

ՀՀ ԳԱԱ Ա.Բ. ՆԱԼԲԱՆԴՅԱՆԻ ԱՆՎԱՆ ՔԻՄԻԱԿԱՆ ՖԻԶԻԿԱՅԻ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ

ՄԱՆՈՒԿՅԱՆ ԶԱՐՈՒՀԻ ՀՈՎՀԱՆՆԵՍԻ

ՖՈԼԱԹԹՎԻ ԵՎ ԴՐԱ ԱԾԱՆՑՅԱԼՆԵՐԻ ՀԱԿԱՊԵՐՕՔՍԻՌԱԴԻԿԱԼԱՅԻՆ
ՈՒՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆ

Բ.00.04 - «Ֆիզիկական քիմիա» մասնագիտությամբ
քիմիական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի հայցման
ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ 2025

A.B. NALBANDYAN INSTITUTE OF CHEMICAL PHYSICS NAS RA

MANUKYAN ZARUHI HOVHANNES

INVESTIGATION OF ANTIPEROXYRADICAL ABILITY OF FOLIC ACID AND ITS
DERIVATIVES

ABSTRACT

of the dissertation in 02.00.04 - "Physical Chemistry" submitted for the degree of Candidate of
Chemical Sciences

YEREVAN 2025

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ ԳԱՄ Ա.Բ. Նալբանդյանի անվ. Քիմիական ֆիզիկայի ինստիտուտում:

Գիտական ղեկավար՝ քիմ. գիտ. թեկնածու Սեյրան Հենրիկի Մինասյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝

քիմ. գիտ. դոկտոր, պրոֆ. Կարինե Ռաֆայելի Գրիգորյան
քիմ. գիտ. թեկնածու Միքայել Զհանգիրի Պողոսյան

Առաջատար կազմակերպություն՝

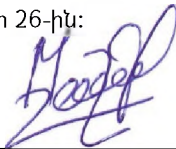
ՀՀ ԳԱԱ Օրգանական և դեղագործական քիմիայի
գիտատեխնոլոգիական կենտրոն (ՀՀ ԳԱԱ ՕԴԲ ԳՏԿ)

Պաշտպանությունը կայանալու է 2026 թ. հունվարի 30-ին, ժ. 14:30-ին՝ ՀՀ ԳԱԱ Ա.Բ. Նալբանդյանի անվան Քիմիական ֆիզիկայի ինստիտուտում գործող ՀՀ ԲԿԳԿ-ի 017 «Քիմիա» մասնագիտական խորհրդում (0014, Երևան, Պ. Սևակ փ. 5/2):

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

Սեղմագիրն առաքված է 2025 թ. դեկտեմբերի 26-ին:

017 Մասնագիտական խորհրդի
գիտական քարտուղար, ք.գ.թ.



Մարիետա Կ. Ջաքարյան

The subject of the dissertation was approced at the A.B. Nalbandyan Institute of Chemical Physics, NAS RA.

Scientific advisor:

Candidate of Chemical Sciences Seyran H. Minasyan

Official opponents:

Doctor of Chemical Sciences, Professor Karine R. Grigoryan
Candidate of Chemical Sciences Mikhail D. Poghosyan

Leading organization:

Scientific Technological Center of Organic and
Pharmaceutical Chemistry NAS RA (STC NAS RA)

The defense will take place on 30th January 2026, at 14:30, at the meeting of the Special Council of the HESC RA 017 "Chemistry", acting at the A.B. Nalbandyan Institute of Chemical Physics, NAS RA (0014 Yerevan, P. Sevak Street 5/2).

The PhD thesis is available at the library of the A.B. Nalbandyan Institute of Chemical Physics NAS RA

The abstract was sent out on December 26, 2025.

Scientific secretary of the 017 special council,
Candidate of Chemical Sciences



Marieta K. Zakaryan

Աշխատանքի արդիականությունը

«Ֆոլատ» եզրույթը վիտամին B₉-ի ընդհանուր անվանումն է, որը ներառում է ֆոլաթթուն (FA) և դրա ածանցյալները՝ դիհիդրո-, տետրահիդրո-, մեթիլ տետրահիդրո- և ֆորմիլ տետրահիդրո- ֆոլաթթուները (DHF, THF, 5-MTHF, 5-FTHF):

Կենդանի օրգանիզմներում ֆոլատները ցուցաբերում են տարաբնույթ կենսաբանական, քիմիական և դեղաբանական ակտիվություն: Դրանք մասնակցում են նուկլեինաթթուների և սպիտակուցների կենսասինթեզի ու ԴՆԹ-ի վերականգնման կենսաքիմիական պրոցեսներին: FA-ն արդյունավետ խելատավորող ագենտ է, որը պատասխանատու է մետաղական իոնների անցումային վիճակների խելատավորման համար: Օրգանիզմում FA-ն կարող է արգելակել լիպիդների ազատ-ռադիկալային պերօքսիդացման շղթայական ռեակցիան, դրսևորել արյան բջիջների օքսիդացումային վնասումը կանխարգելիչ հակաօքսիդիչային ունակություն: FA-ն դեղաբանական *in vivo* միջոց է կենդանի օրգանիզմների համար: FA-ի հավելումները կարող են կանխարգելել օրգանիզմի օքսիդացումային սթրեսով պայմանավորված ախտաբանական վիճակը՝ հանդես գալով որպես պաշտպանիչ միջոց քաղցկեղի, սիրտ-անոթային, նյարդա-հոգեբանական հիվանդությունների, սակավարյունության զարգացման դեմ: Հղիության ընթացքում դրանց ընդունումը կարող է կանխել պտղի մոտ ողնաշարի և ուղեղի բնածին արատների առաջացման ռիսկը: FA-ի թերապևտիկ հատկությունները օքսիդացումային սթրեսով պայմանավորված պաթոլոգիաների կանխարգելման և բուժման գործընթացում կարող են կապվել վերջինի հակառադիկալային և հակաօքսիդիչային ունակության հետ:

Ֆոլատների բազմաֆունկցիոնալության և հակաօքսիդիչային ակտիվության տարաբնույթ մեխանիզմների առկայության պատճառով դրանց հակաօքսիդիչային հատկությունների համակարգված հետազոտության անհրաժեշտություն կա:

Թեև FA-ն որպես կարևոր վիտամին-հակաօքսիդիչ բավական ուսումնասիրված է գիտական գրականության մեջ, շատ սահմանափակ են հետազոտությունները FA-ի կառուցվածքային ածանցյալների վերաբերյալ, որոնք կարող են լինել ավելի արդյունավետ *in vivo* հակաօքսիդիչներ, քան FA-ն: Առանձնակի կարևորություն են ներկայացնում ֆոլատների ուղղությամբ հաշվարկային աշխատանքները: Գիտական գրականության մեջ առկա են տեսական աշխատանքներ FA-ի հակաօքսիդիչային ազդեցության թերմոդինամիկայի մասին, այնուամենայնիվ դեռևս անհրաժեշտ է իրականացնել ֆոլատների, դրանց ռադիկալների և հիմնային անիոնների բազմակողմանի տեսական հետազոտություն: Ըստ գրականական տվյալների՝ ֆոլատների հակառադիկալային/հակաօքսիդիչային ակտիվությունները կապված են վերջինների մոլեկուլում պիրիմիդինային օղակի հիդրօքսիլային OH խմբի հետ: Խիստ սահմանափակ է տեղեկությունն այլ հակառադիկալային խմբերի մասին: Հակառադիկալային հնարավոր կենտրոններ կարող են լինել նաև FA-ի մոլեկուլում պիրիմիդինային NH₂, պարա-ամինոբենզոյաթթվային մնացորդի NH, իսկ վերականգնված ձևերի մոտ նաև պիրազինային օղակի NH խմբերը: Ուստի պետք է դիտարկել և բացահայտել ֆոլատների կառուցվածքային մյուս խմբերի հնարավոր դերը դրանց հակառադիկալային հատկությունների դրսևորման մեջ: Հաշվի առնելով նշված դիտարկումները՝ արդի խնդիր է ֆոլատների հակառադիկալային/հակաօքսիդիչային ակտիվությունների քանակական հետազոտումը, մոլեկուլային մակարդակով ռեակցիոն կենտրոնների բացահայտումը, հակաօքսիդիչային ակտիվության և կառուցվածքի միջև կապերի համակարգված ուսումնասիրությունը:

Աշխատանքի հիմնական նպատակը և խնդիրները

In vitro պայմաններում որոշել ֆոլատների հակառադիկալային/հակաօքսիդիչային ունակությունները, դրանց հակառադիկալային ակտիվության համար պատասխանատու ռեակցիոն կենտրոնները, բացահայտել ֆոլատների կառուցվածքի և հակառադիկալային/հակաօքսիդիչային ու օքսիդա-վերականգնման ակտիվությունների քանակական բնութագրիչների միջև փոխադարձ կապերը:

Առաջադրված նպատակին հասնելու համար դրվել են հետևյալ խնդիրները.

1. Փորձարարական և հաշվարկային տվյալների հիման վրա բացահայտել ֆոլատների հակառադիկալային/հակաօքսիդիչային հատկությունները և դրանց համար պատասխանատու ռեակցիոն կենտրոնները:
2. Տարրական ռեակցիաների մակարդակում էլեկտրաքիմիական և սպեկտրաչափական եղանակներով ջրային միջավայրում կինետիկորեն որոշել ֆոլատների հակառադիկալային տարողությունները պերօքսիլային (ROO·) և կայուն դիֆենիլ պիկրիլիդիդրազիլային (DPPH·) ռադիկալների նկատմամբ:
3. Բացահայտել ֆոլատների հակաօքսիդիչային հատկությունները միգելային համակարգում մոլեկուլային թթվածնով մեթիլլինոլետաի պերօքսիդացման շղթայական ազատ-ռադիկալային ռեակցիայում:
4. Կառուցել ֆոլատների, դրանց ռեակցիոն կենտրոնների հակառադիկալային/հակաօքսիդիչային ակտիվությունների համեմատական շարքեր:
5. Բացահայտել ֆոլատների էլեկտրոնային կառուցվածքների և հակառադիկալային/հակաօքսիդիչային ակտիվությունների միջև կապը:
6. Հետազոտել լուծիչի բևեռայնության ազդեցությունը ֆոլատների և ռեակցիոն կենտրոնների ռեակցիոնակտիվությունների և ազատ-ռադիկալային ռեակցիոն մեխանիզմների վրա:
7. Ուսումնասիրել ԴԼԹ-ի հետ ֆոլատների կապման ձևերը, որոշել կապման հաստատունները (**K**) և կապման կենտրոնների թիվը (**n**):
8. Հետազոտել ֆոլատների հակաօքսիդիչային հատկությունները՝ արգելակելու պերօքսիլային ռադիկալներով հարուցված ԴԼԹ-ի օքսիդացումային քայքայումը:

Աշխատանքի գիտական նորոյթը

1. ROO· և DPPH· ռադիկալների նկատմամբ FA-ի կառուցվածքային ածանցյալների հակառադիկալային տարողությունների կինետիկական գնահատումը էլեկտրաքիմիական և սպեկտրաչափական եղանակներով:
2. Մեթիլլինոլետաի օքսիդացման շղթայական ազատ-ռադիկալային ռեակցիայում ֆոլատների հակաօքսիդիչային հատկությունների բացահայտումը և կինետիկական բնութագրերի որոշումը միգելային համակարգում ամպերաչափական եղանակով:
3. Ֆոլատների, ինչպես նաև դրանց ռեակցիոն կենտրոնների համար հակաօքսիդիչային ակտիվությունների համեմատական շարքերի կազմումը:
4. Ֆոլատների և դրանց ռեակցիոն կենտրոնների ռեակցիոնակտիվությունների վրա լուծիչի բևեռայնության ազդեցության բացահայտումը:
5. ԴԼԹ-ի հետ ֆոլատների կապման ձևերի քանակական բնութագրերի (**K** և **n**) որոշումը էլեկտրաքիմիական եղանակով:
6. ԴԼԹ-ն օքսիդացումային վնասումից պաշտպանելու ֆոլատների հակաօքսիդիչային հատկությունների գնահատումը Ժել-էլեկտրաֆորեզի եղանակով:

Աշխատանքի կիրառական նշանակությունը

Ֆոլատների հակառադիկալային/հակաօքսիդիչային ակտիվությունների քանակական գնահատումը, ակտիվ ռեակցիոն կենտրոնների բացահայտումը, քանակական բնութագրերի որոշումը կարևոր տեղեկություն է ֆոլատների դեղաբանական ձևերի կատարելագործման, դրանց օգնությամբ օրգանիզմի դիմադրողականության բարձրացման, բուժական ստուգիչ և կանխարգելիչ թերապիաների արդյունավետության մեծացման համար:

Պաշտպանությանը ներկայացվող հիմնադրույթները

1. Ֆոլատների հակառադիկալային ակտիվությունները և կինետիկական բնութագրիչները:
2. Ֆոլատների էլեկտրոնային կառուցվածքի և հակառադիկալային/հակաօքսիդիչային ռեակցիոնակտիվությունների միջև կապը:
3. Ֆոլատների և ռեակցիոն կենտրոնների ակտիվությունների համեմատական շարքերը:
4. Լուծիչի բևեռայնության ազդեցությունը ֆոլատների, դրանց ռեակցիոն կենտրոնների ակտիվությունների և ռեակցիոն ակտիվ ձևերի հետ ռեակցիաների մեխանիզմների վրա:
5. ԴԼԹ-ֆոլատ կապման ձևերը և համապատասխան քանակական պարամետրերը: Ֆոլատների օգնությամբ ԴԼԹ-ի հակառադիկալային պաշտպանությունը:

Աշխատանքի փորձաքննությունը և հրապարակումները

Ատենախոսությունը քննարկվել և հրապարակային պաշտպանության է երաշխավորվել ՀՀ ԳԱԱ Ա.Բ. Նալբանդյանի անվան Քիմիական ֆիզիկայի ինստիտուտի Հեղուկաֆազ ազատ-ռադիկալային ռեակցիաների լաբորատորիայում և Քիմիական ֆիզիկայի ինստիտուտի 2025թ. սեմինարում: Ատենախոսության հիմնական արդյունքները հրապարակվել են գիտական 11 աշխատանքներում՝ 6 հոդված և 5 թեզիս:

Ատենախոսության ծավալը և կառուցվածքը

Ատենախոսությունը բաղկացած է տիտղոսաթերթից, բովանդակությունից, ներածությունից, 5 գլխից, եզրակացություններից, գրականության, նշանակումների ու հապավումների ցանկերից: Ատենախոսությունը ներկայացված է 120 էջի վրա, ներառում է 12 աղյուսակ, 14 նկար և 6 գծապատկեր, 183 գրականական հղում:

ԱՏԵՆԱԽՈՍՈՒԹՅԱՆ ՀԱՄԱՌՈՏ ԲՈՎԱՆ ԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ

Գլուխ 1. Գրական ակնարկ – ներկայացված են գրականական տվյալներ օքսիդացումային պրոցեսների, հակաօքսիդիչների և դրանց ազդեցության մեխանիզմների, քվանտա-քիմիական հաշվարկների մասին: Բերված են ֆոլատների մոլեկուլային կառուցվածքների, հակաօքսիդիչային հատկությունների վերաբերյալ գրականությունում առկա տվյալները: Ընդգծված է ֆոլատների հակաօքսիդիչային հատկությունների, ակտիվ ռեակցիոն կենտրոնների բացահայտման և դասակարգման անհրաժեշտությունը, հաշվարկային և փորձարարական հետազոտական եղանակների զուգակցման կարևորությունը:

Գլուխ 2. Փորձարարական/հաշվարկային մաս – ներկայացված են օգտագործված նյութերը, փորձարարական և հաշվարկային եղանակներն ու ընթացակարգերը:

Գլուխ 3. Ֆոլատների հակաօքսիդիչային հատկությունների տեսական գնահատում – բերված են քվանտա-քիմիական հաշվարկային եղանակներով ֆոլատների հակաօքսիդիչային հատկությունների, հակառադիկալային ռեակցիոն կենտրոնների, ակտիվություն-կառուցվածք կապի քանակական գնահատման արդյունքները:

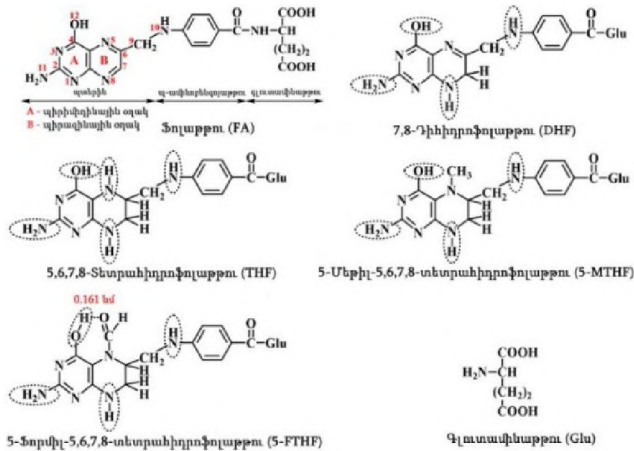
Գլուխ 4. Ֆոլատների հակառադիկալային ունակությունների կինետիկական որոշում – ներկայացված են կինետիկական սպեկտրաչափական և էլեկտրաանալիտիկական եղանակներով ջրային և միջելային միջավայրերում ֆոլատների հակառադիկալային/ հակաօքսիդիչային տարողությունների, ռեակցիոն կենտրոնների գնահատման արդյունքները:

Գլուխ 5. Ֆոլատների հետ ԴԹ-ի կապման հետազոտում: Ֆոլատներով ԴԹ-ի հակառադիկալային պաշտպանություն – բերված են ԴԹ-ի հետ ֆոլատների կապման մեխանիզմների ու քանակական պարամետրերի, ֆոլատների՝ ԴԹ-ն օքսիդացումային վնասումից պաշտպանելու հակաօքսիդիչային հատկությունների գնահատման արդյունքները:

ԱՏԵՆԱՆՈՍՈՒԹՅԱՆ ՀԻՄՆԱԿԱՆ ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ

ՖՈՒԱՏՆԵՐԻ ՀԱԿԱՕՔՍԻԴԻԶԱՅԻՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՏԵՍԱԿԱՆ ԳՆԱՀԱՏՈՒՄ

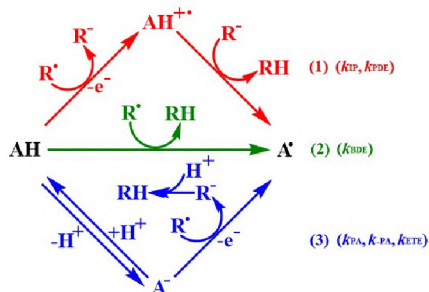
Ֆենոլային և արոմատիկ ամինային հակաօքսիդիչների նմանությամբ՝ ֆոլատների կառուցվածքում առանձնացվում են հիդրօքսիլային OH և ամինային NH խմբերը: Այս կառուցվածքային կենտրոնների համար գործում է հակառադիկալային ակտիվության պայման, որ H-ատոմի փոխանցման ռեակցիայի արդյունքում առաջանում են համեմատ ոչ ակտիվ ֆենօքսիլային և ամինիլային ռադիկալներ: Հակառադիկալային ակտիվ կենտրոնների թիվը ֆոլատների մոտ տարբերվում է շնորհիվ պիրիմիդինային օղակում OH և NH₂, FA-ի վերականգնված ձևերի մոտ B օղակի NH խմբերի և պարա-ամինոբենզոյլաթթվային մնացորդի: FA-ի ակտիվ կենտրոնների թիվը 4 է, DHF-ի, 5-MTHF-ի, 5-FTHF-ինը՝ 5, THF-ինը՝ 6: Ֆոլատների մոլեկուլային կառուցվածքները և հնարավոր հակառադիկալային կենտրոնները ներկայացված են նկ. 1-ում:



Նկար 1. Ֆոլատների մոլեկուլային կառուցվածքները և հնարավոր հակառադիկալային/հակաօքսիդիչային կենտրոնները:

Ֆոլատների հակառադիկալային ունակությունները, ռեակցիոն կենտրոնները և ակտիվություն -կառուցվածք կապը գնահատվել են քվանտա-քիմիական հաշվարկներով՝ Gaussian 16 ծրագրային փաթեթի կիրառմամբ: Հաշվարկներն իրականացվել են զագային ֆազում և լուծիչներում՝ բենզոլ, էթանոլ, ջուր, որոնք ընտրվել են ըստ տարբեր բևեռայնությունների: Լուծիչի ազդեցությունը բացահայտվել է խտության վրա հիմնված սովատացման մոդելի կիրառմամբ: Որպես հաշվարկային եղանակներ ընտրվել են խտության ֆունկցիոնալի

տեսության (DFT) M06-2X և B3LYP հիբրիդային եղանակները՝ համադրված 6-311++G(d,p) և 6-31G(d,p) բազիսային խմբերի հետ: Ընտրվել է հակաօքսիդիչների հակառադիկալային ազդեցության երեք մեխանիզմ (զծ. 1)՝ HAT (Hydrogen Atom Transfer), SET-PT (Stepwise Electron Transfer-Proton Transfer) և SPLET (Sequential Proton Loss Electron Transfer) և որոշվել բնութագրական էներգիաները (աղ. 1-4)՝ կապի դիսոցման էներգիա (BDE), իոնացման պոտենցիալ (IP), ռադիկալ-կատիոնի դեպրոտոնացման էներգիա (PDE), անիոնի պրոտոնային խնամակցություն (PA), էլեկտրոնի փոխանցման էներգիա (ETE):



Գծապատկեր 1. Ֆենոլային և ամինային հակաօքսիդիչների կողմից ազատ ռադիկալների կայանման մեխանիզմները. 1 - SET-PT, 2 - HAT, 3 - SPLET; AH-ը հակաօքսիդիչային բաղադրիչն է; R•, R•-՝ ազատ ռադիկալը և դրա անիոնը; A•, A•-, AH•-ը՝ հակաօքսիդիչային ածանցյալ ռադիկալը, հիմնային-անիոնը և ռադիկալ-կատիոնը:

Աղյուսակ 1. Գազային ֆազում ֆուլտենների H-ատոմի փոխանցման ռեակցիայի ընթացքի երեք ուղիների և դրանց փուլերի հակառադիկալային էներգիաների արժեքները (կկալ/մոլ):

