Երկվալենտ երկաթի ատոմը, որը մտնում է հեմի կազմի մեջ, ի վիճակի է միանալ թթվածնին: Սակայն, ի տարբերություն հեմոգլոբինի, միոգլոբինը դեօքսիգենացվում է թթվածնի համեմատաբար ցածր պարցիալ ճնշման տակ, որը նրան հնարավորություն է տալիս մկաններում կատարելու թթվածնի պահեստային աղբյուրի ֆունկցիա:

Միոգլոբինի միակ պոլիպեպտիդային շղթան կազմված է 153 ամինաթթվային մնացորդներից (նկար 64):

Հետազոտությունների արդյունքում հաջողվել է ճշգրիտ որոշել բոլոր 153 ամինաթթվային մնացորդների դիրքը շղթայում: Ընդ որում՝ դա հաջողվել է որոշել բրոմցիանի միջոցով միոգլոբինի պոլիպեպտիդային շղթայի ընտրողական ճեղքման ճանապարհով: Պարզվել է, որ միոգլոբինի մոլեկուլում մոտավորապես 118 ամինաթթվային մնա-

ցորդներն առաջացնում են 8 աջ պտտող  $\alpha$ -պարույրային սեզմեններ, որոնք իրար հետ կապված են ոչ պարույրային հատվածներով:



**Նկար 64.** Միոգլոբինի մոլեկուլի կառուցվածքը

Ընդհանուր առմամբ՝ շղթան առաջացնում է բարդ, ոչ սիմետրիկ կառուցվածք՝ 4,5x3,5x2,5 նմ չափերով պրիզմա: Միոգլոբինի մոլեկուլն ունի շատ հավաք կառուցվածք, չունի ներքին ուղիներ, իսկ ներքին ազատ տարածության ծավալը շատ փոքր է: Հեն խումբը գտնվում է այսպես կոչված պոլիպեպտիդային շղթայի «գրպանիկում»: Գրեթե բոլոր բևեռային կողքային ամինաթթվային խմբերը (Lys, Arg, Gly, Asp, His, Ser, Thr, Try) գտնվում են շղթայի արտաքին կողմում, իսկ ոչ բևեռային խմբերը հիմնականում խտացված են մոլեկուլի ներսում: Մոլեկուլի այդպիսի հավաք կառուցվածքը պահպանվում է Վան-դեր Վալսյան ուժերի, իոնական փոխազդեցությունների և ջրածնական կապերի շնորհիվ: Կառուցվածքի կայունացման գործում կարևոր դեր է խաղում նաև հեն խումբը: Ինչպես հայտնի է, երկաթի ատոմի 5-րդ կոորդինացիոն դիրքը զբաղեցված է His-ի մնացորդով, իսկ 6-րդ կոորդինացիոն դիրքը՝ ջրի մոլեկուլով, որը կապված է ջրածնական կապով պոլիպեպտիդային շղթայի այլ հիստիդինային մնացորդների հետ:

### 11.3. Ցիտոքրոմներ

Հենոզլոբինը թթվածինը թոքերից տեղափոխում է հյուսվածքների բջիջներին, որտեղ սնուցող նյութերի օքսիդացման արդյունքում անջատվում է օրգանիզմի գոյատևման համար անհրաժեշտ էներգիան: Սակայն այդ միացությունները անմիջապես չեն օքսիդանում մոլեկուլային թթվածնով, և էլեկտրոնների փոխադրումը սուբստրատից թթվածնին իրականացվում է աստիճանաբար՝ որոշ փոխադրիչների օգնությամբ: Արդյունքում մեծ ակտիվացման էներգիայով օժտված մեկ օքսիդացման ռեակցիայի փոխարեն իրականացվում է փոքր ակտիվացման էներգիայով օժտված հաջորդական ռեակցիաների շղթա: Բջջում էլեկտրոնների փոխադրիչների դերում հանդես են գալիս պիրիդիննուկլեոտիդները, ֆլավոպրոտեինները, վիտամին E-ն, K-ն և ցիտոքրոմները:

Առաջին անգամ ցիտոքրոմները հայտնաբերվել են 1886 թ.-ին Մակ-Մունոնի կողմից կենդանիների հյուսվածքների սպեկտրադիտակյան հետազոտման ժամանակ, սակայն նրանց մանրամասն հետազոտությունները սկսվել են միայն 1925 թ.-ին Կելլիհի կողմից: Նա բացահայտել է, որ բջջում առկա են երեք տեսակի ցիտոքրոմներ՝ a, b և c, որոնք իրարից տարբերվում են կլանման շերտով: Հետագայում հայտնաբերվել են մի շարք այլ ցիտոքրոմներ, որոնք, ըստ իրենց սպեկտրադիտակյան բնութագրերի, դասվել են այդ երեք տեսակներին, քանի որ հանդիսանում են նրանց ածանցյալները: Սակայն որոշ ցիտոքրոմներ, որոնք հայտնաբերվել են բջջում ավելի ուշ, իրենց բնութագրերով ոչ մի կերպ չեն համապատասխանել ցիտոքրոմների նշված տեսակներին: Այդ կապակցությամբ Միջազգային կենսաքիմիական միության ֆերմենտների գծով հանձնաժողովը մշակել է ցիտոքրոմների դասակարգման համակարգ, համաձայն որի՝ բոլոր ցիտոքրոմները դասվում են չորս հիմնական խմբերի՝ A, B, C և D:

**A-խմբի** մեջ մտնում են այն ցիտոքրոմները, որոնք, որպես պրոտոտիկ խումբ, պարունակում են երկաթ-ֆորմիլպորֆիրին (ֆորմիլ տեղակալիչներով հեն խումբ):

**В-խմբի** մեջ մտնում են այն ցիտոքրոմները, որոնք, որպես պրոստետիկ խումբ, պարունակում են պրոտոհեմ IX (ինչպես հեմոգլոբինի և միոգլոբինի մոտ):

**С-խմբի** մեջ մտնում են այն ցիտոքրոմները, որոնք, որպես պրոստետիկ խումբ, պարունակում են մեգոհեմ IX: Ընդ որում՝ հեմ խումբը կապված է սպիտակուցային շղթայի հետ կովալենտային թիոէթերային կապով:

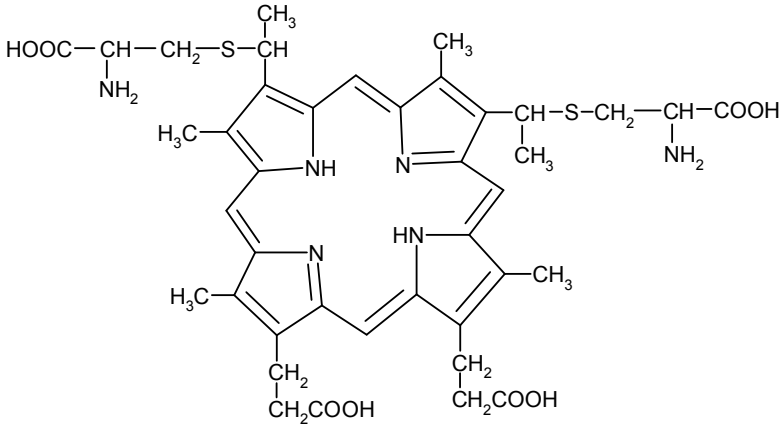
**Դ-խմբի** մեջ մտնում են այն ցիտոքրոմները, որոնք, որպես պրոստետիկ խումբ, պարունակում են ոչ թե երկաթ-պորֆիրին, ինչպես A, B և C խմբերի դեպքում, այլ երկաթ-դիհիդրոպորֆիրին (երկաթ-քլորին):

Առավել լավ է հետազոտված ցիտոքրոմ C-ն, որի պրոստետիկ խումբը համարվում է տեղակալված մեգոհեմ IX-ը, որը կապված է մոլեկուլի սպիտակուցային մասի հետ թիոէթերային կապերով: Ֆիտոքրոմ C-ի, ինչպես նաև մյուս բոլոր ցիտոքրոմների գլխավոր կենսաբանական դերը պայմանավորված է օքսիդացման ցիկլին նրանց մասնակցությամբ՝ որպես էլեկտրոնների և պրոտոնի տեղափոխիչներ:

Մաքուր ցիտոքրոմ C-ի ստացման համար օգտագործել են տարբեր ռեագենտներով էքստրակտման, նստեցման, աղսորբման և այլ մեթոդներ, սակայն բարձր մաքրությամբ պատրաստուկ հաջողվել է ստանալ քրոմատոգրաֆիական եղանակով: Մաքուր բյուրեղական ցիտոքրոմ C-ն պարունակում է 0,45% երկաթ, ինչը համապատասխանում է 13.000 մոլեկուլային զանգվածին:

Մաքրված ցիտոքրոմ C-ն չի քայքայվում և չի կորցնում իր կատալիտիկ հատկությունները նոսրացված թթուներով կամ հիմքերով (рН=4-11.5) ազդելու դեպքում, ինչպես նաև փոփոխության չի ենթարկվում մինչև եռման ջերմաստիճան տաքացման պայմաններում: Չեզոք միջավայրում վերականգնված ցիտոքրոմ C-ն չի օքսիդանում մոլեկուլային թթվածնով, սակայն օքսիդանում է H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-ի, ֆերիցիանիդի և պղնձի աղերի ազդեցությամբ: Օքսիդացված ցիտոքրոմ C-ն վերականգնվում է այնպիսի վերականգնիչներով, ինչպիսիք են ցիտ-

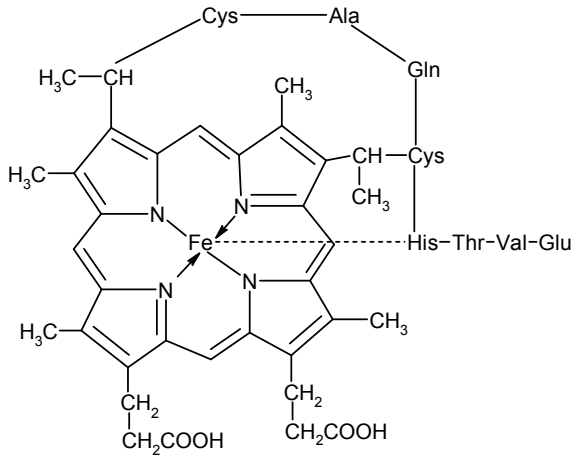
տեինը, հիդրոսուլֆիտը, ասկորբինաթթուն և այլն: Ֆիտոքրոմ C-ի հիդրոլիզի ժամանակ առաջանում է պորֆիրին C:



Պորֆիրին C

Պորֆիրինը բրոմջրածնական թթվով մշակելու դեպքում պոկվում է ցիստեինի 2 մոլեկուլ, և առաջանում է հեմատոպորֆիրին, ինչից հետևում է, որ ցիստեինի երկու մնացորդները միացած էին մեզոպորֆիրինի էթիլային խմբի  $\alpha$ -ածխածնի ատոմի հետ թիոէթերային կապով: Պորֆիրին C-ն հեշտությամբ ստացվում է ցիստեինի և պրոտոպորֆիրին IX-ի փոխազդեցության արդյունքում՝ վինիլային մնացորդներին ցիստեինի միացմամբ:

Պորֆիրին C-ի մոլեկուլում գտնվող ցիստեինի երկու մնացորդներն իրենցից ներկայացնում են ցիտոքրոմի պոլիպեպտիդային շղթայի մի մասը: Պրոտեոլիտիկ ֆերմենտներով ցիտոքրոմ C-ի մասնակի ճեղքումից հետո անջատվել են պեպտիդներ՝ կապված հեմ խմբի հետ (հեմոպեպտիդներ): Որոշվել է տարբեր օրգանիզմներից անջատված ցիտոքրոմ C-ից ստացված պեպտիդների ամինաթթվային հաջորդականությունը, օրինակ՝ ցուլի սրտային մկաններից անջատված հեմոպեպտիդն ունի հետևյալ կառուցվածքը.

