



## بررسی ساختار آلبومین سرم گاوی در حضور برخی از ترکیبات هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای

عنایت‌اله بهمن جهرمی، فرشید کفیل‌زاده\* و سحر جانفشان

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه زیست‌شناسی، جهرم، ایران

[kafilzadeh@jia.ac.ir](mailto:kafilzadeh@jia.ac.ir)

### چکیده

آلبومین یک پروتئین محلول در آب است که وجود آن برای حیات بسیاری از ارگانیسم‌های زنده ضروری می‌باشد. این پروتئین نقش‌های مهمی نظیر حفظ فشار اسمزی لازم برای انتشار مایعات بدن بین رگ‌ها و بافت‌ها، حامل پلاسمایی که به طور غیر ویژه به برخی از هورمون‌های استروئیدی متصل می‌شود و همچنین یک پروتئین حامل برای اسیدهای چرب و هم می‌باشد. با توجه به اهمیت نقش آلبومین در بدن، حفظ ساختار طبیعی این پروتئین تحت شرایط مختلف حائز اهمیت است. یکی از مهمترین و گسترده‌ترین آلوده‌کننده‌های محیط زیست هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای هستند که از نظر آسیب‌هایی که به موجودات زنده و محیط زیست وارد می‌کنند مورد توجه هستند. با توجه به این موضوع در این پروژه تأثیر برخی از ترکیبات هیدروکربن آروماتیک چند حلقه‌ای مانند: کریزن، پیرن و فنانترون بر روی ساختار پروتئین آلبومین سرم گاو بررسی شده است. ابتدا طیف جذبی آلبومین سرم گاوی در حضور و عدم حضور این ترکیبات گرفته و بررسی شد. سپس برای بررسی دقیق‌تر منحنی اشباع آلبومین در حضور این سه

ترکیب رسم و آنالیز شد. در تکمیل این نتایج بررسی اثر pH بر روی میزان جذب آلبومین در حضور ترکیبات کریزن، پیرن و فنانترون نیز انجام شد و تغییرات ساختار دوم آلبومین در حضور این ترکیبات با استفاده از تکنیک CD بررسی شد. در مجموع می‌توان به این نتیجه رسید که ترکیبات پلی‌آروماتیک حلقوی ذکر شده به ویژه ترکیب کریزن در تغییر ساختار آلبومین مؤثر هستند.

**کلمات کلیدی:** آلبومین، پلی‌آروماتیک چندحلقه‌ای، کریزن، پیرن، فنانترون

### مقدمه

آلبومین یک پروتئین محلول در آب است که وجود آن برای سلامتی بسیاری از ارگانیسم‌های زنده ضروری می‌باشد. انواع مختلف این پروتئین در طبیعت شناخته شده است. بسیاری از گیاهان و جانوران دارای آلبومین هستند و یا آن را ترشح می‌کنند. دو نوع شناخته شده آن عبارتند از: آلبومین سفیده تخم مرغ و آلبومین خون انسان. آلبومین سرم از جمله پروتئین‌هایی است که مطالعات گسترده‌ای در مورد آن انجام شده است و فراوان‌ترین پروتئین موجود در پلاسمای خون با غلظت ۵ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر می‌باشد. در پستانداران ابتدا آلبومین به



دهیدراسیون نشانه دیگری به همراه افزایش غلظت آلومین در پلاسما وجود ندارد. افزایش آلومین در پلاسما منجر به افزایش مصنوعی سایر آنالیت ها نظیر هموگلوبین، لیپیدها و کلسیم می شود. کاهش سطح آلومین منجر به کاهش فشار آنکوتیک و به دنبال آن ورود مایع خونی به بافت و یا منافذ بدن شده که به ترتیب منجر به ایجاد ادم و آسیت می گردد. علاوه بر این وجود ادم منجر به تاخیر ورود مواد غذایی به بدن می گردد [۷-۱]. با توجه به اهمیت نقش آلومین در بدن حفظ ساختار طبیعی این پروتئین تحت شرایط مختلف زیستی حائز اهمیت است. همان طور که در مقدمه ذکر شد آلومین توانایی اتصال به انواع مولکول های کوچک و حتی توکسین ها را نیز دارا است. یکی از مهمترین و گسترده ترین آلوده کننده های محیط زیست، هیدروکربن های آروماتیک چندحلقه ای (PAHs) هستند که از نظر آسیب های مختلفی که به انسان و محیط زیست وارد می کنند حائز اهمیت می باشند. این ترکیبات به دو روش تولید می شوند: ۱- روش طبیعی: مانند آتش سوزی جنگل ها و فعالیت آتشفشان ها؛ ۲- از طریق تماس بشر با طبیعت: مانند سوختن ناقص سوخت های فسیلی نظیر بنزین، ورود فاضلاب های صنعتی و خانگی به اکوسیستم های آبی، استخراج مواد نفتی، فرایندهای صنعتی نظیر صنایع پتروشیمی، داروسازی و تصادم کشتی ها با یکدیگر بویژه کشتی های نفت کش. به این ترتیب تولید این ترکیبات با هر کدام از روش های ذکر شده منجر به آلودگی هوا، اکوسیستم های آبی و مواد غذایی بویژه