	BDE		IP		PDE		PA		ETE	
	B3LYP 6-31 G(d,p)	M06-2X 6-311++ G(d,p)	B3LYP 6-31 G(d,p)	M06-2X 6-311++ G(d,p)	B3LYP 6-31 G(d,p)	M06-2X 6-311++ G(d,p)	B3LYP 6-31 G(d,p)	M06-2X 6-311++ G(d,p)	B3LYP 6-31 G(d,p)	M06-2X 6-311++ G(d,p)
FA										
2-NH ⁺	101.84	109.03			262.30	248.93	348.18	344.38	68.32	77.06
2-NH ⁰	102.87	107.93			263.33	247.83	349.88	342.43	67.65	77.91
4-OH	95.62	102.99	154.22	172.49	256.07	242.90	327.16	321.23	83.12	94.18
10-NH	86.38	92.08			246.84	231.99	352.94	341.45	48.10	63.05
DHF										
2-NH ⁺	84.39	91.46			272.64	273.72	367.73	366.10	31.32	38.76
2-NH ⁰	85.27	92.33			273.52	274.58	362.97	360.01	36.96	44.71
4-OH	63.54	70.03	126.43	130.14	251.78	252.29	342.58	340.45	35.62	41.98
9-NH	63.54	70.99			251.79	253.25	351.27	348.22	26.93	35.17
10-NH	80.62	87.12			268.87	269.38	351.72	349.92	43.57	49.60
THF										
2-NH ⁺	90.66	97.46			265.76	260.97	366.94	356.30	38.38	53.56
2-NH ⁰	91.05	97.04			266.15	260.54	367.24	356.52	38.47	52.91
4-OH	72.57	74.30	139.58	145.89	247.65	237.81	343.99	334.52	43.24	56.18
5-NH	77.11	81.25			252.21	244.76	360.58	352.69	31.19	42.96
9-NH	85.65	89.19			260.75	252.70	358.28	348.61	42.03	54.98
10-NH	84.91	91.76			260.00	258.27	354.94	340.86	44.63	63.30
5-MTHF										
2-NH ⁺	94.53	100.65			268.89	260.96	365.76	356.09	43.43	56.96
2-NH ⁰	94.93	100.23			269.29	260.53	366.12	355.76	43.47	56.86
4-OH	76.64	81.24	140.31	152.10	251.00	241.54	343.57	334.62	47.73	59.02
9-NH	89.44	93.78			263.80	254.07	357.13	347.78	46.97	58.39
10-NH	90.70	97.82			265.05	258.12	361.37	350.49	43.99	59.73
5-FTHF										
2-NH ⁺	97.73	105.04			263.48	246.57	360.10	347.14	52.30	70.30
2-NH ⁰	98.15	104.63			263.90	246.16	360.63	346.72	52.19	70.31
4-OH	82.77	88.82	148.93	170.86	248.51	230.96	334.38	322.37	63.06	78.86
9-NH	93.92	100.30			259.67	241.84	350.44	339.13	58.14	73.58
10-NH	86.98	94.70			252.73	236.24	359.38	348.45	42.26	58.65

Աղյուսակ 2. Բենզոլի միջավայրում ֆոլատների H-ատոմի փոխանցման ռեակցիայի ընթացքի երեք ուղիների և դրանց փուլերի հակառադիկալային էքսպլիաների արժեքները (կկալ/մոլ):

	BDE		IP		PDE		PA		ETE	
	B3LYP 6-31 G(d,p)	M06-2X 6-311++ G(d,p)	B3LYP 6-31 G(d,p)	M06-2X 6-311++ G(d,p)	B3LYP 6-31 G(d,p)	M06-2X 6-311++ G(d,p)	B3LYP 6-31 G(d,p)	M06-2X 6-311++ G(d,p)	B3LYP 6-31 G(d,p)	M06-2X 6-311++ G(d,p)
FA										
2-NH ^a	101.76	109.19			64.31	63.79	111.77	113.85	84.67	95.58
2-NH ^b	102.44	108.45			64.99	63.05	113.09	112.28	84.03	96.41
4-OH	94.54	101.22	132.13	145.59	57.09	55.82	90.05	90.67	99.17	110.79
10-NH	86.97	93.14			49.52	47.74	117.63	114.59	64.02	78.79
DHF										
2-NH ^a	82.26	86.41			76.94	82.37	126.24	129.41	50.70	57.18
2-NH ^b	82.46	86.90			77.14	82.87	123.51	128.82	53.63	58.27
4-OH	60.10	69.46	100.00	102.22	54.78	65.43	103.10	112.56	51.69	57.09
8-NH	62.50	70.11			57.18	66.08	114.04	119.16	43.14	51.14
10-NH	80.44	85.62			75.12	83.58	116.17	120.27	58.96	65.53
THF										
2-NH ^a	88.72	95.49			68.36	70.66	126.86	133.45	56.54	62.23
2-NH ^b	88.86	95.16			68.50	70.33	127.00	133.14	56.54	62.21
4-OH	69.77	74.51	115.04	119.02	49.41	49.68	104.68	110.68	59.77	64.02
5-NH	76.73	82.57			56.38	57.73	125.25	130.40	46.17	52.36
8-NH	84.44	89.69			64.08	64.85	120.51	127.39	58.61	62.48
10-NH	85.38	90.89			65.03	72.05	119.12	122.22	60.94	68.86
5-MTHF										
2-NH ^a	92.46	97.54			70.75	72.61	125.99	121.98	61.16	75.75
2-NH ^b	92.80	97.24			71.09	72.31	127.93	121.54	59.56	75.89
4-OH	73.88	77.42	116.39	121.12	52.17	52.49	104.88	105.85	63.69	71.76
8-NH	88.01	91.87			66.30	66.94	119.91	117.60	62.78	74.46
10-NH	91.09	94.07			69.38	73.14	125.34	119.04	60.43	75.21
5-FTHF										
2-NH ^a	97.03	104.80			60.35	60.65	122.47	132.45	69.25	72.53
2-NH ^b	97.40	104.44			60.72	60.29	122.82	117.53	69.26	87.10
4-OH	81.18	86.60	131.37	144.34	44.49	42.45	98.58	94.90	77.28	91.89
8-NH	93.45	100.17			56.76	56.02	114.96	110.50	73.17	89.86
10-NH	87.18	95.23			50.50	51.07	122.96	120.30	58.90	75.11

Աղյուսակ 3. Էթանոլի միջավայրում ֆոլատների H-ատոմի փոխանցման ռեակցիայի ընթացքի երեք ուղիների և դրանց փուլերի հակառադիկալային էքսպլիաների արժեքները (կկալ/մոլ):

	BDE		IP		PDE		PA		ETE	
	B3LYP 6-31 G(d,p)	M06-2X 6-311++ G(d,p)	B3LYP 6-31 G(d,p)	M06-2X 6-311++ G(d,p)	B3LYP 6-31 G(d,p)	M06-2X 6-311++ G(d,p)	B3LYP 6-31 G(d,p)	M06-2X 6-311++ G(d,p)	B3LYP 6-31 G(d,p)	M06-2X 6-311++ G(d,p)
FA										
2-NH ^a	101.37	107.89			38.41	34.68	56.35	50.08	86.74	102.47
2-NH ^b	101.49	107.86			38.52	34.65	56.92	49.69	86.28	102.83
4-OH	92.35	98.81	104.68		29.39	25.61	33.36	26.15	100.72	117.32
10-NH	86.45	95.42			23.49	22.21	61.76	54.20	66.42	85.86
DHF										
2-NH ^a	78.43	83.08			47.84	43.59	66.24	64.47	53.92	63.26
2-NH ^b	78.59	84.67			48.00	45.18	65.87	65.47	54.45	63.85
4-OH	56.12	59.59	72.32	79.14	25.53	20.10	45.47	42.66	52.38	61.58
8-NH	60.52	64.61			29.92	25.11	58.22	56.22	44.03	53.03
10-NH	78.97	82.98			48.37	48.48	61.64	63.05	59.06	64.57
THF										
2-NH ^a	85.65	90.30			41.62	38.51	67.49	56.86	59.88	78.08
2-NH ^b	85.87	90.09			41.85	38.31	67.69	56.59	59.91	78.14
4-OH	66.25	69.47	85.75	96.43	22.23	17.68	46.16	34.78	61.82	79.33
5-NH	75.93	81.03			31.91	29.25	69.20	62.68	48.45	63.00
8-NH	82.51	86.30			38.48	34.51	63.53	54.13	60.71	76.81
10-NH	85.81	88.66			41.78	36.88	63.61	54.09	63.92	79.22
5-MTHF										
2-NH ^a	89.30	92.68			43.49	40.26	68.71	56.61	62.32	80.72
2-NH ^b	89.54	92.52			43.72	40.09	68.93	56.54	62.33	80.62
4-OH	70.12	72.04	87.54	97.07	24.30	19.61	47.76	40.22	64.08	76.47
8-NH	85.75	88.37			39.93	35.95	62.84	53.63	64.63	79.39
10-NH	88.00	91.53			42.18	39.10	67.46	56.50	62.26	79.68
5-FTHF										
2-NH ^a	95.83	103.51			34.13	33.04	65.23	53.66	72.27	94.29
2-NH ^b	96.08	103.29			34.37	32.83	65.44	53.45	72.20	94.19
4-OH	78.82	84.28	103.43	115.12	17.11	13.81	42.60	31.16	77.89	97.57
8-NH	92.53	98.63			30.82	28.16	59.23	49.91	74.97	93.16
10-NH	87.40	95.96			25.69	25.48	65.13	56.96	63.94	83.42

Աղյուսակ 4. Զրային միջավայրում ֆոլատների H-ատոմի փոխանցման ռեակցիայի ընթացքի երեք ուղիների և դրանց փուլերի հակառադիկալային էնթալպիաների արժեքները (կկալ/մոլ):

	BDE		IP		PDE		PA		ETE	
	B3LYP 6-31 G(d,p)	M06-2X 6-311++ G(d,p)	B3LYP 6-31 G(d,p)	M06-2X 6-311++ G(d,p)	B3LYP 6-31 G(d,p)	M06-2X 6-311++ G(d,p)	B3LYP 6-31 G(d,p)	M06-2X 6-311++ G(d,p)	B3LYP 6-31 G(d,p)	M06-2X 6-311++ G(d,p)
FA										
2-NH ^a	101.31	106.46			42.35	35.63	58.36	48.69	81.22	99.33
2-NH ^b	101.37	106.54			42.41	35.72	58.04	48.34	80.81	99.76
4-OH	92.11	97.67	97.24	112.39	33.15	26.84	35.29	24.68	55.10	114.54
10-NH	88.09	94.93			29.13	23.51	63.63	52.45	62.74	83.44
DHF										
2-NH ^a	78.14	85.44			51.51	49.80	67.82	65.11	48.60	61.90
2-NH ^b	78.29	85.26			51.66	49.61	67.66	65.12	48.91	61.70
4-OH	55.83	62.46	64.91	76.21	29.20	26.81	47.28	45.32	46.83	58.70
8-NH	60.46	67.00			33.84	31.36	60.14	58.74	38.61	49.83
10-NH	78.86	83.09			52.23	48.45	63.66	62.07	53.49	62.59
THF										
2-NH ^a	85.37	88.86			45.58	39.57	68.98	55.57	54.66	74.85
2-NH ^b	85.58	88.72			45.79	39.44	69.19	55.44	54.67	74.84
4-OH	65.92	68.27	78.06	90.85	26.13	18.99	47.73	40.09	56.47	69.74
5-NH	75.85	79.54			36.06	30.26	71.02	61.63	43.11	59.48
8-NH	82.27	83.92			42.49	34.64	65.23	51.88	55.32	73.60
10-NH	85.83	88.61			46.05	39.33	65.44	52.76	58.67	77.41
5-MTHF										
2-NH ^a	88.99	91.70			47.39	41.41	70.25	55.62	57.02	77.64
2-NH ^b	89.22	91.47			47.62	41.19	70.46	55.29	57.04	77.74
4-OH	67.77	71.17	79.88	91.85	28.17	20.88	49.33	38.16	56.72	74.56
8-NH	85.51	86.38			43.91	36.10	64.54	51.60	59.25	76.34
10-NH	87.91	90.10			46.31	39.81	68.97	53.09	57.22	78.57
5-FTHF										
2-NH ^a	95.71	102.50			38.26	34.13	67.07	52.84	66.91	91.22
2-NH ^b	95.93	102.17			38.49	33.81	67.34	52.74	66.87	90.99
4-OH	78.58	83.74	95.73	109.92	21.13	15.37	44.53	29.47	72.33	95.83
8-NH	92.42	96.67			34.97	28.31	61.32	48.13	69.38	90.10
10-NH	87.43	95.15			29.98	26.79	66.80	55.85	58.91	80.86

Թեև էնթալպիաների համար M06-2X/6-311++G(d,p) եղանակով ստացված քանակական արժեքներն ավելի մեծ են, քան B3LYP/6-31G(d,p) եղանակով ստացվածները, զլխավոր օրինաչափությունը նույնն է: B3LYP/6-31G(d,p) և M06-2X/6-311++G(d,p) եղանակներով ստացված համեմատական տվյալները ցույց են տալիս, որ երկու ֆունկցիոնալի դեպքում էլ բոլոր միջավայրերում BDE արժեքները միմյանց հետ համաձայնության մեջ են գտնվում: Այլ է իրավիճակը մյուս բնութագրիչների դեպքում: Դիֆուզային 6-311++G(d,p) բազիսի դեպքում, ի տարբերություն 6-31G(d,p) բազիսի, ստացվում են PA-ի համեմատ փոքր և նույն տարբերությամբ ETE-ի մեծ արժեքներ: Նմանապես PDE-ի արժեքները համեմատ փոքր են, իսկ IP-ի արժեքները՝ մեծ: Այնուամենայնիվ, երկու ֆունկցիոնալներն էլ նույնչափ տեղեկատվական են հակաօքսիդիչների տեսական ուսումնասիրությունների համար: Ֆոլատների ակտիվ կենտրոնների թերմոդինամիկական բնութագրիչներն ազատ ռադիկալների նկատմամբ տեղայնացված ռեակցիոնունակության ցուցանիշներն են: Ըստ հակառադիկալային քանակական բնութագրիչների՝ կարելի է դուրս բերել ֆոլատների և հնարավոր ռեակցիոն կենտրոնների համար քիմիական ռեակցիոնակտիվության շարքեր: Բոլոր միջավայրերում ֆոլատների ակտիվ կենտրոնների համար BDE արժեքները ներկայացված են հետևյալ շարքերով.