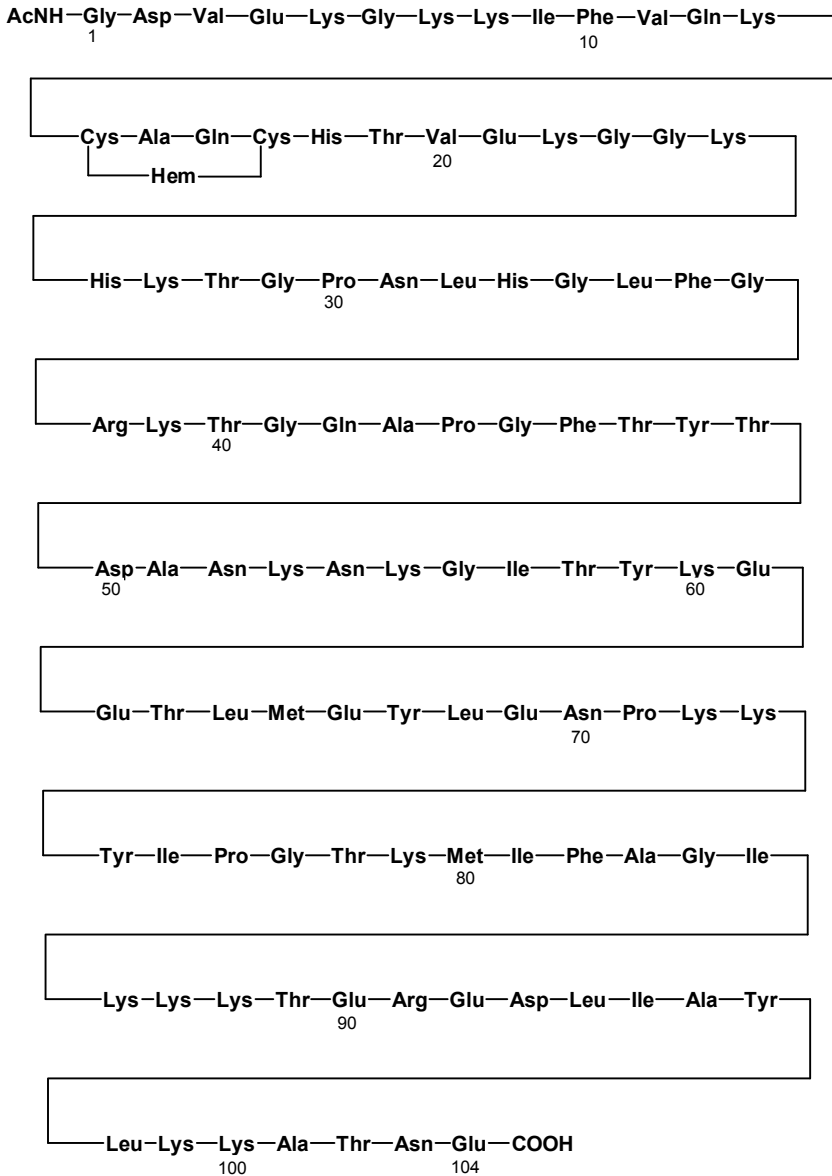


Հենի կապը ցիստեինի մնացորդների հետ հաստատված է հեմ-պեպտիդի մի շարք սինթետիկ մնանակների միջոցով: Բոլոր մնանակների մոտ պեպտիդում ցիստեինի մնացորդներն իրարից բաժանված են երկու ամինաթթվային մնացորդներով, և բացի դրանից՝ բոլորի մոտ առկա է His-Thr հաջորդականությունը: Հավանաբար այդպիսի կառուցվածքը թելադրված է տարածական գործոններով, որոնց ազդեցությունը կապված է ցիտոքրոմ C-ի ֆերմենտային ակտիվության հետ:

Նատիվ ցիտոքրոմ C-ի կոնֆիգուրացիան որոշում է նրա ֆերմենտային ակտիվությունը: Ինչքան շատ է դենատուրացված հեմ-պրոտեինը, այսինքն՝ ինչքան խիստ է խախտված նատիվ սպիտակուցի կոնֆորմացիան, այնքան ցածր է նրա ֆերմենտային ակտիվությունը, և ուժեղ է արտահայտված նրա՝ CO<sub>2</sub> միացնելու հատկությունը: Ֆերմենտային ակտիվության լրիվ անկում է նկատվում ացետիլման ժամանակ, ինչը վկայում է հեմոպրոտեինի կատալիտիկ ակտիվության արտահայտման գործընթացում ազատ NH<sub>2</sub> խմբերի կարևոր դերի մասին:

Ձիու սրտային մկաններից անջատված ցիտոքրոմ C-ն համարվում է առաջին ցիտոքրոմը, որի համար որոշվել է լրիվ ամինաթթվային հաջորդականությունը (նկար 65):





**Նկար 65.** Ջիու սրտային մկաններից անջատած ցիտոքրոմ C-ի առաջնային կառուցվածքը

Քիմոտրիպսինով ցիտոքրոմ C-ի հիդրոլիզի արդյունքում առաջացել են 30 խոշոր պեպտիդներ (իսկ տրիպսինի դեպքում՝ 20 պեպտիդներ), որոնք առանձնացվել են իոնափոխանակային խեժերի միջոցով և մաքրվել են էլեկտրոֆորեզի ու թղթային քրոմատոգրաֆիայի մեթոդներով: Առանձնացված պեպտիդների ամինաթթվային հաջորդականությունները որոշվել են հայտնի քիմիական և ֆերմենտային եղանակներով (տե՛ս գլուխ 5.2.), որոնց հիման վրա տրվել է ձիու սրտային մկաններից անջատված ցիտոքրոմ C-ի սպիտակուցային շղթայի առաջնային կառուցվածքը:

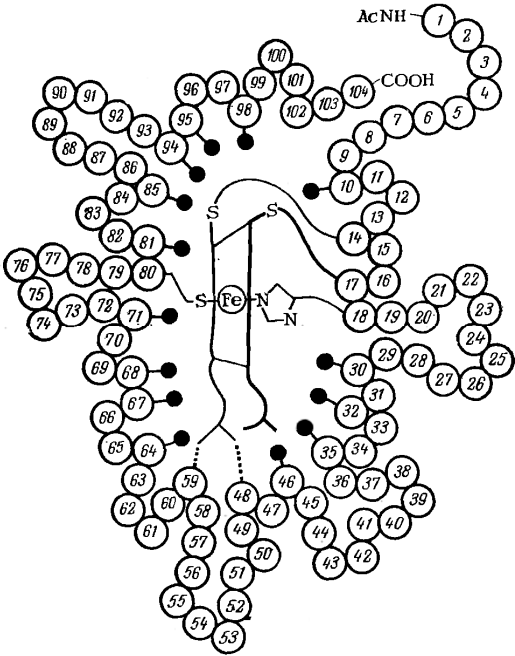
Սպիտակուցային շղթան պարունակում է 104 ամինաթթվային մնացորդ, որտեղ N-ծայրային ամինաթթուներն ացետիլված են: Բացի դրանից՝ յուրահատուկ է նաև այն, որ թթվային և հիմնային ամինաթթուները շղթայում հավաքված են խմբերով, օրինակ՝ 90-93 ամինաթթվային մնացորդները թթվային ամինաթթուներ են, իսկ 84-88 մնացորդները՝ հիմնային: Հիդրոֆոբ ամինաթթվային մնացորդները նույնպես խմբավորված են (օրինակ՝ Leu, Ile, Phe, Tyr): Հետևաբար, սպիտակուցի պոլիպեպտիդային շղթայում առկա են խիստ տարբեր բևեռվածությամբ հատվածներ, ինչը հավանաբար պետք է որոշի ցիտոքրոմ C-ի յուրահատուկ երրորդային կառուցվածքը:

Ցիտոքրոմի պեպտիդային շղթան բավականին տարբերվում է հեմոգլոբինի  $\alpha$ - և  $\beta$ -շղթաներից: Հեմ խումբը թիոթերային կապերով միացած է շղթայի 14-րդ և 17-րդ դիրքերի ցիստեինի մնացորդների հետ և ավելի մոտ է բաշխված շղթայի N-ծայրին, քան ոչ կովալենտային ձևով կապված հեմ խումբը հեմոգլոբինի և միոգլոբինի կառուցվածքում:

Մարդու սրտից անջատված ցիտոքրոմ C-ի հետազոտությունը ցույց է տվել նրա կառուցվածքի լիարժեք նմանությունը ձիուց անջատված հեմոպրոտեիդի կառուցվածքին: Այն նույնպես կազմված է 104 ամինաթթվային մնացորդներից և նրա շղթայի N-ծայրային գլիցինը ացիլված է, իսկ հեմ խմբի դիրքը և սպիտակուցային շղթայի հետ նրա կապը, ինչպես նաև շղթայում հիդրոֆոբ, հիմնային և թթվային ամինաթթվային մնացորդների բաշխվածությունը երկու սպիտակուցներում էլ իդենտիկ են: Մարդու ցիտոքրոմ C-ն տարբերվում է

ձիու ցիտոքրոմ C-ից 12 ամինաթթվային մնացորդներով, ընդ որում՝ հիմնականում ամինաթթուները փոխարինված են իրենց համարժեք ամինաթթուներով: Օրինակ՝ ձիու ցիտոքրոմի C-ի շղթայի 62-րդ դիրքի գլուտամինաթթվի փոխարեն մարդու ցիտոքրոմի C-ի նույն դիրքում ասպարազինաթթու է և այլն:

Ձիու սրտային մկաններից անջատված ցիտոքրոմ C-ի երրորդային կառուցվածքը որոշվել է ռենտգենկառուցվածքային անալիզի մեթոդով (նկար 66):