FA: 10-NH << 4-OH < 2-NH^{a,b}

DHF: 4-OH $\approx$ 8-NH << 10-NH < 2-NH^{a,b}

THF: 4-OH < 5-NH < 8-NH $\approx$ 10-NH < 2-NH^{a,b}

5-MTHF: 4-OH < 8-NH $\approx$ 10-NH < 2-NH^{a,b}

5-FTHF: 4-OH < 10-NH < 8-NH < 2-NH^{a,b}

BDE-ի արժեքները վերլուծելիս դիտվում է որոշակի օրինաչափություն: FA-ի դեպքում BDE-ի ամենափոքր արժեքը դիտվում է պարա-ամինոբենզոյաթթվի մնացորդի N-H կապի համար: Ինչ վերաբերում է FA-ի վերականգնված ձևերին (DHF, THF, 5-MTHF) և 5-FTHF-ին,

ամենափոքր BDE արժեք դիտվում է պիրիմիդինային օղակի O-H կապի մոտ: Այս ֆոլատների դեպքում H-ատոմի ուղղակի պոկման համար նախընտրելի կենտրոն է O-H խումբը:

DHF, THF, 5-MTHF և 5-FTHF-ի մոտ պիրիմիդինային օղակի O-H խմբի BDE-ի փոքր արժեքը պայմանավորված է ստերեոէլեկտրոնային էֆեկտով: B օղակում N ատոմների վալենտային չզույգված էլեկտրոնները տեղաբաշխված են պիրիմիդինային օղակի ատոմային հարթությունից դուրս: Դրանք մասնակցում են π -համակարգի զուգորդմանը, կայունացնում 4-O-H կապից H-ատոմի պոկմամբ առաջացող օքսիլային ռադիկալը, թուլացնում այդ կապը և մեծացնում վերջինի քիմիական ռեակցիոնունակությունը: FA-ի դեպքում այդ չզույգված էլեկտրոններն ուղղահայաց են π -համակարգին և չեն մասնակցում դրա տեղաբաշխմանը:

Ֆոլատների ակտիվ կենտրոնների BDE-ի արժեքները զգալի գերազանցում են 90 կկալ/մոլ-ը, հետևաբար, դրանք օժտված չեն հակաօքսիդիչային ունակությամբ ակտիվ ազատ ռադիկալների, մասնավորապես, ROO $\cdot$ և DPPH $\cdot$ ռադիկալների նկատմամբ:

Այսպիսով, ֆոլատների դեպքում ակտիվ ազատ ռադիկալների նկատմամբ հակաօքսիդիչային ունակություն չդրսևորող կենտրոններ են 4-OH, 2-NH^{a,b} խմբերը FA-ի; 2-NH^{a,b}, 10-NH-ը՝ 5-MTHF-ի; և 2-NH^{a,b}, 8-NH-ը՝ 5-FTHF-ի համար:

Ֆոլատների ռեակցիոն կենտրոնների համար PA-ի արժեքները բերված են շարքերով.

FA: 4-OH << 2-NH^{a,b} $\approx$ 10-NH

DHF: 4-OH << 8-NH $\approx$ 10-NH < 2-NH^{a,b}

THF: 4-OH << 10-NH < 8-NH $\approx$ 5-NH $\approx$ 2-NH^{a,b}

5-MTHF: 4-OH << 8-NH < 10-NH < 2-NH^{a,b}

5-FTHF: 4-OH << 8-NH < 10-NH $\approx$ 2-NH^{a,b}

Ֆոլատների պիրիմիդինային օղակի հիդրօքսիլային խմբի PA-ի արժեքը զգալիորեն փոքր է, քան N-H կապեր պարունակող ակտիվ կենտրոնների համար PA արժեքները:

Ֆոլատների ակտիվ կենտրոնների ETE-ի արժեքները տրվում են հետևյալ շարքերով.

FA: 10-NH << 2-NH^{a,b} < 4-OH

DHF: 8-NH << 4-OH $\approx$ 2-NH^{a,b} < 10-NH

THF: 5-NH < 2-NH^{a,b} < 8-NH $\approx$ 4-OH < 10-NH

5-MTHF: 2-NH^{a,b} < 8-NH $\approx$ 4-OH $\approx$ 10-NH

5-FTHF: 10-NH << 2-NH^{a,b} < 8-NH < 4-OH

ETE-ի արժեքները զգալի փոքր են IP-ի արժեքից, քանի որ ավելի նախընտրելի է ազատ էլեկտրոնի փոխանցումը զուգորդված հիմնային-անիոնից, քան չեզոք մոլեկուլից: 8-N-H և 5-N-H կապերի դեպրոտոնացված ձևերի համար ամենացածր ETE արժեքներ դիտվում են DHF-ի և THF-ի մոտ: FA-ի, 5-MTHF-ի և 5-FTHF-ի դեպքում ETE-ի ամենափոքր արժեք դիտվում է ամինոբենզոլյաթթվային մնացորդի 10-N-H կապի դեպրոտոնացված ձևի մոտ:

IP-ի փոքր արժեքը նպաստում է մեկ-էլեկտրոնային փոխանցման ռեակցիոնունակության բարձրացմանը: Ֆոլատների համար իոնացման պոտենցիալը բերված է հետևյալ շարքով.

DHF < THF < 5-MTHF < 5-FTHF < FA

Ֆոլատների ռեակցիոն կենտրոնների համար PDE-ի արժեքները ստորև բերված են շարքերով.

FA: 10-NH < 4-OH << 2-NH^{a,b}

DHF: 4-OH $\approx$ 8-NH < 10-NH < 2-NH^{a,b}

THF: 4-OH < 5-NH < 10-NH $\approx$ 8-NH < 2-NH^{a,b}

5-MTHF: 4-OH < 8-NH < 10-NH < 2-NH^{a,b}

5-FTHF: 4-OH < 10-NH < 8-NH < 2-NH^{a,b}

Վերականգնված ֆոլատների մոտ PDE-ի ամենափոքր արժեքը 4-OH ռադիկալ-կատիոնինն է: Հաշվի առնելով ֆոլատների հակառադիկալային կենտրոնների քանակական բնութագրերի փոքր արժեքները՝ կարելի է ենթադրել, որ ֆոլատների պիրիմիդինային օղակի O-H խումբը ազատ ռադիկալների հարձակման համար թերմոդինամիկորեն ամենաշահավետն է: Պետք է նշել H-ատոմի փոխանցման ռեակցիայում նաև մյուս հակառադիկալային կենտրոնների դերը: BDE-ի արժեքները տարբեր ֆոլատների համար աճում են հետևյալ շարքով.



DHF-ի, THF-ի, 5-MTHF-ի և 5-FTHF-ի ակտիվ կենտրոնների զգալի փոքր BDE արժեքները՝ համեմատ FA-ի BDE-ի արժեքների հետ ևս կապված են ստերեոէլեկտրոնային էֆեկտի հետ: DHF-ի ակտիվ կենտրոնների BDE-ի փոքր արժեքները, համեմատ THF-ի արժեքների, կապվում են DHF-ի B-օղակի կրկնակի կապի հետ, որը մասնակցելով π -համակարգի զուգորդմանը՝ հանգեցնում է DHF-ի ազատ-ռադիկալային ածանցյալի էներգետիկ կայունացմանը:

Համեմատ THF-ի՝ 5-FTHF-ի ռեակցիոն կենտրոնների BDE մեծ արժեքները թույլ են տալիս նշել, որ 5-FTHF-ի ֆորմիլային խումբն էլեկտրոն-ակցեպտոր է: Այն ջրածնական կապ է առաջացնում պիրիմիդինային օղակի 4-OH խմբի հետ (նկ. 1): Վերջինն էլ բարդացնում կամ արգելափակում է ազատ ռադիկալի կողմից OH խմբի H-ատոմի պոկման պրոցեսը:

Ֆոլատների համար PA-ի արժեքները աճում են տվյալ հաջորդականությամբ.



Ֆոլատների ակտիվ կենտրոնների PA-ի արժեքների փոփոխության հերթականությունը հակառակ է BDE-ի արժեքների փոփոխման հաջորդականությանը: 10-NH կենտրոնի դեպրոտոնացման ունակությունը կախված չէ ֆոլատների մոլեկուլային կառուցվածքից:

ETE-ի արժեքներն աճում են PA-ի արժեքների հակառակ հերթականությամբ.



ETE-ի աճող շարքը համընկնում է BDE-ի շարքի հետ: Այս շարքը ևս կապվում է էլեկտրոնային էֆեկտի հետ, որը հանգեցնում է ֆոլատի չեզոք ձևից H-ատոմի պոկման և զուգորդված հիմնային-անիոնից էլեկտրոնի փոխանցման պրոցեսում առաջացած ազատ ռադիկալների ակտիվ կենտրոնների կայունացմանը: FA-ի մոտ PA-ի փոքր արժեքները վկայում են, որ SPLET մեխանիզմի դեպքում FA-ն չի ցուցաբերում բարձր հակառադիկալային ակտիվություն: FA-ի ETE-ի արժեքները գերազանցում են վերականգնված ձևերի կենտրոնների ETE-ի արժեքները: Ֆոլատների BDE և ETE-ի արժեքների աճման շարքի ձևավորմանը հանգեցնող նույն էլեկտրոնային էֆեկտները պայմանավորում են նաև IP-ի արժեքների մեծացումը: Այդ արժեքները գործնականում աճում են նմանատիպ հաջորդականությամբ.



PDE-ի արժեքը փոփոխվում է PA-ի փոփոխման հերթականությանը համապատասխան.



Ֆոլատների շարքում թերմոդինամիկական տեսանկյունից նախընտրելի հակառադիկալային ակտիվությունները կարելի է դասավորել հետևյալ կերպ.