**Նկար 66.** Ձիու սրտային մկաններից անջատված ցիտոքրոմ C-ի մոլեկուլի սխեման

Մոլեկուլը իրենից ներկայացնում է 2.5x2.5x3.7 նմ չափերով ձգված սֆերոիդ: Նրա մի կողմում գտնվում է բավականին լայն խոռոչ, որտեղ տեղավորված է հեն խումբը, ընդ որում՝ հեմի հարթությունը ուղղահայաց է բաշխված մոլեկուլի մակերեսին: Այսպիսով՝ հեմի

գերակշռող մասը գտնվում է սպիտակուցային մոլեկուլի ներսում, և պորֆիրինը միայն մի կողմով է մատչելի լուծիչի համար: Խոռոչի գազաթից ոչ հեռու գտնվում է ցիստեինի մնացորդը, որի հետ միանում է հեմը թիոթերային կապով: Խոռոչի երկու կողմերում բաշխված են լիզանոնները, որոնք զբաղեցնում են հեմի երկաթի 5-րդ և 6-րդ կողորդինացիոն դիրքերը: Դրանցից մեկը զբաղեցնում է սպիտակուցային շղթայի 18-րդ դիրքի հիստիդինի իմիդազոլային խումբը, իսկ մյուսը՝ 80-րդ դիրքի մեթիոնինը:

Ֆիտոքրոմ C-ի մոլեկուլում գրեթե ամբողջությամբ բացակայում են  $\alpha$ -պարույրային հատվածները: Միայն շղթայի մի հատվածը հեմի այն կողմում, որտեղ բաշխված է լիզանոն (որը հավանաբար իմիդազոլ չէ, այլ մեթիոնին), կարող է պարունակել 1 կամ 1,5  $\alpha$ -պարույրային հատված:

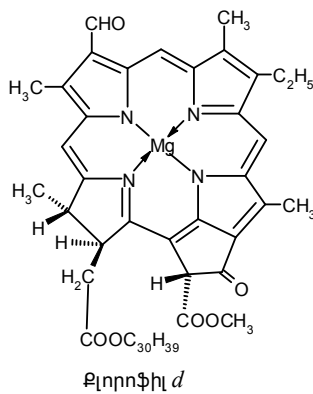
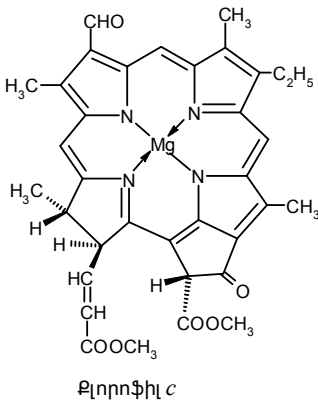
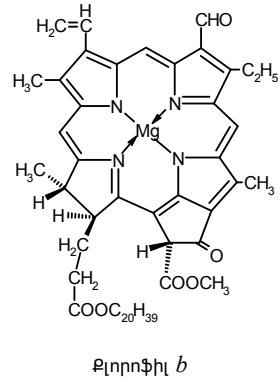
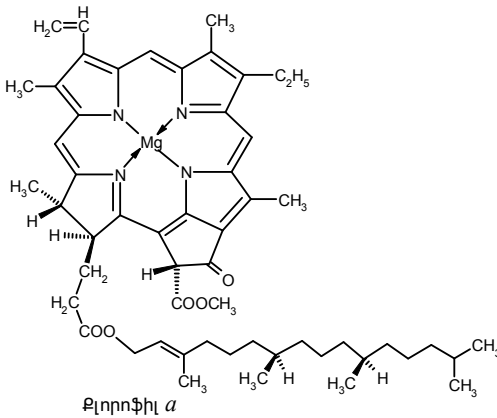
Հետևաբար, ցիտոքրոմ C-ի երրորդային կառուցվածքը լիովին տարբերվում է հեմոգլոբինի և միոգլոբինի երրորդային կառուցվածքներից, ինչով էլ պայմանավորված է նրանց յուրահատուկ կենսաբանական ֆունկցիաների տարբերությունը:

#### 11.4. Քլորոֆիլներ

Քլորոֆիլները պիգմենտներ են, որոնք բույսերին տալիս են կանաչ գունավորում: Շնորհիվ նրանց բնորոշ եզակի հատկությունների՝ բույսերը, օգտագործելով արևի էներգիան, ջրից և ածխաթթու գազից առաջացնում են բազմազան օրգանական միացություններ (գլյուկոզ, օսլա, ճարպեր, սպիտակուցներ և այլն):

Բնության մեջ տարածված են քլորոֆիլի մի շարք տեսակներ: Բույսերի տերևներում պարունակվում են քլորոֆիլ  $a$  և  $b$  մոտ 3/1 հարաբերությամբ, ջրավազաններում քլորոֆիլ  $a$ -ի հետ միասին տարածված են նաև քլորոֆիլ  $d$ , քլորոֆիլ  $c$  և այլ քլորոֆիլներ:

Ի տարբերություն երկաթպորֆիրինների (հեմոգլոբինի և ցիտոքրոմների)՝ քլորոֆիլի կառուցվածքի հիմքում ընկած է  $Mg^{2+}$  իոնի կոմպլեքսը մասնակի հիդրացված պորֆիրինների (դիհիդրոպորֆիրինի կամ քլորինի) հետ:



Քլորոֆիլների կառուցվածքի բնորոշ առանձնահատկություններից է նրանց կազմում ցիկլոպենտանոնային օղակի (իզոցիկլիկ օղակ) և IV օղակում ֆիտոլով էստերացված պրոպիոնաթթվի առկայությունը: Ինչպես հեմոգլոբինը, քլորոֆիլը նույնպես կապված է սպիտակուցի հետ, և սիայն այդ ձևով է այն ֆիզիոլոգիապես ակտիվ:

Նկարներում ներկայացված են պրոստետիկ խմբեր, որոնք կապված են սպիտակուցախիլոպային բաղադրիչների հետ: Դեռևս չի հաջողվել քլորոֆիլներից անջատել ֆերմենտներին բնորոշ յուրահատկությամբ օժտված սպիտակուցային մնացորդներ: Հայտնի չեն նաև ստեֆիոմետրիկ հարաբերությամբ սպիտակուցային մոլեկուլ և պրոստետիկ խումբ պարունակող քլորոֆիլներ:

Սպիտակուցի հետ քլորոֆիլի կապվածության գաղափարը տվել է ռուս գիտնական Յվետը: Նրա կողմից առաջարկվել է բավականին հաջող տերմին՝ քլորոզլորին՝ մեկնաբանելով հեմոզլորինի և քլորոֆիլասպիտակուցային կոմպլեքսի միջև մասնությունը: Հետագա հետազոտությունները հաստատել են այդ ենթադրությունը:

Քլորոֆիլ-սպիտակուց կապի բնույթը պարզելու համար հետազոտվել են ինչպես սպիտակուցների, այնպես էլ պարզ պեպտիդների (օրինակ՝ գլիցիլ-լեյցին, պեպտոն, պլումին և այլն) հետ քլորոֆիլի առաջացրած կոմպլեքսները: Յույց է տրվել, որ քլորոֆիլի մոլեկուլը քիմիական կապերով կապված է սպիտակուցի հիմնային և թթվային խմբերի հետ, սակայն կապի տեսակը վերջնականապես դեռ պարզված չէ:

**Քլորոֆիլ *a*:** Բոլոր հայտնի քլորոֆիլներից ավելի խորը հետազոտված է քլորոֆիլ *a*-ն: Նրա կառուցվածքային բանաձևը բացահայտվել է Գ. Ֆիշերի կողմից: Քլորոֆիլ *a*-ի մոլեկուլը պարունակում է ցիկլոպենտանային օղակ, որի  $C_9$ -ի մոտ առկա է կարբոնիլային թթվածին, իսկ  $C_{10}$ -ի մոտ՝ մեթիլ սպիրտով էսթերացված կարբօքսիլային խումբ: I սպիրոլային օղակը կից պարունակում է վինիլային խումբ, իսկ IV օղակը՝ ֆիտոլով ( $C_{20}H_{39}OH$ ) էսթերացված պրոպիոնաթթվի մնացորդ: IV օղակի  $C_9$  և  $C_{10}$  ածխածնի ատոմների մոտ բաշխված են *տրանս*-օրիենտացիայով լրացուցիչ ջրածնի ատոմներ: Մոլեկուլը պարունակում է երեք ասիմետրիկ ածխածնի ատոմներ՝  $C_7$ ,  $C_8$  և  $C_{13}$ :

Քլորոֆիլ *a*-ն  $117-120^\circ C$  հալման ջերմաստիճանով մուգ կապույտ գույնի նյութ է: Այն լավ լուծվում է եթերում, էթիլ սպիրտում, ացետոնում, քլորոֆորմում և բենզոլում, վատ է լուծվում մեթիլ սպիրտում: Քլորոֆիլ *a*-ի տեսակարար օպտիկական պտույտի արժեքը ացետոնում  $20^\circ C$ -ի տակ կազմում է  $262^\circ$ , նրան բնորոշ են կլանման յուրահատուկ էլեկտրոնային սպեկտրներ: Թույլ թթուների (օրինակ՝ թրթմնակաթի) ազդեցությամբ քլորոֆիլ *a*-ի մոլեկուլից պոկվում է մագնեզիումը, իսկ ուժեղ թթուների ազդեցությամբ մոլեկուլից ոչ միայն հեռանում է մագնեզիումը, այլ նաև ճեղքվում են էսթերային կապերը: Քլորոֆիլ *a*-ն, ինչպես և հեմինը, համեմատաբար մեղմ

պայմաններում ուժեղ հիմքերով մշակելու դեպքում առաջացնում է պորֆիրիններ:

Տեղակալված քլորինները, որոնք հանդիսանում են քլորոֆիլների ճեղքման արգասիքները, նույնպես կարող են փոխարինվել պորֆիրինների: Քլորինները քացախաթթվի միջավայրում մինչև 50°C տաքացման պայմաններում յոդաջրածնի լուծույթով մշակելու դեպքում վերականգնվում են՝ առաջացնելով անգույն պորֆիրինոգեններ, որոնք այնուհետև օդի թթվածնով օքսիդանալու արդյունքում տրանսֆորմացվում են պորֆիրինների:

**Քլորոֆիլ b:** Քլորոֆիլ *b*-ն սկսում է փափկել 86-92°C ջերմաստիճանում: Լուծելիությամբ քլորոֆիլ *b*-ն մոտ է քլորոֆիլ *a*-ին, նրա լուծույթները տարբեր լուծիչներում ունեն կանաչ կամ դեղնականաչավուն գույն: Կառուցվածքով քլորոֆիլ *b*-ն տարբերվում է քլորոֆիլ *a*-ից 3-րդ դիրքում մեթիլային խմբի փոխարեն ֆորմիլային տեղակալիչի պարունակությամբ: Քլորոֆիլ *b*-ի պիրոլիզի ժամանակ առաջանում են մի շարք նյութեր, որոնք կառուցվածքով նման են քլորոֆիլ *a*-ի պիրոլիզի արգասիքներին, ինչը վկայում է նրանց կառուցվածքների նմանության մասին:

**Քլորոֆիլ c:** Քլորոֆիլ *c*-ն պիգմենտ է, որը քլորոֆիլ *a*-ի հետ միասին հայտնաբերվել է որոշ դարչնագույն և դեղին ջրիմուռներում: Ի տարբերություն այլ քլորոֆիլային պիգմենտների՝ քլորոֆիլ *c*-ն հանդիսանում է պորֆիրինի, այլ ոչ թե քլորինի ածանցյալ: Քլորոֆիլ *c*-ն իրենից ներկայացնում է մագնեզիումի հեքսադեհիդրոֆեոպորֆիրինի և մագնեզիումի տետրահիդրոֆեոպորֆիրինի մոնոմեթիլային էսթերների խառնուրդ:

**Քլորոֆիլ d:** Քլորոֆիլ *d*-ն պիգմենտ է, որը քլորոֆիլ *a*-ի հետ միասին պարունակվում է կարմիր *Rhodophyceae* ջրիմուռներում, նրա կառուցվածքը վերջնականապես պարզաբանված է: Պերմանգանատով քլորոֆիլ *d*-ի օքսիդացման արդյունքում անջատվել է 2-դեզվինիլ-2-ֆորմիլքլորոֆիլ *a*, ընդ որում՝ այդ ընթացքում կարբօքսիլային օղակը փոփոխության չի ենթարկվել: Ստացվել են այդ միացության սպեկտրները, որոնք նման են հայտնի քլորոֆիլ *a*-ի սպեկտրներին:

## Գլուխ 12. Լիպոպրոտեիդներ

Լիպոպրոտեիդները լիպիդային և սպիտակուցային բաղադրիչներից կազմված կոմպլեքսներ են, որոնք կազմում են կենդանի բջջի օրգանական նյութերի հիմնական զանգվածը և տարածված են բուսական, կենդանական և մանրէային ծագման տարբեր օրգանիզմներում: Կոմպլեքսում լիպիդի և սպիտակուցի քանակական հարաբերությունը որոշում է լիպոպրոտեիդի ֆիզիկական հատկությունները, հատկապես լուծելիությունը:

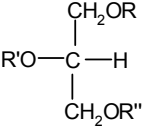
Լիպիդները մտնում են բջջի կառուցվածքային էլեմենտների կազմի մեջ, առաջին հերթին բջջային և սուբբջջային թաղանթների մեջ, նրանք կազմում են բջջաթաղանթի չոր զանգվածի ավելի քան 30%-ը: Լիպիդների բարձր քանակություն է հայտնաբերվել կենդանիների և մարդու տարբեր օրգաններում, մասնավորապես գլխուղեղում և ողնուղեղում, արյան մեջ, լյարդում, սրտում, երիկամներում և այլն: Առանձնապես բարձր է նրանց քանակությունը նյարդային համակարգում (20-25%): Լիպիդների մասնակցությամբ ընթանում են այնպիսի կարևոր կենսաքիմիական պրոցեսներ, ինչպիսիք են նյարդային ազդակի (իմպուլսի) հաղորդումը, թաղանթի միջով ակտիվ տրանսպորտը, ճարպերի տրանսպորտը արյան պլազմայում, սպիտակուցի սինթեզը և այլ ֆերմենտային պրոցեսներ, հատկապես այն պրոցեսները, որոնք կապված են էլեկտրոնների տեղափոխման և օքսիդիչ ֆոսֆորիլացման հետ:

Բջջի կյանքում լիպիդների ֆունկցիաների բազմազանությունը պայմանավորում է այն կարևորագույն դերը, որը նրանք իրականացնում են էներգետիկ պրոցեսներում, օրգանիզմի պաշտպանական ռեակցիաներում, օրգանիզմի հասունացման և ծերացման պրոցեսներում և այլն:

Լիպիդները քիմիական տեսակետից իրենցից ներկայացնում են տարաբնույթ նյութեր: Դրանց շարքին նպատակահարմար է դասել բարձր ճարպաթթուների, սպիրտների և ալդեհիդների կենսաբանորեն ակտիվ ածանցյալները: Այդ տեսակետից բոլոր լիպիդները կարելի է ստորաբաժանել երեք հիմնական խմբերի՝ չեզոք լիպիդներ, ֆոսֆոլիպիդներ և սֆինգոլիպիդներ:

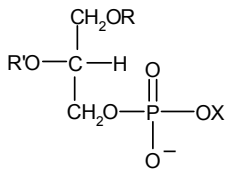


• Չեզոք լիպիդներին են պատկանում բարձր ճարպաթթուների, սպիրտների և ալդեհիդների ածանցյալները, որոնք օժտված են հիդրոֆոբ հատկություններով և ունեն հետևյալ ընդհանուր բանաձևը.

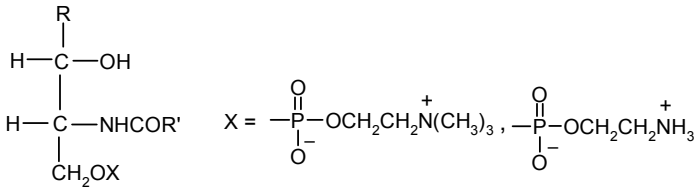


Դրանք են տրիգլիցերիդները (R-ը՝ ացիլ), չեզոք պլազմալոզեները (R-ը՝ OCH=CHR'''), ալկիլդիացիլգլիցերիդները (R-ը՝ ալկիլ), գլիկոգլիցերիդները (R-ը՝ գլիկոգլային մնացորդ): Այդ խմբին կարելի է դասել նաև դիոլային լիպիդները, խոլեստերինի պարզ և բարդ եթերները և բազմատեսակ գլիկոլիպիդներ:

• Ֆոսֆոլիպիդները, բացի նշված հիդրոֆոբ բաղադրիչներից (R, R'), պարունակում են նաև հիդրոֆիլ մնացորդներ (X), որոնց դերում կարող են հանդես գալ ֆոսֆորական կամ ֆոսֆոնային թթուները և դրանց հետ կապված ազոտային հիմքերը, ամինաթթուները, պոլիոլները և այլն:



• Սֆինգոլիպիդները լիպիդներ են, որոնք պարունակում են երկարաշղթա ամինոդիոլներ (սֆինգոզիմային հիմքեր) և ունեն հետևյալ ընդհանուր բանաձևը.



Լիպիդների առաջնային դասակարգման համար բնորոշ հատկանիշ են հանդիսացել նրանց կառուցվածքի մեջ մտնող բազմատոմ ալիֆատիկ սպիրտները, որոնք պարունակում են երկու կամ երեք հիդրօքսիլ խմբեր:

Լիպիդները գործում են օրգանիզմում հիմնականում սպիտակուցների հետ կոմպլեքսված վիճակում: Լիպոպրոտեինի ֆիզիկաքիմիական և կենսաբանական հատկությունները պայմանավորված են կոմպլեքսում լիպիդի և սպիտակուցի քանակական հարաբերությամբ, և այդ հատկությունը դրված է լիպիդասպիտակուցային կոմպլեքսների դասակարգման հիմքում: Կոմպլեքսները, որոնք լուծելիությամբ ավելի մոտ են սպիտակուցներին, այսինքն՝ լավ են լուծվում ջրում և աղերի ջրային լուծույթներում, դասակարգվում են որպես **լիպոպրոտեիդներ**: Իսկ կոմպլեքսները, որոնք լիպիդների մնացած լավ են լուծվում օրգանական լուծիչներում և անլուծելի են ջրում, կոչվում են **պրոպեռոլիպիդներ**: Վերջիններս հիմնականում առկա են գլխուղեղի սպիտակ նյութում, նրանց քիչ քանակներ գտնվում են նաև օրգանիզմի այլ հյուսվածքներում:

Տարբերում են երկու հիմնական տեսակի բնական լիպոպրոտեիններ. 1. արյան պլազմայի լիպոպրոտեիններ, որոնք հիմնականում գտնվում են արյան և հյուսվածքային հեղուկների ջրային ֆազում, 2. բջջային կառուցվածքների լիպոպրոտեիններ, որոնք կազմում են բջջային թաղանթների կառուցվածքային հիմքը:

### 12.1. Արյան պլազմայի լիպոպրոտեիններ

Արյան պլազմայում լիպիդների չնչին քանակությունն է գտնվում ազատ վիճակում լիպիդային միցելների տեսքով, նրանք հիմնականում գտնվում են լիպոպրոտեինների տեսքով: Կոմպլեքսացվելով սպիտակուցներն օժանդակում են լիպիդներին անցնելու լուծելի ձևի, ինչը հեշտացնում է նրանց տեղափոխումն արյան միջոցով:

Բնական լիպոպրոտեիդները լաբիլ են, քանի որ նրանց կառուցվածքը հիմնականում կազմավորվում է տարբեր բնույթի թույլ փոխազդեցությունների հաշվին: Այդ պատճառով նրանց անջատման գործընթացներում հնարավոր են սպիտակուցի բնական կառուցված-

քի բազմատեսակ փոփոխություններ, ինչը բնականաբար խնդիրներ է առաջացնում նրանց կառուցվածքային հետազոտությունների ժամանակ: Պլազմայի լիպոպրոտեինները միատարր չեն և կարող են բաժանվել մի շարք դասերի: Որոշ ֆիզիկական մեթոդների համակցված օգտագործումը (հիմնականում էլեկտրաֆորեզի և ուլտրացենտրիֆուգման) թույլ է տվել արյան շիճուկի լիպոպրոտեինները ստորաբաժանել չորս հիմնական դասերի, որոնք միմյանցից տարբերվում են ֆիզիկական և քիմիական հատկություններով:

Ուլտրացենտրիֆուգման եղանակով պլազմայի լիպոպրոտեինների բաժանման հիմքում ընկած են լիպիդների և սպիտակուցների խտությունների էական տարբերությունները (համապատասխանաբար՝ 0,88-1,06 և 1,30-1,35): Լիպիդի և սպիտակուցի տարբեր հարաբերություններով լիպոպրոտեինների առաձին դասերը բնութագրվում են խտության որոշակի արժեքներով: Այդ մեթոդի տարբերակներից մեկը ներառում է ջրային միջավայրում տվյալ դասի լիպոպրոտեինի ֆլոտացիայի արագության ( $S_f$ ) չափումը:  $S_f$  մեծությունը կախված է լիպոպրոտեինի մոլեկուլի խտությունից, չափերից և ձևից: Առավել փոքր խտությամբ (ցածր սպիտակուց/լիպիդ հարաբերությամբ) լիպոպրոտեինները ունեն  $S_f$ -ի բարձր արժեք: Մեթոդի մյուս տարբերակը հիմնված է ըստ խտության գրադիենտի ցենտրիֆուգման վրա: Այդ նպատակով պլազմայի խտությունը աստիճանաբար մեծացնում են այնպիսի նյութերի լուծույթների ավելացմամբ, որոնք չեն ազդում նրա հատկությունների վրա: Արդյունքում ուլտրացենտրիֆուգման պրոցեսում լիպոպրոտեինները շերտերի տեսքով կոնցենտրացվում են լուծույթի այն տեղերում, որտեղ նրա խտությունը համապատասխանում է լիպոպրոտեինի խտությանը:

Պլազմայի լիպոպրոտեինների առանձին դասերի անջատման, մաքրման և հոմոգենության ստուգման համար օգտագործում են նաև տարբեր կրիչների (թուղթ, ցելյուլոզի ացետատ, ազար-ազար, ակրիլամիդ և այլն) վրա էլեկտրաֆորեզի տարբերակը: Պլազմայի լիպոպրոտեինների բաժանումը առանձին դասերի և նրանց մաքրումը հնարավոր են նաև նստեցման մեթոդով: Դրանց ավելի տարածված տարբերակը հիմնված է լիպոպրոտեինների՝ տարբեր պոլիմեր-

ների հետ չլուծվող կոմպլեքսներ առաջացնելու հատկությունների վրա, օրինակ՝ պոլիկատիոնների (պոլիվինիլպիրոլիդոն և այլն) և պոլիանիոնների (պոլիսախարիդների սուլֆատներ և այլն) հետ: Լիպոպրոտեիդների մաքրման համար վերջին ժամանակներս կիրառում են նաև հելֆիլտրացիայի և քրոմատոգրաֆիայի մեթոդները:

Մարդու արյան պլազմայի լիպոպրոտեինների առաջին ֆունկցիոնալ կարևոր խումբը կրում է բարձր խտության լիպոպրոտեիդներ կամ  $\alpha$ -լիպոպրոտեիդներ անվանումը: Թղթի կամ կրախմալի վրա էլեկտրաֆորեզի դեպքում այդ լիպոպրոտեիդների շարժունակությունը համապատասխանում է  $\alpha$ -գլոբուլինների շարժունակությանը:

Տարբեր լուծիչներով այդ լիպոպրոտեիդների էքստրակտման ժամանակ հեռացվում է նրանց լիպիդային մասը, և մնում է սպիտակուցը, որը կոչվում է ապոլիպոպրոտեիդ A: Այն ընդունակ է կրկին փոխազդել լիպիդների հետ և առաջացնել լիպոպրոտեիդներ: Ապոլիպոպրոտեիդ A-ն կազմված է մի քանի տասնյակ պոլիպեպտիդային շղթաներից, որոնք N-ծայրում պարունակում են ասպարագինաթթու, իսկ C-ծայրում՝ քրեոնին:

Ցածր խտության լիպոպրոտեիդները, որոնք այլ կերպ կոչվում են  $\beta$ -լիպոպրոտեիդներ, հայտնաբերվել են էլեկտրաֆորեզի ժամանակ և ունեն  $(1,3-3,2) \times 10^6$  մոլեկուլային զանգված: Ապոլիպոպրոտեիդ B-ն, որը ստացվում է  $\beta$ -լիպոպրոտեիդից լիպիդի հեռացման արդյունքում, պարունակում է երկու պոլիպեպտիդային շղթա, որոնցից յուրաքանչյուրի N-ծայրում գտնվում է գլուտամինաթթու, իսկ C-ծայրում՝ սերին:

Ավելի ցածր խտության լիպոպրոտեիդները կամ պրե- $\beta$ -լիպոպրոտեիդները հանդիսանում են արյան պլազմայի լիպոպրոտեինների հաջորդ խումբը, և դրանք իրենցից ներկայացնում են խոշոր չափերով մասնիկներ, որոնց քիմիական կազմը կարող է զգալի չափով փոփոխվել: Մեծ խտությամբ պրե- $\beta$ -լիպոպրոտեիդներում սպիտակուցը կազմում է չոր զանգվածի մոտ 13%-ը, իսկ եռզիցերիդները՝ 50%-ը, այն դեպքում, երբ ցածր խտության մոլեկուլներում սպիտակուցը կազմում է չոր զանգվածի միայն 2%-ը, իսկ եռզիցերիդները՝

80%-ը: Պրե-β-լիպոպրոտեինները պարունակում են ապոլիպոպրոտեին B:

Խիլոմիկրոնները պարունակում են մեծ քանակությամբ եռզլիցերիդներ (~75-95%) և սպիտակուցի, խոլեստերինի և ֆոսֆոլիպիդների ոչ մեծ քանակություններ: Ընդ որում՝ էլեկտրաֆորեզի դեպքում լիմֆոտիկ խիլոմիկրոններին բնորոշ է ալբումինի շարժունակությունը, իսկ պլազմատիկ խիլոմիկրոնները օժտված են  $\alpha_2$ -գլոբուլինի էլեկտրաֆորետիկ շարժունակությամբ:

Լիպոպրոտեիդների նկարագրված դասերը գտնվում են բոլոր կաթնասունների արյան պլազմայում: Տարբեր դասերի լիպոպրոտեիդների պարունակությունը մարդկանց մոտ կախված է տարիքից, սեռից, կյանքի պայմաններից և այլն, և այն փոփոխվում է օրգանիզմի որոշ պաթոլոգիական վիճակներում: Օրինակ՝ միոկարդի ինֆարկտով հիվանդների մոտ նկատվում է արյան պլազմայում ցածր խտության լիպոպրոտեիդների պարունակության բարձրացում:

Լիպոպրոտեիդների վերոհիշյալ դասերից ոչ մեկն էլ հոմոգեն չէ, այլ իր հերթին պարունակում է տարբեր քրոմատոգրաֆիական, էլեկտրաֆորետիկ և ինունոլոգիական հատկություններով ֆրակցիաներ: Այսպես՝ β-լիպոպրոտեիդները բաղկացած են երկու ֆրակցիաներից, որոնք միմյանցից տարբերվում են ապոլիպոպրոտեիդների կազմով: Պրե-β-լիպոպրոտեիդները բաղկացած են երկու տեսակի մասնիկներից, որոնք տարբերվում են իրարից չափերով, խտությամբ, ինչպես նաև ապոպրոտեիդների հատկություններով:

Խիլոմիկրոններին բնորոշ է միևնույն կազմով, բայց տարբեր չափերով մասնիկների առկայությունը: Լիպոպրոտեիդների տարբեր դասեր բնութագրվում են լիպիդների յուրահատուկ բաղադրությամբ: Այսպես՝ խիլոմիկրոններում և պրե-β-լիպոպրոտեիդներում գերակշռում են եռզլիցերիդները, α-լիպոպրոտեիդներում՝ ֆոսֆոլիպիդները (մինչև 30%), իսկ, օրինակ, β-լիպոպրոտեիդներին բնորոշ է խոլեստերինի եթերների բարձր պարունակությունը (մինչև 35%):

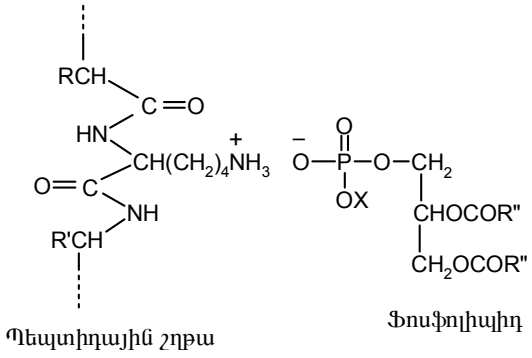
Ֆոսֆոլիպիդների հիմնական մասը պլազմայում ներկայացված է ֆոսֆատիդիլեթանոլամիններով, լեցիտիններով և սֆինգոմիելիններով:

րով: Բավականին քիչ քանակությամբ են պարունակվում պլազմալո-  
գենները, ֆոսֆոհինոզիտիդները և ֆոսֆատիդիլսերինը (գումարային  
մինչև 2%):

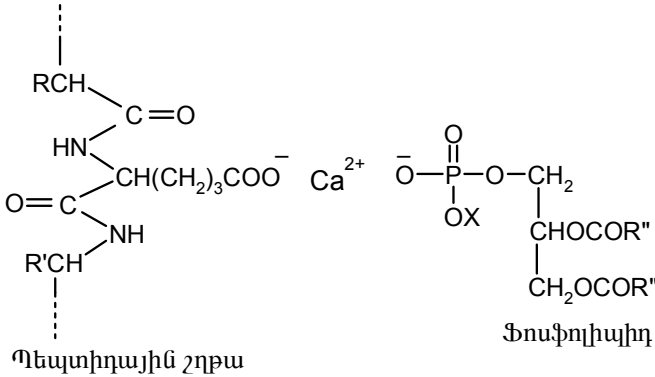
Վերոհիշյալ դասերի լիպոպրոտեիդների սպիտակուցային բա-  
ղադրիչների ուսումնասիրության ժամանակ պարզվել է, որ լիպոպրո-  
տեիդների յուրաքանչյուր դասի համար սպիտակուցի միջին կազմը  
հաստատուն է: Ապոպրոտեիդների ամինաթթվային կազմի առավե-  
լագույն նմանություններ հայտնաբերվել են  $\beta$ - և  $\alpha$ -լիպոպրո-  
տեիդների մոտ, իսկ նվազագույն նմանություններ՝  $\alpha$ - և  $\beta$ -լիպոպրո-  
տեիդների դեպքում: Տարբեր դասերի լիպոպրոտեիդների կազմում  
հայտնաբերվել են բոլոր այն ամինաթթուները, որոնք առկա են ար-  
յան պլազմայի սպիտակուցներում:

Լիպոպրոտեիդների կառուցվածքում լիպիդային բաղադրիչը  
միանում է սպիտակուցին տարբեր ոչ կովալենտային բնույթի փո-  
խազդեցությունների հաշվին, որոնց շարքում հիմնական դերը պատ-  
կանում է Վան-դեր-Վալսյան փոխազդեցություններին: Դրանք ծա-  
գում են լիպիդի հիդրոֆոբ մարզերի և սպիտակուցի պոլիպեպտիդա-  
յին շղթայի մեջ մտնող ամինաթթուների կողքային ոչ բևեռային  
խմբերի միջև:

Լիպոպրոտեիդային կառուցվածքների առաջացմանը մասնակ-  
ցում են նաև իոնական բնույթի փոխազդեցություններ, օրինակ՝ լի-  
պիդների ( $PO_4^-$ ,  $PO_4^{-2}$ ,  $NH_3^+$ ,  $N(CH_3)_3^+$ ,  $COO^-$ ) և սպիտակուցի ամին-  
աթթվային մնացորդների ( $NH_3^+$ ,  $COO^-$ ) լիցքավորված խմբերի միջև:



Երկվալենտ կատիոնները, օրինակ՝  $Ca^{2+}$  և  $Mg^{2+}$  իոնները, կարող են կատարել կապող կամրջակի դեր լիպիդի և սպիտակուցի անիոնային խմբերի միջև:



Լիպոպրոտեիդների կառուցվածքի կայունացման գործում որոշակի դեր է կատարում նաև ջուրը, սակայն հավանաբար նրա չափաբաժինը կայունացման մեջ չնչին է, քանի որ ջրի քանակությունը լիպոպրոտեիդում չի գերազանցում 0,1 գ/գ լիպիդը:

Լիպոպրոտեիդների շատ տեսակներ պարունակում են բավականին մեծ քանակությամբ լիպիդներ, որպեսզի սպահովեն լիպիդային մնացորդների ոչ բևեռային հատվածների անմիջական կապը սպիտակուցի ոչ բևեռային մարզերի հետ: Նման դեպքերում լիպոպրոտեիդների կառուցվածքը պետք է ներառի նաև լիպիդ-լիպիդային փոխազդեցությունը: Հավանաբար կարելի է պատկերացնել լիպոպրոտեիդների երկու ծայրահեղ տեսակ: Մի դեպքում լիպոպրոտեիդում լիպիդի յուրաքանչյուր մոլեկուլ յուրահատուկ ձևով կապված է իրեն կոմպլեմենտար սպիտակուցային կառուցվածքի հետ, իսկ մյուս դեպքում լիպոպրոտեիդի մոլեկուլը ներառում է լիպիդային ազրեգատներ (լիպիդ-լիպիդային փոխազդեցությունների շնորհիվ), որոնք նույնպես փոխազդում են սպիտակուցային մոլեկուլների հետ: Այս երկու տեսակների միջև առկա է միջանկյալ վիճակ:

Էլեկտրոնային մանրադիտակով արյան պլազմայի լիպոպրոտեիդային մասնիկների ուսումնասիրության ժամանակ պարզվել է, որ նրանք իրենցից ներկայացնում են տարբեր տրամագծի գնդաձև մասնիկներ: Առավել լայն տարածված լիպոպրոտեիդը, օրինակ՝ խիլոմիկրոնը, մոտ 100 նմ տրամագծով գնդաձև մասնիկ է, որի ներսում գտնվում են եռգլիցերիդները, իսկ արտաքին մակերևույթին միաշերտի տեսքով՝ ֆոսֆոլիպիդները: Ֆոսֆոլիպիդների մոլեկուլների բևեռացված գլխիկները ուղղված են դեպի արտաքին մասը, այնպես որ միցելը իրենից ներկայացնում է հիդրոֆիլ մասնիկը: Սպիտակուցի քիչ պարունակության շնորհիվ (մոտ 2%) խիլոմիկրոններում նա չի կարող նկատելի դեր խաղալ միցելների առաջացման գործընթացներում: Ենթադրվում է, որ պեպտիդային շղթաները բաշխված են մասնիկների արտաքին մակերևույթին: Դրա մասին են վկայում լիպոպրոտեիդների լուծելիությունը ջրում, տիտրման հնարավորությունը, էլեկտրաֆորետիկ շարժունակությունը (գլոբուլինների մակարդակի), լիպիդային մասնիկների մակերեսին ադսորբվելու արյան սպիտակուցների բարձր հակվածությունը և այլն:

Ցածր խտության լիպոպրոտեիդային մասնիկներում սպիտակուցի քանակը անբավարար է լիարժեք մակերեսային շերտի առաջացման համար, և հնարավոր է, որ մնան դեպքերում մասնիկների մակերեսին սպիտակուցների հետ միասին առկա լինեն նաև ֆոսֆոլիպիդներ: Այդպիսի մասնիկների ներքին մակերեսը կազմավորված է չեզոք լիպիդներից: Բարձր խտության լիպոպրոտեիդներում սպիտակուցի քանակությունը բավարար է բոլոր լիպիդային մոլեկուլների հետ փոխազդելու համար:

Լիպոպրոտեիդային կոմպլեքսում սպիտակուցի կառուցվածքը լիարժեք պարզաբանված չէ: Ենթադրվում է, որ  $\beta$ -լիպոպրոտեիդների սպիտակուցն ունի ծալքային կառուցվածք, իսկ բարձր խտության լիպոպրոտեիդի սպիտակուցը՝  $\alpha$ -պարուրային կոնֆիգուրացիա: Լիպոպրոտեիդից բնական վիճակով սպիտակուցի անջատումը դժվար խնդիր է վերջինիս հեշտ դենատուրացման պատճառով:



## 12.2. Կենսաթաղանթային կառուցվածքներ

Կենդանի բջջի կենսունակության և ֆունկցիաների ապահովման մեջ կենտրոնական դեր ունեն կենսաթաղանթները: Նրանք առանձնացնում են բջիջը շրջապատող միջավայրից (պլազմատիկ թաղանթ) և բջջի առանձին մասեր միմյանցից (բջջային թաղանթ):

Տարբերում են բջջային թաղանթների մի շարք տեսակներ (միտոքոնդրիումային, կորիզային, ցիտոպլազմատիկ, էնդոպլազմատիկ ռետիկուլումի թաղանթային բաղադրամասեր և այլ ներբջջային օրգանելներ), որոնք բնորոշ են բազմաբջիջ օրգանիզմների բոլոր բջիջներին: Կենսաթաղանթները կատարում են կարևոր դեր այնպիսի բարդ կենսաքիմիական պրոցեսներում, ինչպիսիք են էներգիայի տրանսֆորմացումը, նյարդային իմպուլսների հաղորդումը, նյութերի և իոնների տրանսպորտը և այլն: Բոլոր կենսաթաղանթները իրենցից ներկայացնում են երկչափանի համակարգեր:

Կենսաթաղանթների հիմնական կառուցվածքային միավորները հանդիսանում են սպիտակուցները և լիպիդները, որոնք կապված են միմյանց հետ ոչ կովալենտային կապերով (պոլիսախարիդները համարվում են երկրորդական բաղադրիչներ): Առանձին կենսաբանական թաղանթները բնութագրվում են սպիտակուցային և լիպիդային բաղադրիչների տարբեր հարաբերակցությամբ: Որպես կանոն, թաղանթային պրեպարատներում լիպիդների պարունակությունը կազմում է 20-40%, օրինակ՝ կաթնասունների սրտի միտոխոնդրիալ թաղանթներում լիպիդների քանակությունը կազմում է 27-29%, պլազմատիկ թաղանթներում՝ 35-40% և այլն:

Կենսաբանական թաղանթներում լիպիդների հիմնական տեսակը ֆոսֆոլիպիդներն են (օրինակ՝ մինչև 90% միտոխոնդրիալներում): Ընդ որում՝ թաղանթի յուրաքանչյուր տեսակ բնութագրվում է ֆոսֆոլիպիդի և սպիտակուցի խիստ որոշակի հարաբերությամբ և ֆոսֆոլիպիդների անհատական հավաքածուով, այսինքն՝ ֆոսֆոլիպիդների բևեռային գլխիկների և հիդրոֆոբ հատվածների կառուցվածքը յուրահատուկ է թաղանթի յուրաքանչյուր տեսակի համար: Ածխաջրերը թաղանթների կազմի մեջ հանդիպում են գլիկոպրոտեինների կամ

գլխովիայիդների ձևով՝ կազմելով թաղանթների ընդհանուր պարունակության 0,5-10%-ը: Ազատ ածխաջրեր թաղանթներում գրեթե չեն հանդիպում:

Կենսաբանական թաղանթների լիպիդների հիդրոֆիլային հատվածի տարրեր կազմի հետ միասին նկատվում է նաև հիդրոֆոբային բաղադրիչների, այսինքն՝ ճարպաթթուների, սպիրտների և ալդեհիդների մնացորդների ածխաջրածնային շղթաների զգալի բազմազանություն: Թաղանթների լիպիդների կազմում նույնականացված են ավելի քան 2 ճարպաթթուներ, որոնք տարբերվում են իրարից ածխաջրածնային շղթայի երկարությամբ, չհագեցվածության և ճյուղավորվածության աստիճանով: Օրինակ՝ միտոխոնդրիալ և ցիտոպլազմատիկ թաղանթներում գերակշռում են պոլիչհագեցած թթուները, պլազմատիկ և միելինային թաղանթներում՝ հագեցած և մոնոչհագեցած թթուները:

Հավանաբար, թաղանթի կազմավորման համար անհրաժեշտ է հիդրոֆիլ և հիդրոֆոբ բաղադրիչների որոշակի բալանս (հավասարակշռություն): Հիդրոֆոբ բաղադրիչների կառուցվածքում փոփոխությունները հավանաբար ապահովում են ֆոսֆոլիպիդների ֆիզիկական վիճակը, ինչը անհրաժեշտ է մետաբոլիկ և դիֆուզիոն պրոցեսների ընթացքի համար:

Որոշ թաղանթներում առկա են չեզոք լիպիդների զգալի քանակություններ, որոնք անմիջապես չեն մասնակցում սպիտակուցի հետ կապմանը, սակայն բաշխվելով ֆոսֆոլիպիդային միցելների ներսում՝ փոփոխություն են մտցնում նրանց հիդրոֆոբային մասում և դրանով անուղղակի ձևով մասնակցում են սպիտակուցի հետ միցելի կապմանը:

Թաղանթային սպիտակուցները ավելի քիչ են ուսումնասիրված, քան լիպիդները: Դրանք պայմանականորեն կարելի է բաժանել երկու տեսակի. 1. կատալիտիկ ակտիվությամբ օժտված (կամ ֆերմենտային) թաղանթային սպիտակուցներ և 2. կառուցվածքային սպիտակուցներ, որոնք զրկված են կատալիտիկ ակտիվությունից: Կառուցվածքային սպիտակուցները կազմում են բոլոր թաղանթային սպիտակուցների 45-50%-ը, դրանք իրենցից ներկայացնում են սպի-

տակուցների հավաքածու, որոնք իրարից տարբերվում են մոլեկուլային զանգվածով և ամինաթթվային բաղադրությամբ: Կառուցվածքային սպիտակուցների համար բնութագրական է ոչ բևեռային կողքային շղթաներով ամինաթթուների բարձր պարունակությունը, որոնց շնորհիվ ապահովվում է ֆոսֆոլիպիդների հիդրոֆոբ հատվածների հետ սպիտակուցի փոխազդեցությունը:

Կենսաբանական թաղանթների կառուցվածքի վերաբերյալ կան մի շարք մոդելներ: Օրինակ՝ թաղանթը դիտվում է որպես սպիտակուցի և լիպիդի մոնոմոլեկուլային շերտերի համակարգ (*շերտային կառուցվածքով թաղանթի մոդել*), կամ թաղանթը կառուցված է կրկնվող ենթամիավորների շերտերից, որոնք իրենցից ներկայացնում են ենթամոլեկուլային լիպոպրոտեիդային կոմպլեքսներ (*ենթամիավորային մոդել*), կամ թաղանթը կառուցված է «սենդվիչի» (*սպիրակուց-լիպիդ-սպիրակուց*) սկզբունքով և այլն:

1970-ական թթ. Ս. Սենջերի և Լ. Նիկոլսոնի կողմից առաջարկվել է կենսաթաղանթների մոլեկուլային կառուցվածքի «հեղուկ-մոզաիկ» մոդելը: Համաձայն այդ մոդելի՝ կենսաթաղանթի հիմնական կառուցվածքային մասը հանդիսանում է լիպիդային երկշերտը, որում ֆոսֆոլիպիդների ածխաջրածնային շղթաները գտնվում են հեղուկ-բյուրեղային վիճակում: Լիպիդային երկշերտի մեջ ընկղմված են կառուցված սպիտակուցների մոլեկուլները, որոնք ունակ են շարժվելու թաղանթում: Հետևաբար, թաղանթները իրենցից չեն ներկայացնում էլեմենտների կոպիտ ֆիքսված համակարգեր, այլ թաղանթը ներկայացվում է որպես լիպիդների «ծով», որում լողում են սպիտակուցների «սառցակտորները (այսբերզները)»:

Թաղանթներում լիպիդները ներկայացված են երեք հիմնական դասերով՝ ֆոսֆոլիպիդներ, գլիկոլիպիդներ և ստերոիդներ: Բոլոր թաղանթային լիպիդներն իրենցից ներկայացնում են ամֆիֆիլ մոլեկուլներ, որոնք ունեն միատեսակ կառուցվածք: Դրանք կազմված են երկու մարզից՝ հիդրոֆոբ ռադիկալներ (պոչիկներ) և բևեռային գլխիկներ, որոնք տարբերվում են իրարից ջրի նկատմամբ ունեցած խնամակցությամբ:

Ըստ թաղանթների լիպիդային երկշերտում սպիտակուցների բաշխվածության՝ նրանց կարելի է ստորաբաժանել երկու դասի.

- մակերևութային (կամ պերիֆերիկ) թաղանթային սպիտակուցներ, որոնք կապված են լիպիդային երկշերտի հիդրոֆիլ մակերևույթի հետ,
- ինտեգրալ սպիտակուցներ, որոնք ընկղմված են երկշերտի հիդրոֆոբ մարզի մեջ:

Պերիֆերիկ սպիտակուցները կապված են երկշերտի հիդրոֆիլային մակերևույթի հետ ոչ կովալենտային (իոնական, ջրածնական) կապերով իրենց բևեռացված ռադիկալների շնորհիվ: Այդ տեսակի սպիտակուցները կարելի է հեշտությամբ անջատել թաղանթից՝ չխաթարելով նրա ամբողջականությունը:

Ինտեգրալ սպիտակուցները տարբերվում են երկշերտի հիդրոֆոբ մարզում իրենց ընկղմվածության աստիճանով: Դրանք կարող են մեկ կամ մի քանի  $\alpha$ -պարույրների տեսքով հատել թաղանթը, ընդ որում՝ այդ սպիտակուցների կառուցվածքի խոշոր հիդրոֆիլ հատվածն ուղղորդված է դեպի ջուրը:

Եթե կենսաթաղանթի կառուցվածքային առանձնահատկությունները բնորոշվում են լիպիդային երկշերտի հատկություններով, ապա նրա ֆունկցիոնալ առանձնահատկությունները բնորոշվում են սպիտակուցներով: Ըստ թաղանթներում սպիտակուցների կատարած դերի՝ դրանք ստորաբաժանվում են երկու խմբի, որոնք կոչվում են *կառուցվածքային* և *դինամիկ* սպիտակուցներ: Կառուցվածքային սպիտակուցները հիմնականում պերիֆերիկ սպիտակուցներ են և ապահովում են ամբողջ թաղանթի կառուցվածքը: Դինամիկ սպիտակուցներն անմիջական մասնակցություն են ցուցաբերում այն պրոցեսներին, որոնք ընթանում են թաղանթների վրա:

Տարբերակում են թաղանթային սպիտակուցների հետևյալ տեսակները.

- տրանսպորտային սպիտակուցներ, որոնք մասնակցում են թաղանթով նյութերի տեղափոխմանը,

- կատալիտիկ սպիտակուցներ կամ թաղանթային ֆերմենտներ, որոնք ինտեգրված են թաղանթներում և կատալիզում են այնտեղ ընթացող պրոցեսները,
- ռեցեպտորային սպիտակուցներ կամ թաղանթային ռեցեպտորներ, որոնք թաղանթի արտաքին մասում յուրահատուկ ձևով կապվում են այնպիսի միացությունների հետ, ինչպիսիք են հորմոնները, նեյրոմեդիատորները, թույները, ինչն էլ ազդանշան է հանդիսանում թաղանթներում և բջջում մետաբոլիկ պրոցեսների փոփոխության համար,
- բջջային ադիեզիայի մոլեկուլներ:

## Օգնագրության գրականություն

1. Преображенский Н. А., Евстигнеева Р. П., “Химия биологически активных природных соединений”, Изд. “Химия”, т. 1, Москва, 1970.
2. Delgado S. N., Remers W. A., “Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry”, 1998, New-York.
3. Полинг Л., Кори Р., Хейуорд Р., “Химия и физика жизни”, Издательство, 1960, с. 64.
4. Pauling L., Corey R. B. // *Proc. Roy Soc.*, B, v. 141, 1953, p. 21.
5. Овчинников Ю. А., “Современные проблемы химии пептидов и белков”, Изд. “Наука”, 1969.
6. Денюэль П., “Белки”, под ред. Нейрата Г. и Бейли К., “Издательство”, т. 1, 1956.
7. Sanger F. // *Nature*, v. 164, 1949, p. 259.
8. Остославская В. И., Пугачев И. Б., Вахитова Э. А., Кривцов В. Ф., Муратова Г. Л., Левин Е. Д., Степанов В. М. // *Биохимия*, v. 33, 1968, p. 331.
9. Thomas J. L., Mack V. L., Glow J. A., Moshkelani D., Terrell J. R., Bucholz K. M., // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, v. 111, No 1-2, 2008, pp. 66-73.
10. Bairoch A. // *The ENZYME database in 2000 Nucleic Acids Res*, v. 28, 2000, pp. 304-305.
11. Jones A. R., Scrutton N. S., Woodward J. R. // *J. Am. Chem. Soc.*, v. 128, 2006, p. 8408.
12. Sarkissian C. N., Gamez A., Wang L., Charboneau M., Fitzpatrick P., Lemontt J. F., Zhao B., Vellared M., Bell S.m., Henschel C., Lambert A., Tsuruda L. // *Proc Nat Acad Sci USA.*, v. 105, No 52, 2008, p. 20894.
13. Gosmanov A. R., Lewis J. B. // *Am. J. Med.*, v. 121, No 2, 2008, p. 11.
14. Мардашев С. С., “Некоторые проблемы регуляции обмена веществ и природные полимеры”, Изд. “Медицина”, 1965.
15. Haak R. M., Tarabiono C., Janssen D. B., Minaard A. J., de Vries J. G., Feringa B. L. // *Org. Biomol. Chem.* v. 5, 2007, p. 318.
16. Trost B. M. and Fleming I. // *Comprehensive Org. Synthesis*, v. 6, New-York, 1992.
17. Уилкинсон Дж., “Изоферменты”, Изд. “Мир”, 1968.
18. Semenova S. A., Rudenskaya G. N., Lyutova L. V., Nikitina O. A. // *Biochemistry*, v. 73, No 10, 2008, p. 1125.

19. Браунштейн А. Е., “Ферменты”, Изд. “Наука”, 1964.
20. Leinonen J., Parkkila S., Kaunisto K., Koivunen P., Rajaniemi H. // *J. Histochem. Cytochem.* v. 49, No 5, 2001, p. 657.
21. Rungsriruriyachai K., Gadda G. // *Biochemistry*, v. 47, No 26, 2008, p. 6762.
22. Da Silva A. J., Teles R. C., Esteves G. F., Dos Santos C. R., Barbosa J. A., De Freitas S. M. // *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun.*, v. 64, No 10, 2008, p. 914.
23. Нейрат Г., “Молекулы и клетки”, под ред. Франка Г. М., вып. 1, Изд. “Мир”, 1966.
24. Chence B. // *Adv. in Enzymol.*, v. 12, 1951, p. 153.
25. Кабачник М. И. // *Вестник АН СССР*, v. 5, 1968, p. 86.
26. *Biochemistry of Quinones*, Morton R. A. (ed.), Acad. Press., London – New-York, 1965.
27. Karhumaa K., Wiedemann B., Hahn-Hägerdal B., Boles E., Gorwa-Grauslund M. F. // *Microb Cell Fact.*, v. 10, No 5, 2006, p. 18.
28. Neuwirth M., Flicker K., Strohmeier M., Tews I., Macheroux P. // *Biochemistry*, v. 46, No 17, 2007, p. 5131.
29. Ragsdale S. W. // *Vitam. Horm.*, v. 79, 2008, p. 293.
30. Линен Ф., “Молекулярная биология”, Изд. “Наука”, 1964.
31. Елинов Н. П., “Основы биотехнологии”, Изд. “Наука”, 1995.
32. Чаргафф Э., Дэвидсон Дж., “Нуклеиновые кислоты”, т. III, “Издательство”, 1962.
33. Мартин Р., “Введение в биофизическую химию”, Изд. “Мир”, 1966.
34. Чаргафф Э., Дэвидсон Дж., “Нуклеиновые кислоты”, т. III, “Издательство”, 1968.
35. Корана Г., “Новые направления в химии биологически важных эфиров фосфорной кислоты”, Изд. “Мир”, 1964.
36. Голубчикова О. А., “Успехи химии порфиринов”, Изд. “НИИ Химии”, С.-Петербург, 2004.
37. Преображенский Н. А., Евстигнеева Р. П., “Химия биологически активных природных соединений”, т. 2, Изд. “Химия”, Москва, 1976.
38. Комова В. П., Шведова В. Н., “Биохимия”, Изд. “Дрофа”, Москва, 2004.