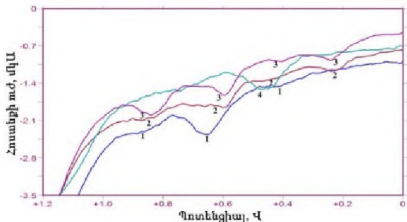


SET-PT և SPLET մեխանիզմներում լիցքերի բաժանման պրոցեսը բնութագրող IP, PDE և PA-ի արժեքները, ի տարբերություն գազային ֆազի, բևեռային լուծիչներ էթանոլի և ջրի դեպքում կտրուկ նվազում են՝ պայմանավորված լուծիչների աճող բևեռայնությամբ: Պրոտոնացման և էլեկտրոնի փոխանցման ռեակցիաներն առավել կայուն են բևեռային լուծիչներում:

ETE-ի արժեքն ավելի մեծ է բևեռային լուծիչների դեպքում, քան գազային ֆազում: Դա պայմանավորված է լուծիչի կողմից զուգորդված հիմնային-անիոնի կայունացմամբ: Լուծիչի բևեռայնությունը թույլ է ազդում ֆոլատների ակտիվ կենտրոնների BDE-ի արժեքների վրա: BDE-ի արժեքի ամենամեծ նվազումը դիտվում է DHF-ի և THF-ի դեպքում՝ բևեռային լուծիչներում: Լուծիչը թույլ է ազդում նաև ֆոլատների և ակտիվ կենտրոնների թերմոդինամիկական բնութագրիչների արժեքների փոփոխման հաջորդականության վրա: Գազային ֆազում և բենզոլում (ոչ բևեռային լուծիչ) HAT մեխանիզմը բնութագրող BDE-ի արժեքները զգալի փոքր են SET-PT և SPLET մեխանիզմների բնութագրիչներից: Այստեղ SET-PT և SPLET մեխանիզմները թերմոդինամիկորեն մրցունակ չեն HAT մեխանիզմի հետ:

ՖՈԼԱՏՆԵՐԻ ՀԱԿԱՌԱԴԻԿԱԼԱՅԻՆ ՌԵԱԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԿԻՆԵՏԻԿԱԿԱՆ ՈՐՈՇՈՒՄ

Ֆոլատների օքսիդացման հատկությունների բնութագրման համար կիրառվել է քառակուսա-ալիքային վոլտամպերաչափական (SWV) եղանակը: Ֆոլատների SW վոլտամպերագրամները բերված են նկ. 2-ում:



Նկար 2. SW վոլտամպերագրամները FA (1)-ի և դրա ածանցյալների՝ DHF (2), THF (3), 5-FTHF (4), համար: [Folate]₀=2.5×10⁻⁵ Մ, T=37°C: Պոտենցիալների տիրույթը 0 ÷ +1200 մՎ, սկանավորման հաճախությունը՝ 25 Հց, քառակուսա-ալիքային ամպլիտուդը՝ 25 մՎ:

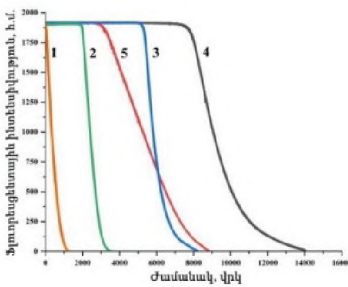
Նկ. 2-ում բերված Ag/Ag⁺-ի նկատմամբ օքսիդացման պիկերը համապատասխանում են ֆոլատների հակառադիկալային կենտրոններին: Անոդային պիկերի քանակը FA-ի մոտ երեք է, DHF-ի և THF-ի մոտ՝ չորս, իսկ 5-FTHF-ի մոտ՝ մեկ: Ռեակցիոն կենտրոնների դասակարգման համար օքսիդացման պոտենցիալների արժեքները համադրվել են ֆոլատների ակտիվ կենտրոնների կապի դիսոցման էնթալպիաների (BDE) հաշվարկված արժեքների հետ (աղ. 5):

Աղյուսակ 5. Ֆոլատների օքսիդացման պոտենցիալների արժեքները ստացված SWV եղանակով և ռեակցիոն կենտրոնների BDE արժեքները՝ հաշվարկված քվանտա-քիմիական եղանակով:

Ֆոլատ	4-OH		8-NH		10-NH		2-NH ₂	
	BDE, կկալ/մոլ	E, մՎ	BDE, կկալ/մոլ	E, մՎ	BDE, կկալ/մոլ	E, մՎ	BDE, կկալ/մոլ	E, մՎ
Ֆոլաթթու (FA)	102.99	+408	—	—	92.08	+648	109.03	+855
Դիհիդրո- ֆոլաթթու (DHF)	70.03	+226	70.99	+428	87.42	+590	96.46	+830
Տետրահիդրո- ֆոլաթթու (THF)	74.30	+234	89.98	+420	91.76	+592	97.46	+836
5-Ֆորմիլ տետրահիդրո- ֆոլաթթու (5-FTHF)	88.82	+450	100.30	—	94.70	—	105.04	—

Բոլոր ֆոլատների մոտ 4-OH խումբը էներգիապես ամենաթույլն է և ամենառեակցիոնունակը: FA-ն, DHF-ն և THF-ն ունեն օքսիդացման պիկեր բարձր պոտենցիալների տիրույթում 10-NH և 2-NH₂ խմբերի համար: Դրանով պայմանավորված այս խմբերի ներգրավվածությունը ֆոլատների հակառադիկալային ունակության մեջ փոքր է: 8-NH խմբի առկայությունը DHF-ի և THF-ի մոտ կարող է նպաստել դրանց հակառադիկալային ունակության բարձրացմանը:

Ֆոլատների հակառադիկալային տարողությունների որոշման համար կինետիկորեն գնահատվել են ROO· և DPPH· ռադիկալների նկատմամբ կլանման տարողությունները: Նկ. 3-ում ներկայացված են ORAC եղանակով ստացված փորձարարական տվյալները՝ ֆլուորեսցենսի ծախսի կինետիկական կորերը: Կորերը ստացվում են պերօքսիլային ռադիկալների հետ ռեակցիայի արդյունքում՝ հակաօքսիդիչների (ֆոլատներ և որպես ստանդարտ՝ Trolox) բացակայության և առկայության պայմաններում:



Նկար 3. Ֆլուորեսցենսի ֆլուորեսցենցիայի ինտենսիվության նվազման կինետիկական կորերը պերօքսիլային ռադիկալների հետ ռեակցիայում հակաօքսիդիչների բացակայության (1) և առկայության պայմաններում. Trolox (2), DHF (3), THF (4) և 5-FTHF (5): [AAPH]₀=2×10⁻² M (ROO· առաջացման արագությունը՝ 3.2×10⁻⁸ Mվ⁻¹), [FI]₀=5×10⁻⁷ M, հակաօքսիդիչի կոնցենտրացիան՝ 2.5×10⁻⁵ M, T=37°C:

Ռեակցիոն միջավայր հակաօքսիդիչ մտցնելու դեպքում ակնհայտ է ռեակցիայի արգելակման ժամանակը, որի ավարտից FI-ի ծախսի արագությունը նկատելի աճում է: Այդ արագությունը զգալի փոքր է հակաօքսիդիչի բացակայությամբ (կոր 1) դիտվող արագության արժեքից: Սա վկայում է, որ հակաօքսիդիչները օժտված են հակապերօքսիռադիկալային տարողությամբ: ORAC եղանակով ստացված հակաօքսիդիչների հակապերօքսիռադիկալային տարողությունների արժեքները բերված են աղ. 6-ում:

Աղյուսակ 6. Հակաօքսիդիչների հակապերօքսիռադիկալային տարողությունների արժեքները:

Ֆոլատ	* f_{ox}^*	** f_{ox}^{**}
Դիհիդրոֆոլատ (DHF)	2.93	5.86
Տետրահիդրոֆոլատ (THF)	3.81	7.62
5-Ֆորմիլ տետրահիդրոֆոլատ (5-FTHF)	2.46	4.92
Տրոլոքս (Trolox)	1	2

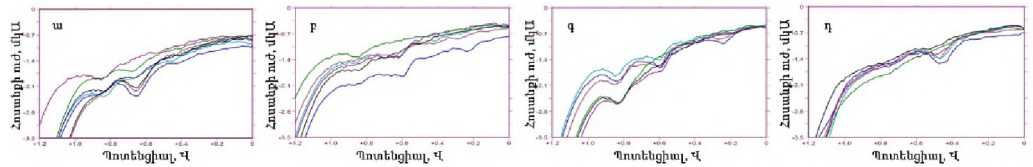
* f_{ox}^* TE – տրոլոքսային համարժեքի նկատմամբ հակապերօքսիռադիկալային տարողություն;
 ** f_{ox}^{**} – հակառադիկալային տարողության բացարձակ արժեք $f_{Trolox}=2$ արժեքի դեպքում:

Պետք է ընդգծել, որ ֆոլատների հակապերօքսիռադիկալային տարողությունները գերազանցում են այդ մեծությունը Trolox-ի համար: Հակառադիկալային տարողության ավելի մեծ արժեք դիտվում է FA-ի վերականգնված ձևերի՝ DHF-ի և THF-ի մոտ: Ֆոլատների հակապերօքսիռադիկալային տարողությունների արժեքներում վերջինների ինչպես անհատական, այնպես էլ ռեակցիոն կենտրոնների ունեցած ներդրումները բացատրելու համար ռեակցիոն խառնուրդներն ուսումնասիրվել են նաև SWV եղանակով՝ ORAC եղանակի նմանությամբ, ֆլուորեսցենսի բացակայության և թթվածնի առկայության պայմաններում:

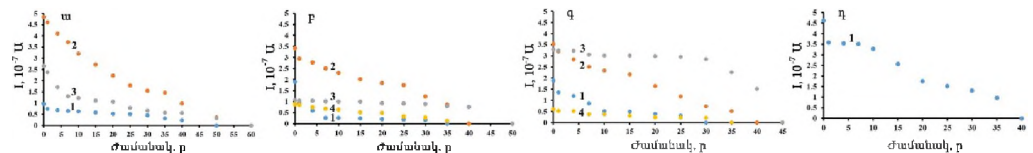
Ըստ ֆոլատների SW վոլտամպերագրամների՝ FA-ի և 5-FTHF-ի անոդային օքսիդացման պիկերը տեղաշարժված են պոտենցիալների մեծ արժեքների դաշտ, ի տարբերություն DHF-ի և THF-ի: Ըստ ֆոլատների ռեակցիոն խմբերի BDE արդյունքների՝ կարելի է եզրակացնել, որ FA-ն և 5-FTHF-ն պակաս ակտիվ հակաօքսիդիչներ են, քան վերականգնված ձևերը: Դրանով

է պայմանավորված հակապերօքսիռադիկալային տարողությունների համար ստացված տարբերությունը:

Նկ. 4-ում բերված են պերօքսիլային ռադիկալների հետ ֆոլատների փոխազդեցության վոլտամպերագրամները, իսկ Նկ. 5-ում՝ ֆոլատների ռեակցիոն խմբերի հակաօքսիդիչային ծախսի կինետիկական կորերը:



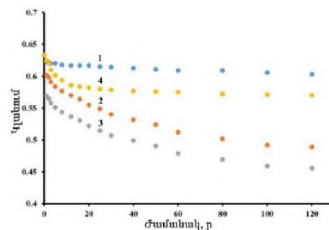
Նկար 4. Ֆոլատների ծախսի SW վոլտամպերագրամները պերօքսիլային ռադիկալների հետ ռեակցիայում. FA (ա), DHF (բ), THF (գ) և 5-FTHF (դ): $[AAPH]_0 = 2 \times 10^{-2} \text{ M}$, $[Folate]_0 = 2.5 \times 10^{-5} \text{ M}$, $T = 37 \pm 0.1^\circ \text{C}$:



Նկար 5. Պերօքսիլային ռադիկալների հետ ռեակցիայում ֆոլատների ծախսի կինետիկական կորերը տարբեր ռեակցիոն խմբերի համար (FA (ա), DHF (բ), THF (գ) և 5-FTHF (դ)). 4-OH (1), 10-NH (2), 2-NH₂ (3), և 8-NH (4): $[AAPH]_0 = 2 \times 10^{-2} \text{ M}$, $[Folate]_0 = 2.5 \times 10^{-5} \text{ M}$, $T = 37^\circ \text{C}$:

Ըստ ֆոլատների ֆունկցիոնալ խմբերի փոփոխության՝ պերօքսիլային ռադիկալների հետ ռեակցիայում ֆոլատների մոտ առաջինը ծախսվում է 4-OH, իսկ ամենադանդաղը՝ երկրորդ (10-NH) և երրորդ (2-NH₂) ֆունկցիոնալ խմբերը: DHF-ի և THF-ի մոտ ի հայտ եկած չորրորդ պիկը՝ 8-NH խումբը, ռեակցիոնունակությամբ երկրորդն է և զիջում է 4-OH-ին:

Ընդհանրացնելով կինետիկական եղանակներով ստացված տվյալները, կարելի է եզրակացնել, որ ֆոլատների հակապերօքսիռադիկալային տարողությունները կապված են գերազանցապես 4-OH, մասամբ 10-NH, իսկ DHF-ի և THF-ի դեպքում՝ նաև 8-NH ռեակցիոն կենտրոնների հետ: DHF-ի և THF-ի հակառադիկալային ունակության բազմակենտրոն դրսևորումը հանգեցնում է դրանց հակապերօքսիռադիկալային տարողության մեծացմանը: Ֆոլատների կլանման տարողությունները որոշվել են նաև DPPH ռադիկալի նկատմամբ: Այդ նպատակով ՈւՄ-Տեսանելի սպեկտրաչափական եղանակով գնահատվել է DPPH-ի ծախսի կինետիկական յուրաքանչյուր ֆոլատի համար մինչև հավասարակշռության հաստատում (Նկ. 6):



Նկար 6. DPPH-ի կոնցենտրացիայի նվազման կինետիկական կորերը ֆոլատների հետ ռեակցիայի արդյունքում. FA (1), DHF (2), THF (3), և 5-FTHF (4): Հակաօքսիդիչի կոնցենտրացիա՝ $1.8 \times 10^{-5} \text{ M}$, $[DPPH]_0 = 7.5 \times 10^{-5} \text{ M}$, $\lambda = 517 \text{ nm}$, $T = 37^\circ \text{C}$:

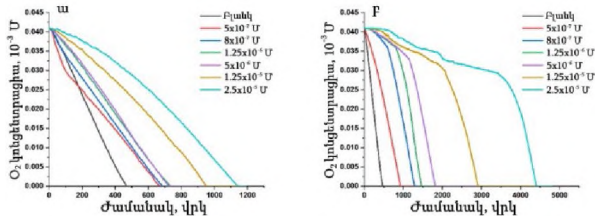
FA-ի և 5-FTHF-ի հետ ռեակցիաներում DPPH-ի ծախսի սկզբնական փոքր արագություններ են դիտվում: DHF-ի և THF-ի կողմից DPPH-ի կալանումը տեղի է ունենում ավելի արագ, քան FA-

ի և 5-FTHF-ի դեպքում: DPPH-ի նկատմամբ ֆոլատների հակառադիկալային տարողության արժեքները հաշվարկվել են ըստ տրված կինետիկական կորերի (աղ. 7):

Աղյուսակ 7. Ֆոլատների հակառադիկալային տարողությունները DPPH-ի նկատմամբ:

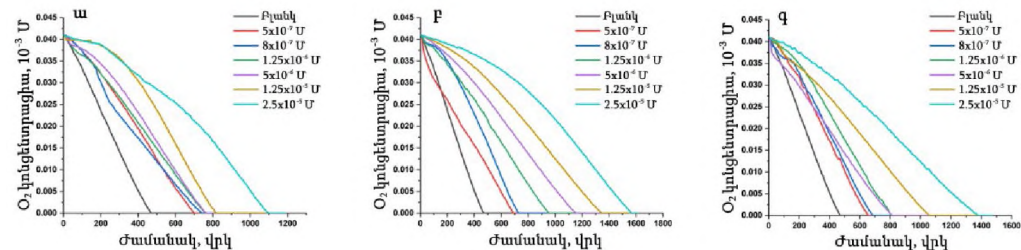
Ֆոլատ	f_{DPPH}
Ֆոլաթթու (FA)	0.38
Դիհիդրոֆոլաթթու (DHF)	1.86
Տետրահիդրոֆոլաթթու (THF)	2.62
5-Ֆորմիլ տետրահիդրոֆոլաթթու (5-FTHF)	0.76

THF-ն և DHF-ն հակառադիկալային ունակությամբ զերազանցում են FA-ին և 5-FTHF-ին: Ֆոլատների հակաօքսիդիչային հատկությունները ուսումնասիրվել են նաև միցելային համակարգում՝ մոլեկուլային թթվածնով մեթիլլինոլետաի (ML) օքսիդացման շղթայական ազատ-ռադիկալային ռեակցիայում: Նկ. 7-ում ներկայացված են ML-ի պերօքսիդացման ռեակցիայում թթվածնի կլանման կինետիկական կորերը FA-ի և Trolox-ի համար:



Նկար 7. Մեթիլլինոլետաի պերօքսիդացման պրոցեսում թթվածնի կլանման կինետիկական կորերը հակաօքսիդիչի բացակայության և վերջինի տարբեր կոնցենտրացիաների առկայության դեպքում՝ FA (ա) և Trolox (բ): Հակաօքսիդիչի ընտրված կոնցենտրացիաներն են՝ 5×10^{-7} U; 8×10^{-7} U; 1.25×10^{-6} U; 5×10^{-6} U; 1.25×10^{-5} U; 2.5×10^{-5} U: $[AAPH]_0 = 7 \times 10^{-3}$ U, $[ML]_0 = 2.5 \times 10^{-2}$ U, $[Triton\ X-100]_0 = 5 \times 10^{-2}$ U, $T = 37^\circ C$:

Ռեակցիոն համակարգին FA ավելացնելիս դիտվում է թթվածնի կլանման միջին արագության նվազում՝ համեմատ FA-ի բացակայության պայմաններում ընթացող ռեակցիայի, ինչը վկայում է, որ FA-ն դրսևորում է հակաօքսիդիչային հատկություններ: Trolox-ի առկայության դեպքում դիտվում է ռեակցիայի արգելակման ժամանակահատված, որի ավարտին թթվածնի կլանման և ML-ի օքսիդացման արագությունը զգալի աճում է: Նման պատկեր չի դիտվում FA-ի մոտ, հետևաբար FA-ն ցուցաբերում է թույլ հակաօքսիդիչային ակտիվություն, քան Trolox-ը: Նմանատիպ էֆեկտ, ինչ FA-ի մոտ է, դիտվում է նաև FA-ի կառուցվածքային ածանցյալների մոտ (նկ. 8):



Նկար 8. Մեթիլլինոլետաի օքսիդացման պրոցեսում թթվածնի կլանման կինետիկական կորերը հակաօքսիդիչների բացակայության և վերջինների տարբեր կոնցենտրացիաների առկայության դեպքում՝ DHF (ա), THF (բ) և 5-FTHF (գ): Հակաօքսիդիչների ընտրված կոնցենտրացիաներն են՝ 5×10^{-7} U; 8×10^{-7} U; 1.25×10^{-6} U; 5×10^{-6} U; 1.25×10^{-5} U; 2.5×10^{-5} U: $[AAPH]_0 = 7 \times 10^{-3}$ U, $[ML]_0 = 2.5 \times 10^{-2}$ U, $[Triton\ X-100]_0 = 5 \times 10^{-2}$ U, $T = 37 \pm 0.1^\circ C$:

Համապատասխան կինետիկական քանակական արդյունքները՝ ռեակցիայի միջին արագությունները հետազոտվող հակաօքսիդիչների համար տրված են աղ. 8-ում:

Աղյուսակ 8. Մեթիլլինոլատի օքսիդացման ռեակցիայի միջին արագությունների արժեքները հակաօքսիդիչների բացակայության և վերջինների տարբեր կոնցենտրացիաների առկայության դեպքում: [AAPH]₀=7×10⁻³ Մ, [ML]₀=2.5×10⁻² Մ, [Triton X-100]₀=5×10⁻² Մ, T=37°C:

Հակաօքսիդիչ	Կոնցենտրացիա, Մ					
	5×10 ⁻⁷	8×10 ⁻⁷	1.25×10 ⁻⁶	5×10 ⁻⁶	1.25×10 ⁻⁵	2.5×10 ⁻⁵
Ֆոլաթթու (FA)	0.061	0.059	0.056	0.051	0.043	0.036
Դիհիդրո-Ֆոլաթթու (DHF)	0.058	0.055	0.048	0.043	0.036	0.028
Տետրահիդրո-Ֆոլաթթու (THF)	0.059	0.056	0.045	0.041	0.034	0.026
5-Ֆորմիլ տետրահիդրո ֆոլաթթու (5-FTHF)	0.062	0.059	0.050	0.045	0.038	0.030
Տրոլոքս (Trolox)	0.044	0.031	0.022	0.019	0.014	0.009

Հակաօքսիդիչի բացակայության դեպքում ռեակցիայի միջին արագությունը հավասար է 0.087×10⁻³ Մվրկ⁻¹

Ստացված արժեքները վկայում են ռեակցիոն խառնուրդում ֆոլատի կոնցենտրացիայի մեծացմանը զուգահեռ ML-ի պերօքսիդացման ռեակցիայի միջին արագության նվազման մասին: Միևնույն ժամանակ, դիտվում է ֆոլատների հակաօքսիդիչային ակտիվության կախվածություն վերջինների կոնցենտրացիայի մեծացումից:

ML-ի շղթայական պերօքսիդացման պրոցեսում պերօքսիլային ռադիկալների հետ ֆոլատների ռեակցիոն արագության հաստատունները (*k*_{պր}) հաշվարկվել են վերջինների տարբեր կոնցենտրացիաների համար (աղ. 9):

Աղյուսակ 9. Մեթիլլինոլատի պերօքսիդացման պրոցեսում պերօքսիլային ռադիկալների հետ ֆոլատների փոխազդեցության արագության հաստատունների արժեքները: [AAPH]₀=7×10⁻³ Մ, [ML]₀=2.5×10⁻² Մ, [Triton X-100]₀=5×10⁻² Մ, T=37±0.1°C:

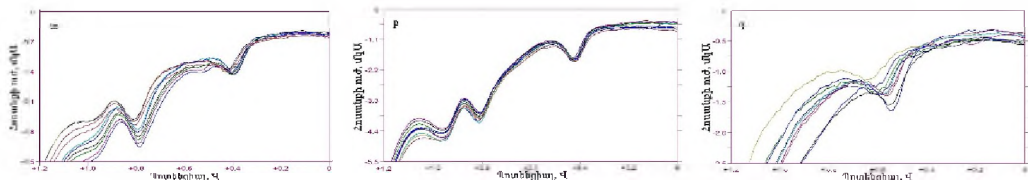
Հակաօքսիդիչ	Կոնցենտրացիա, Մ					
	5×10 ⁻⁷	8×10 ⁻⁷	1.25×10 ⁻⁶	5×10 ⁻⁶	1.25×10 ⁻⁵	2.5×10 ⁻⁵
Ֆոլաթթու (FA)	11.64	8.31	7.47	2.17	1.31	0.99
Դիհիդրո-Ֆոլաթթու (DHF)	21.71	14.29	13.33	4.62	2.98	2.15
Տետրահիդրո-Ֆոլաթթու (THF)	30.38	21.94	21.00	7.61	4.52	3.19
5-Ֆորմիլ տետրահիդրո ֆոլաթթու (5-FTHF)	16.28	11.15	10.55	3.22	1.77	1.34

*R*_{հոսք}=7.49×10⁻⁹ Մվրկ⁻¹; *R*₀=1.94×10⁻⁷ Մվրկ⁻¹; *k*_{պր}=3×10³ Մ⁻¹վրկ⁻¹

Կինետիկական տվյալների վերլուծությունը թույլ է տալիս եզրակացնել, որ DHF-ն և THF-ն օժտված են ավելի ուժեղ հակաօքսիդիչային հատկություններով, քան FA-ն և 5-FTHF-ն: Միևնույն ժամանակ ֆոլատները ցուցաբերում են ուժեղ հակաօքսիդիչային հատկություն բարձր կոնցենտրացիաների դեպքում:

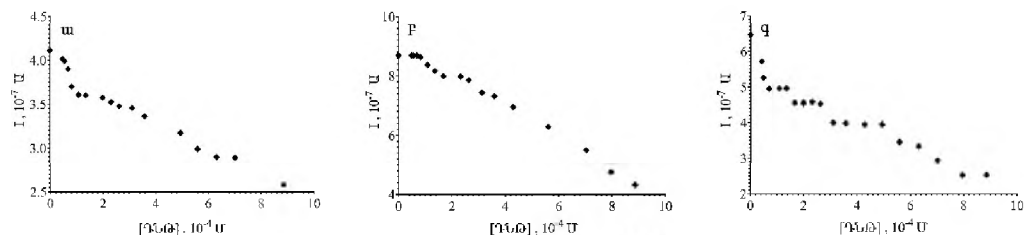
ՖՈԼԱՏՆԵՐԻ ՀԵՏ ԴՆԹ-Ի ԿԱՊՄԱՆ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒՄ: ՖՈԼԱՏՆԵՐՈՎ ԴՆԹ-Ի ՀԱԿԱՌԱԴԻԿԱԼԱՅԻՆ ՊԱՇՏՊԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