## Քովանդակությունը

<b>Նախաբան</b> .....	3
<b>ԲԱԺԻՆ I. Ամինաթթուներ</b> .....	6
<b>Գլուխ 1. Ամինաթթուների բնութագրական հատկանիշները</b> .....	6
1.1. Դասակարգումը .....	6
1.2. Ամինաթթուների կենսաբանական հատկությունները .....	12
1.3. Ամինաթթուների ստերեոքիմիան .....	27
1.3.1. Բացարձակ կոնֆիգուրացիան .....	27
1.3.2. Ամինաթթուների բացարձակ կոնֆիգուրացիայի և օպտիկական մաքրության որոշման մեթոդները .....	34
1.4. Ամինաթթուների ֆիզիկաքիմիական հատկությունները .....	41
1.5. Ամինաթթուների անալիզի մեթոդները .....	47
1.6. Ամինաթթուների քիմիական հատկությունները .....	57
1.6.1. $\alpha$ -COOH խմբի ռեակցիաները .....	58
1.6.2. $\text{NH}_2$ խմբի ռեակցիաները .....	60
1.6.3. COOH և $\text{NH}_2$ խմբերի համատեղ ռեակցիաները .....	63
<b>Գլուխ 2. Ամինաթթուների ստացման մեթոդները</b> .....	66
2.1. Մանրէաբանական սինթեզ .....	66
2.2. Կենսատրանսֆորմացիա .....	78
2.3. Խառը քիմիաէնզիմատիկ սինթեզ .....	82
2.4. Քիմիական սինթեզ .....	86
2.5. Ասիմետրիկ սինթեզ .....	93
2.5.1. Կատալիտիկ ասիմետրիկ սինթեզ .....	97
2.5.2. Ստեխիոմետրիկ ասիմետրիկ սինթեզ .....	102
2.6. Ամինաթթուների ռացեմատ խառնուրդների բաժանումը ...	120
2.7. $\beta$ -, $\gamma$ - և $\omega$ -ամինաթթուներ .....	129
<b>Օգտագործված գրականություն</b> .....	133
<b>ԲԱԺԻՆ II. Պեպտիդներ</b> .....	135
<b>Գլուխ 3. Պեպտիդային սինթեզ</b> .....	136
3.1. Ֆունկցիոնալ խմբերի պաշտպանում .....	138
3.1.1. $\alpha$ - $\text{NH}_2$ խմբի պաշտպանումը .....	138
3.1.2. $\alpha$ -COOH խմբի պաշտպանումը.....	144



3.1.3. Ռ-ադիլկալի ֆունկցիոնալ խմբերի պաշտպանումը .....	145
3.2. Ֆունկցիոնալ խմբերի ակտիվացում և պեպտիդային կապի առաջացում .....	149
3.2.1. $\alpha$ -COOH խմբի ակտիվացումը .....	149
3.2.2. $\alpha$ -NH <sub>2</sub> խմբի ակտիվացումը .....	158
3.3. Ամինաթթուների սիլիլային ածանցյալները պեպտիդային սինթեզում .....	159
3.4. Պեպտիդային սինթեզի ընդհանուր խնդիրները .....	161
3.5. Աստիճանական պեպտիդային սինթեզ .....	164
3.6. Ֆրագմենտների կոնդենսում .....	166
3.7. Պեպտիդային սինթեզ պոլիմերային հենքի վրա .....	168
3.8. Ցիկլիկ պեպտիդների սինթեզը .....	171
3.9. Պոլիպեպտիդների սինթեզ (պոլիկոնդենսում) .....	173
<b>Գլուխ 4. Հայտնի կառուցվածքով որոշ պեպտիդներ</b> .....	176
<i><b>Օգտագործված գրականություն</b></i> .....	194
<b>ԲԱԺԻՆ III. Սպիտակուցներ</b> .....	197
<b>Գլուխ 5. Սպիտակուցի կառուցվածքը</b> .....	197
5.1. $\alpha$ -պարուրային և $\beta$ -ծալքային կառուցվածքներ.....	200
5.2. Սպիտակուցի առաջնային կառուցվածքի որոշումը .....	204
5.2.1. Ամինաթթուների քանակական անալիզը .....	205
5.2.2. Ծայրային ամինաթթվային մնացորդների որոշումը .....	207
5.2.2.1. N-ծայրային ամինաթթվային մնացորդների որոշումը ..	207
5.2.2.2. C-ծայրային ամինաթթվային մնացորդների որոշումը ..	212
5.2.3. Դիսուլֆիդային կապերի ճեղքումը .....	214
5.2.4. Սպիտակուցի ընտրողական ճեղքումը ֆրագմենտների ..	217
<b>Գլուխ 6. Ֆերմենտներ</b> .....	225
6.1. Ֆերմենտների դասակարգումը .....	227
6.2. Ֆերմենտների կառուցվածքը .....	231
6.3. Իզոֆերմենտներ .....	232
6.4. Ֆերմենտի ակտիվության միավորները, ակտիվության որոշման մեթոդները .....	234
6.5. Ֆերմենտների ակտիվ կենտրոնի կառուցվածքը .....	236
6.6. Ֆերմենտների ակտիվ կենտրոնի ֆունկցիոնալ խմբերը ...	239
6.7. Որոշ ֆերմենտների ակտիվ կենտրոնի կառուցվածքը .....	246

6.7.1. α-քիմոտրիպսինի ակտիվ կենտրոնը.....	246
6.7.2. Ացետիլխոլինհիդրոլազի ակտիվ կենտրոնը.....	250
6.7.3. Կրեատինկինազի ակտիվ կենտրոնը.....	253
6.8. Ֆերմենտների նախորդների ակտիվացումը .....	254
6.9. Ֆերմենտների սպեցիֆիկությունը .....	257
6.10. Ֆերմենտային ռեակցիաների կինետիկան .....	268
6.11. Որոշ ֆերմենտների ազդեցության մեխանիզմները .....	281
6.11.1. Հիդրոլազ ֆերմենտների ազդեցության մեխանիզմը .....	281
6.11.2. Ացետիլխոլինհիդրոլազների ազդեցության մեխանիզմը .....	283
6.11.3. Լիզոցիմի ազդեցության մեխանիզմը .....	285
6.11.4. Տրանսֆերազ ֆերմենտների ազդեցության մեխանիզմը .....	289
6.12. Սետաղի դերը ֆերմենտային կատալիզում.....	291
<b>Գլուխ 7. Որոշ հայտնի ֆերմենտների կոֆակտորներ.....</b>	<b>294</b>
7.1. Ֆերմենտների անօրգանական կոֆակտորներ .....	295
7.2. Ֆերմենտների օրգանական կոֆակտորներ .....	296
7.2.1. Օքսիռեդուկտազների կոֆակտորներ.....	297
7.2.2. Տրանսֆերազների կոֆակտորներ .....	305
7.2.3. Լիազների, իզոմերազների և լիզազների կոֆակտորներ .....	314
<b>Գլուխ 8. Որոշ հայտնի ֆերմենտներ.....</b>	<b>321</b>
8.1. Օքսիդոռեդուկտազներ .....	321
8.2. Տրանսֆերազներ .....	326
8.3. Հիդրոլազներ.....	330
8.4. Լիազներ .....	338
8.5. Իզոմերազներ .....	340
8.6. Լիզազներ (սինթետազներ).....	341
<b>Գլուխ 9. Նուկլեոպրոտեիններ .....</b>	<b>344</b>
9.1. Նուկլեինաթթուների կառուցվածքային տարրերը .....	344
9.1.1. Հետերոցիկլիկ ազոտային հիմքեր .....	345
9.1.2. Նուկլեոզիդներ .....	347
9.1.3. Մոնոնուկլեոտիդներ .....	350
9.1.4. Պոլինուկլեոտիդներ.....	360

9.1.4.1. Պոլիմուկլետտիդների կառուցվածքը.....	362
9.2. Գեոօբսիդիբոնուկլեինաթթուներ (ԳՆԹ) .....	366
9.3. Ռիբոնուկլեինաթթուներ, ՌՆԹ-ի տեսակները .....	371
<b>Գլուխ 10. Սպիտակուցաածխաջրային կոմպլեքսներ</b> .....	379
10.1. Մոնոսախարիդներ .....	380
10.1.1. Կառուցվածքային առանձնահատկությունները .....	380
10.1.2. Մոնոսախարիդների քիմիական հատկությունները .....	384
10.1.3. Մոնոսախարիդների օպտիկական հատկությունները ...	386
10.2. Օլիգոսախարիդներ .....	387
10.2.1. Օլիգոսախարիդների կառուցվածքը .....	387
10.2.2. Գլիկոզիդային կապերի առաջացման մեթոդները .....	391
10.3. Պոլիսախարիդներ .....	395
10.3.1. Պոլիսախարիդների որոշ ներկայացուցիչներ .....	397
10.4. Սպիտակուցաածխաջրային կոմպլեքսների սպիտակուցային բաղադրիչը .....	400
10.4.1. Դասակարգումը.....	400
10.4.2. Կոմպլեքսում սպիտակուցի և ածխաջրի կապի տեսակները.....	401
10.4.3. Որոշ հայտնի ածխաջուր-սպիտակուցային կոմպլեքսներ.....	403
<b>Գլուխ 11. Քրոմոպրոտեիններ</b> .....	406
11.1. Պորֆիրիններ .....	406
11.1.1. Մետաղապորֆիրիններ .....	408
11.1.2. Պորֆիրինների սինթեզը .....	410
11.2. Հեմոգլոբին և միոգլոբին .....	413
11.2.1. Հեմոգլոբինի կառուցվածքը .....	413
11.2.2. Հեմոգլոբինի ֆիզիոլոգիական դերը .....	415
11.2.3. Սիոգլոբինի կառուցվածքը .....	418
11.3. Ցիտոքրոմներ .....	420
11.4. Քլորոֆիլներ .....	427
<b>Գլուխ 12. Լիպոպրոտեիններ</b> .....	431
12.1. Արյան պլազմայի լիպոպրոտեիններ .....	433
12.2. Կենսաթաղանթային կառուցվածքներ.....	440
<b>Օգտագործված գրականություն</b> .....	445



ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

Ա. Ս. Ս ա ղ յ ա ն

ԱՄԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ,  
ՊԵՊՏԻԳՆԵՐԻ ԵՎ  
ՍՊԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐԻ ՔԻՄԻԱ

Համակարգչային ձևավորումը՝ Կ. Չալաբյանի  
Կազմի ձևավորումը՝ Ա. Պատվականյանի  
Տեխ. խմբագրումը՝ Հ. Ասլանյանի

Տպագրված է «Գևորգ-Հրայր» ՍՊԸ-ում  
ք. Երևան, Գրիգոր Լուսավորչի 6

Չափսը՝ 60x84<sup>1</sup>/<sub>16</sub>: Տպ. մամուլը՝ 28.25:  
Տպաքանակը՝ 150:

ԵՊՀ հրատարակչություն  
ք. Երևան, 0025, Ալեք Մանուկյան 1