Ֆոլատների կենսահակաօքսիդիչային ակտիվությունը գնահատվել է ֆոլատ-ԴՆԹ համակարգում: ԴՆԹ-ֆոլատ փոխազդեցությունը դիտարկվել է ուղղակի տիտրման եղանակով: Վոլտամպերաչափական տիտրման համար օգտագործվել են ֆոլատների համապատասխան պոտենցիալների արժեքներով օքսիդացման պիկերը: Տիտրման SW վոլտամպերագրամները ֆոլատների համար բերված են նկ. 9-ում:



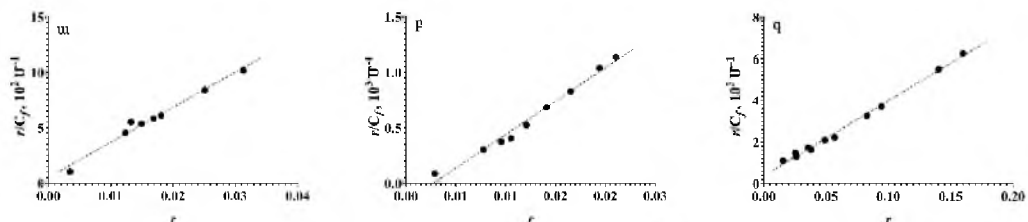
Նկար 9. Ֆոլատների՝ ուղղակի տիտրման եղանակով ստացված SW վոլտամպերոգրամները ԴՆԹ-ի բացակայության և վերջինի տարբեր կոնցենտրացիաների առկայության դեպքում. DHF (ա), THF (բ) և 5-FTHF (գ): Հալաօքսիդիչների կոնցենտրացիան 2.5×10^{-5} U, $[ԴՆԹ]_0 = 4.2 \times 10^{-5}$ U, $[NaCl] = 0.154$ U, $T = 37 \pm 0.1^\circ C$:

Ֆոլատի լուծույթին ԴՆԹ-ի ավելացմանը զուգահեռ դիտվում է ֆոլատի օքսիդացումային պոտենցիալի հոսանքի ուժի աստիճանական նվազում: Այս երևույթը բացատրվում է ԴՆԹ-ֆոլատ կոմպլեքսի առաջացմամբ: Ռեակցիոն խառնուրդում ֆոլատի՝ ԴՆԹ-ի կոնցենտրացիայից զգալի փոքր կոնցենտրացիայի պարագայում հոսանքի ուժի արժեքի փոփոխություն գրեթե չի նկատվում: Դա վկայում է կոմպլեքսագոյացման ավարտի մասին: Ֆոլատ-ԴՆԹ կոմպլեքսագոյացման SW վոլտամպերագրամների հիման վրա ֆոլատների համար կառուցվել են տիտրման կորեր (նկ. 10):



Նկար 10. ԴՆԹ-ի կոնցենտրացիայից հոսանքի ուժի կախվածության կորերը. DHF (ա), THF (բ) և 5-FTHF (գ): Հալաօքսիդիչների կոնցենտրացիան 2.5×10^{-5} U, $[ԴՆԹ]_0 = 4.2 \times 10^{-5}$ U, $[NaCl] = 0.154$ U, $T = 37 \pm 0.1^\circ C$:

Այս արդյունքները թույլ են տալիս որոշել ֆոլատ-ԴՆԹ կապման մեխանիզմները և քանակական պարամետրերը՝ K և n : Այդ նպատակով տիտրման կորերի հիման վրա Կրոտերսի և Առաքելյանի հավասարումների ու ռեգրեսիոն անալիզի միջոցով կառուցվել են ֆոլատ-ԴՆԹ կապման իզոթերմները (նկ. 11):



Նկար 11. ԴՆԹ-ի հետ ֆոլատների կապման կորերը Սկետչարդի կոորդինատներում. DHF (ա), THF (բ) և 5-FTHF (գ): Հալաօքսիդիչների կոնցենտրացիան 2.5×10^{-5} U, $[ԴՆԹ]_0 = 4.2 \times 10^{-5}$ U, $[NaCl] = 0.154$ U, $T = 37 \pm 0.1^\circ C$:

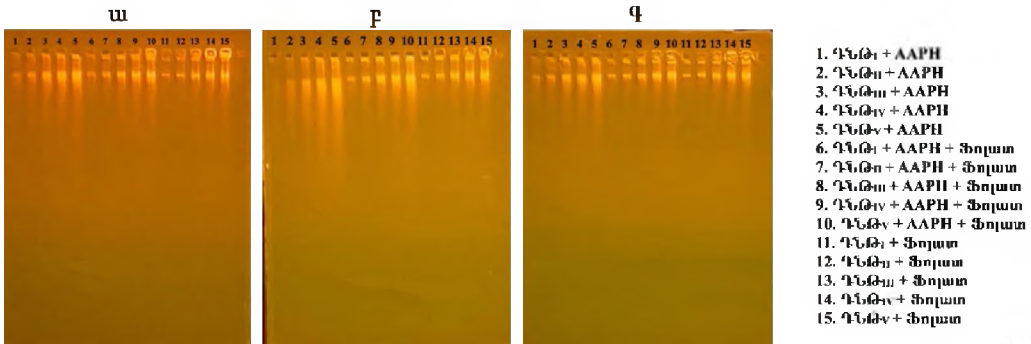
Ֆոլատ-ԴՆԹ համակարգի համար ստացված Սկետչարդի կապման կորերը գծային են և կազմված մեկ ուղղագիծ հատվածից: Դա վկայում է այն մասին, որ ԴՆԹ-ի հետ ֆոլատները կապվում են մեկ եղանակով՝ ԴՆԹ-ի արտաքին կողմից: Այսինքն ֆոլատ-ԴՆԹ համակարգում գործում է արտաքին կապման մեխանիզմը:

Ստացված իզոթերմների հիման վրա ըստ Առաքելյանի հավասարման որոշվել են **K**-ի քանակական արժեքները ֆոլատ-ԴՆԹ կապման այդ ձևի համար: ԴՆԹ-ի հետ ֆոլատների արտաքին թույլ կապվածությունը հնարավորություն չի տվել հաշվարկել **n**-ի արժեքը (աղ. 10):

Աղյուսակ 10. Ֆոլատ-ԴՆԹ կապման հաստատունների (**K**) արժեքները: Հակաօքսիդիչների կոնցենտրացիան 2.5×10^{-5} M, $[ԴՆԹ]_0 = 4.2 \times 10^{-5}$ M, $[NaCl] = 0.154$ M, $T = 37 \pm 0.1^{\circ}C$:

Կապման հաստատուն	Հակաօքսիդիչ		
	Դիհիդրոֆոլաթթու (DHF)	Տետրահիդրոֆոլաթթու (THF)	5-Ֆորմիլ տետրահիդրո ֆոլաթթու (5-FTHF)
K	0.81	1.68	4.74

Բոլոր ֆոլատները ԴՆԹ-ի նկատմամբ ցուցաբերում են թույլ խնամակցություն: **K**-ի փոքր արժեքները ևս վկայում են ԴՆԹ-ի հետ ֆոլատների թույլ արտաքին կապման մասին: ԴՆԹ-ն պերօքսիլային ռադիկալներից պաշտպանելու ֆոլատների հակաօքսիդիչային ունակությունները բացահայտվել են ժել-էլեկտրաֆորեզի եղանակով: Ֆոլատ-ԴՆԹ համակարգում ֆոլատների հակապերօքսիռադիկալային ունակությունը դիտարկվել է ԴՆԹ-ի տարբեր կոնցենտրացիաների համար, միաժամանակ ֆոլատի կոնցենտրացիան պահվել է հաստատուն: Որպես ռեակցիոն խառնուրդ օգտագործվել է ֆոլատ, ԴՆԹ և AAPH պարունակող համակարգը, իսկ որպես ստուգիչ համակարգ՝ երկու տիպի խառնուրդ. առաջինում բացակայել է հարուցիչը (AAPH), իսկ երկրորդում՝ հակաօքսիդիչը (ֆոլատ): Հետազոտվող խառնուրդներ պարունակող փորձանոթները նախապես 3 ժամ թերմոստատացվել են $37 \pm 0.1^{\circ}C$ ջերմաստիճանում: Ռեակցիայի ավարտից հետո ԴՆԹ-ի օքսիդացումային վնասման աստիճանը որոշելու համար թերմոստատացված համակարգերը հետազոտվել են էլեկտրաֆորեզի միջոցով 2 ժամվա ընթացքում (նկ. 12):



Նկար 12. Ֆոլատներով ԴՆԹ-ի հակառադիկալային պաշտպանություն ֆոլատ/ԴՆԹ տարբեր հարաբերակցությունների դեպքում. DHF (ա), THF (բ) և 5-FTHF (գ): Հակաօքսիդիչների կոնցենտրացիան հաստատուն է՝ 2.5×10^{-5} M; $[ԴՆԹ] = 2.5 \times 10^{-5}$ M; $[ԴՆԹ]_0 = 5 \times 10^{-5}$ M; $[ԴՆԹ]_{\text{free}} = 10^{-4}$ M; $[ԴՆԹ]_{\text{free}} = 1.5 \times 10^{-4}$ M; $[ԴՆԹ]_{\text{free}} = 2 \times 10^{-4}$ M; $[NaCl] = 0.154$ M, $T = 37 \pm 0.1^{\circ}C$:

Ֆոլատ/ԴՆԹ բոլոր հինգ հարաբերակցությունների դեպքում ԴՆԹ-ի օքսիդացումային վնասման աստիճանը փոքր է: Նման պատկեր դիտվում է բոլոր ֆոլատների դեպքում: Դա վկայում է, որ ֆոլատներն ուղղակիորեն պաշտպանում են ԴՆԹ-ն պերօքսիլային ռադիկալներով օքսիդացումային վնասումից: Այս երևույթը բացատրվում է նրանով, որ ֆոլատների մոլեկուլում հիմնական ակտիվ ֆենոլային OH խումբը հարաբերական ազատ է և ցուցաբերում է բարձր հակապերօքսիռադիկալային ակտիվություն:

ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

- Փորձարարական և տեսական/հաշվարկային եղանակներով մոլեկուլային մակարդակով ցույց է տրվել, որ ֆոլատները ցուցաբերում են հակառադիկալային/ հակաօքսիդիչային հատկություններ բևեռային, ոչ բևեռային և միցելային համակարգերում: Առաջին անգամ դուրս է բերվել ֆոլատների ռեակցիոնակտիվությունների համեմատական շարք՝ ֆոլաթթու (FA) << 5-ֆորմիլ տետրահիդրոֆոլաթթու (5-FTHF) < 5-մեթիլ տետրահիդրոֆոլաթթու (5-MTHF) < տետրահիդրոֆոլաթթու (THF) $\cong$ դիհիդրոֆոլաթթու (DHF):
- Ուսումնասիրված ֆոլատների մոլեկուլներում բացահայտվել են հակառադիկալային կենտրոնները. FA-ի, 5-FTHF-ի և 5-MTHF-ի մոլեկուլներում երկու՝ 4-OH և 10-NH, DHF-ի մոլեկուլում երեք՝ 4-OH, 10-NH և 8-NH, THF-ի մոլեկուլում չորս՝ 4-OH, 10-NH, 8-NH և 5-NH: Առաջին անգամ որոշվել է ֆունկցիոնալ խմբերի ռեակցիոնակտիվությունների համեմատական շարք՝ 4-OH > 8-NH $\cong$ 5-NH > 10-NH:
- Ֆոլատների մոլեկուլներում հակառադիկալային երկու և ավելի կենտրոնների առկայությունը հանգեցնում է հակառադիկալային տարողությունների մեծացմանը: Առաջին անգամ կազմվել է ֆոլատների հակառադիկալային տարողությունների համեմատական շարք՝ FA < 5-FTHF < THF $\cong$ DHF:
- DHF-ի և THF-ի բարձր հակառադիկալային ռեակցիոնակտիվությունը կապված է վերջինների էլեկտրոնային կառուցվածքի, մասնավորապես ստերեոէլեկտրոնային էֆեկտի և DHF-ի մոլեկուլի պիրազինային օղակի կրկնակի կապի հետ: 5-FTHF-ի ցածր ռեակցիոնակտիվությունը պայմանավորված է պիրիմիդինային օղակի 4-OH խմբի հետ ֆորմիլային խմբի առաջացրած ներմոլեկուլային ջրածնական կապով:
- Գազային և ոչ բևեռային (բենզոլի) միջավայրերում թերմոդինամիկորեն նախընտրելի է հակաօքսիդիչների կողմից ազատ-ռադիկալային կալանման HAT, իսկ բևեռային (էթանոլ, ջուր) լուծիչներում՝ միաժամանակ SPLET և SET-PT մեխանիզմները:
- Ֆոլատները ԴՆԹ-ի հետ կապվում են արտաքին թույլ կապման մեխանիզմով և ուղղակիորեն պաշտպանում ԴՆԹ-ն պերօքսիդային ռադիկալներով հարուցված օքսիդացումային վնասումից՝ ցուցաբերելով կենսահակաօքսիդիչային ակտիվություն ինչպես կապված, այնպես էլ ազատ վիճակում:
- Ֆոլատների, մասնավորապես, օրգանիզմում սինթեզվող DHF-ի և THF-ի մոտ դիտվող բարձր հակառադիկալային/հակաօքսիդիչային ակտիվությունը և պերօքսիդային ռադիկալներով հարուցված օքսիդացումային վնասումից ԴՆԹ-ն ուղղակիորեն պաշտպանելու ունակությունը ֆոլատների կենսաքիմիական և կենսաբժշկական ակտիվությունները պայմանավորող կարևոր գործոններն են:

Գիտական հոդվածներ

1. Манукян З.О., Арутюнян Л.А., Тавадян Л.А.// Исследование антиоксидантных свойств фолиевой кислоты методом определения поглощающей емкости по отношению к кислородным радикалам (ORAC). *Химический Журнал Армении*, **69(4)**:392-398, 2016.
2. Manukyan Z.H.// Investigation of chemical mechanism of antioxidant action of folic acid by oxygen radical absorbance capacity method. *Biological Journal of Armenia*, **68**:78-81, 2016.
3. Манукян З.О., Арутюнян Л.А., Тавадян Л.А.// Исследование методом квадратно-волновой вольтамперометрии антирадикальных свойств тетрагидрофолиевой кислоты. *Химический Журнал Армении*, **72(1-2)**:10-17, 2019.
4. Манукян З.О., Давтян А.Г., Арсентьев С.Д., Тавадян Л.А.// Антирадикальные реакционные центры фолиевой кислоты. Квантово-химический расчёт. *Химический Журнал Армении*, **72(3)**:233-242, 2019.
5. Manukyan Z.H., Stepanyan S.Kh., Musayelyan M.V., Kocharyan G.G.// Kinetic determination of antiradical ability of folic acid and its structural derivatives. *Reaction Kinetics, Mechanisms and Catalysis*, **138(4)**: 1955-1975, 2025. DOI: [10.1007/s11144-025-02891-3](https://doi.org/10.1007/s11144-025-02891-3)
6. Manukyan Z.H.// The effect of folates on the oxidation reaction of methyl linoleate in micellar solutions. *Chemija*, **36(3)**: 132-138, 2025. DOI: [10.6001/chemija.2025.36.3.3](https://doi.org/10.6001/chemija.2025.36.3.3)

Գիտական թեզիսներ

1. Манукян З.О., Арутюнян Л.А., Тавадян Л.А.// Исследование антирадикальных свойств тетрагидрофолиевой кислоты методом квадратно-волновой вольтамперометрии. *V Международная конференция «Современные проблемы химической физики»*. Ереван, Армения, 25-29 сентября, 2018.
2. Манукян З.О., Давтян А.Г., Арсентьев С.Д., Тавадян Л.А.// Выявление квантово-химическими расчётами реакционных центров фолиевой кислоты, ответственных за её антирадикальную способность. *V Международная конференция «Современные проблемы химической физики»*. Ереван, Армения, 25-29 сентября, 2018.
3. Манукян З.О., Давтян А.Г., Арсентьев С.Д., Тавадян Л.А.// Антирадикальные реакционные центры фолиевой кислоты. Квантово-химический расчёт. *VI Научная Конференция Армянского Химического Общества: АХО-6*. Ереван, Армения, 7-11 октября, 2019.
4. Manukyan Z.H., Davtyan A.H., Arsentev S.D., Tavadyan L.A.// Antiradical reaction centers of folic acid. Quantum-chemical calculation. *New Emerging Trends in Chemistry Conference*. Yerevan, Armenia, 24-28 September, 2023.
5. Manukyan Z.H.// Antiradical/antioxidant activity of folic acid. A DFT study. *14th Winter Symposium on Chemometrics: Modern Methods of Data Analysis*. Tsaghkadzor, Armenia, 26 February-1 March, 2024.

INVESTIGATION OF ANTIPEROXYRADICAL ABILITY OF FOLIC ACID AND ITS DERIVATIVES

RESUME

Relevance of the study: The term "folate" is the general name for vitamin B9, which includes folic acid (FA) and its derivatives: dihydro-, tetrahydro-, methyltetrahydro-, and formyltetrahydrofolic acid (DHF, THF, 5-MTHF, 5-FTHF).

In living organisms, folates exhibit biological, chemical, and pharmacological activity. They participate in the biochemical processes of nucleic acid and protein biosynthesis and DNA repair. FA is an effective chelating agent responsible for chelating transition states of metal ions. In the body, FA can inhibit the free-radical chain reaction of lipid peroxidation. FA is a pharmacological agent for living organisms. Folate supplements can prevent pathological conditions caused by oxidative stress, acting as a protective measure against the development of cancer, cardiovascular diseases, neuropsychiatric diseases, and anemia. Their intake during pregnancy can prevent the risk of congenital spinal and brain defects in the fetus. The therapeutic properties of folates in the prevention and treatment of pathologies caused by oxidative stress may be related to their antiradical and antioxidant properties.

FA, as an antioxidant vitamin, has been well studied in the scientific literature, but there are very few studies on structural derivatives of folates, which may be more effective antioxidants than FA itself. Computational studies of folates are particularly important. Theoretical studies of the thermodynamics of the antioxidant effect of FA exist in the scientific literature, but a comprehensive theoretical study of folates, their radicals, and major anions is still needed. According to the literature, the antiradical/antioxidant activity of folates is associated with the hydroxyl, OH, group of the pyrimidine ring in their molecules. Information on other antiradical groups is very limited. Other possible antiradical sites may include the NH₂ group of the pyrimidine ring, the NH group of the *para*-aminobenzoic acid residue, and, in reduced forms, the NH group of the pyrazine ring. Therefore, it is necessary to examine and determine the possible role of other structural groups of folates in their antiradical properties.

Objective of the work: To determine the antiradical/antioxidant properties of folates, the reactive centers responsible for their antiradical activity, and to identify the relationships between the structure of folates and the quantitative characteristics of their antiradical/antioxidant and redox activity.

Scientific novelty: Using experimental and theoretical/computational methods at the molecular level, it was demonstrated that folates exhibit antiradical/antioxidant properties in polar, nonpolar, and micellar systems. Comparative reactivity series of folates and their reactive centers were constructed, and the influence of solvent polarity on these series was identified. For the first time, the modes of folate binding to DNA and the quantitative characteristics of this binding were investigated and determined. The antioxidant properties of folates in inhibiting oxidative DNA damage induced by peroxy radicals were assessed. It was shown that folates display bioantioxidant activity both in the bound and free states.

Practical significance: The quantitative assessment of the antiradical/antioxidant activity of folates, the identification of active reactive centers, and the determination of quantitative characteristics provide essential information for improving pharmacological forms of folates, enhancing the body's resistance through their use, and increasing the effectiveness of therapeutic, preventive, and treatment strategies.

ИЗУЧЕНИЕ АНТИПЕРОКСИРАДИКАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ ПРОИЗВОДНЫХ

РЕЗЮМЕ

Актуальность работы: Термин «фолат» — это общее название витамина В9, который включает фолиевую кислоту (FA) и ее производные: дигидро-, тетрагидро-, метилтетрагидро- и формилтетрагидро- фолиевую кислоту (DHF, THF, 5-MTHF, 5-FTHF).

В живых организмах фолаты проявляют биологическую, химическую и фармакологическую активность. Они участвуют в биохимических процессах биосинтеза нуклеиновых кислот, белков и в репарации ДНК. FA является хелатирующим агентом, ответственным за хелатирование переходных состояний ионов металлов. В организме FA может ингибировать цепную реакцию свободно-радикального перекисного окисления липидов. FA является фармакологическим агентом для живых организмов. Добавки FA могут предотвращать патологическое состояние организма, вызванное окислительным стрессом, выступая в качестве защитной меры против развития рака, сердечно-сосудистых, нейropsychиатрических заболеваний и анемии. Их прием во время беременности может предотвратить риск развития врожденных пороков позвоночника и головного мозга у плода. Терапевтические свойства фолатов в профилактике и лечении патологий, вызванных окислительным стрессом, могут быть связаны с их антирадикальной и антиоксидантной способностью.

FA как витамин-антиоксидант хорошо изучена в научной литературе, однако существует очень мало исследований структурных производных фолатов, которые могут быть более эффективными антиоксидантами, чем сам FA. Особое значение имеют вычислительные исследования фолатов. В научной литературе существуют теоретические исследования термодинамики антиоксидантного эффекта FA, однако все еще необходимо провести всестороннее теоретическое исследование фолатов, их радикалов и основных анионов. Согласно литературным данным, антирадикальная/антиоксидантная активность фолатов связана с гидроксильной группой OH пиримидинового кольца в их молекулах. Информация о других антирадикальных группах весьма ограничена. Возможными антирадикальными центрами могут быть также NH₂ группа пиримидинового кольца, NH группа остатка *para*-аминобензойной кислоты, а в восстановленных формах также NH группы пиазинового кольца. Поэтому, необходимо рассмотреть и определить возможную роль других структурных групп фолатов в проявлении их антирадикальных свойств.

Цель работы: *in vitro* определить антирадикальные/антиоксидантные свойства фолатов, реакционные центры, ответственные за их антирадикальную активность, а также выявить взаимосвязи между структурой фолатов и количественными характеристиками антирадикальной/антиоксидантной и окислительно-восстановительной активности.

Научная новизна работы: Экспериментальными и теоретически/вычислительными методами, на молекулярном уровне показано, что фолаты проявляют антирадикальные/антиоксидантные свойства в полярных, неполярных и мицеллярных системах. Построены сравнительные ряды реакционной способности фолатов, а также их реакционных центров. Выявлено влияние полярности растворителя на эти ряды. Впервые исследованы и выявлены способы связывания фолатов с ДНК и количественные характеристики связывания. Оценены антиоксидантные свойства фолатов для ингибирования процесса окислительного повреждения ДНК, вызванного пероксильными радикалами. Показано, что фолаты проявляют биоантиоксидантную активность как в связанном, так и в свободном состояниях.

Практическая значимость работы: Количественная оценка антирадикальной/антиоксидантной активности фолатов, идентификация активных реакционных центров и определение количественных характеристик являются важной информацией для улучшения фармакологических форм фолатов, повышения сопротивляемости организма с их помощью и повышения эффективности терапевтических, профилактических и лечебных мероприятий.