صورت پرو آلومین در کبد سنتز می شود. پس از حذف پپتید نشانه، پروآلومین حاصله تحت پردازش های بیشتری قرار گرفته و شش اسید آمینه از ابتدای  $N$  ترمینال آن برداشته می شود آلومینی که به این ترتیب وارد سیستم گردش خون می شود نیمه عمری در حدود ۱۹ روز دارد و چهار درصد آلومین بدن روزانه تخریب و تجدید می شود. مولکول آلومین سرم گاوی دارای سه دومین همولوگ (I, II, III می باشد که این دومین ها از نه لوپ -L1) (L9) تشکیل شده اند و به وسیله ۱۷ باند دی سولفیدی به یکدیگر متصل می شوند. در هر دومین لوپ ها به صورت توالی بزرگ - کوچک - بزرگ (Large-small-Large) تشکیل یک ترکیب سه تایی (triplet) را می دهند. هر دومین محصول دو زیر دومین (A,B) می باشد هر دومین از ده قطعه هلیکس تشکیل شده است. قطعات یک تا شش مربوط به زیر دومین A و قطعات هفت تا ده مربوط به زیر دومین B می باشد. نقش های فیزیولوژیکی آلومین عبارتند از: حفظ فشار آنکوتیک پلاسما در سیستم عروقی، حفظ حالت مایع پلاسما و جریان یافتن آن در بدن با حفظ آب در سیستم جریان خون، انتقال اسیدهای چرب ضروری از بافت چربی به ماهیچه ها و نقل و انتقال مولکول های کوچک مانند کلسیم، بیلی روبین متصل نشده، هورمون ها نظیر کورتیزول و تیروکسین، داروهای موجود در سرم خون مانند وارفارین، فنیل بوتازون و کلوفنیرات و توکسین ها. غلظت بالای آلومین در پلاسما به علت از دست رفتن آب بدن می باشد و به جز



پروتئین آلبومین گاو که یکی از مهمترین پروتئین‌های پستانداران است می‌باشد.

### مواد و روش کار

**۱- مطالعه طیف جذبی آلبومین در حضور و عدم حضور کریزن، پیرن و فنانترن:** این مطالعات با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر ماوراء بنفش - مرئی مدل CECIL 9000 و در دمای  $27^{\circ}\text{C}$  انجام شده است. در ابتدا از محلول آلبومین با غلظت  $500\ \mu\text{M}$  در بافر فسفات  $10\ \text{mM}$  و  $\text{pH}=7.2$  یک طیف جذبی با دستگاه گرفته شد. سپس محلول آلبومین در حضور غلظت‌های  $0.1\ \text{M}$  از پیرن، فنانترن و کریزن هر کدام به طور جداگانه و به مدت ۳ دقیقه آنکوبه شد [۹]. پس از آن طیف جذبی آلبومین در حضور هر کدام از ترکیبات کریزن، پیرن و فنانترن گرفته شد.

**۲- مطالعه تاثیر لیگاند کریزن، پیرن و فنانترن بر ساختار آلبومین:**

این بررسی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری ماوراء بنفش - مرئی مدل CECIL 9000، در طول موج  $280\ \text{nm}$  و در بافر فسفات  $10\ \text{mM}$  و  $\text{pH}:7.2$  انجام شده است [۲]. غلظت اولیه آلبومین (بدون تیتراسیون با ترکیبات PAH)  $25\ \mu\text{M}$  و غلظت استوک ترکیبات PAH  $600$  میلی مولار در نظر گرفته شد. ابتدا حجم یکسانی از بافر در هر دو محفظه شاهد و نمونه ریخته شد. سپس اختلاف جذب آنها در طول موج  $280\ \text{nm}$  صفرگردید. به

مواد غذایی دریایی می‌شود. از طریق استنشام هوای آلوده، مصرف آب و غذای آلوده به این ترکیبات، انسان‌ها و سایر موجودات زنده بطور مستقیم در معرض این ترکیبات سمی (توکسین‌ها) قرار می‌گیرند. از مهمترین هیدروکربن‌های آروماتیک حلقوی می‌توان به نفتالن، آنتراسن، فنانترن، کریزن، فلورانتن، پیرن و مشتقات این ترکیبات اشاره کرد. هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای به علت ویژگی هیدروفوبی که دارند در اکوسیستم‌های آبی به سرعت جذب ذرات رسوب شده و به همراه رسوبات ته نشین می‌شوند. از طرفی این ترکیبات به علت خاصیت لیپوفیلی (هیدروفوبی) از طریق غشا پلاسمایی جذب سلول‌های زنده موجودات آبی شده و در بافت‌های آنها تجمع پیدا می‌کنند. به این ترتیب حضور ترکیبات PAHs در اکوسیستم‌های آبی منجر به آلودگی و سمی شدن موجودات آن اکوسیستم شده و به دنبال مصرف مواد غذایی دریایی مسموم توسط انسان و سایر موجودات این ترکیبات سمی به آنها نیز منتقل می‌شود. به احتمال قوی اثر سمی این ترکیبات به علت تداخل در عملکرد غشا پلاسمایی و همچنین تجمع با سیستم‌های آنزیمی است. همچنین احتمال اتصال این ترکیبات به انواع پروتئین‌ها و مولکول‌های DNA منجر به تغییر ساختاری در این بیومولکول‌ها شده و در نهایت سلول‌های جانوری آسیب می‌بینند [۲۰-۱۸]. با توجه به مقدمه ذکر شده در این پروژه، هدف ما بررسی تأثیر برخی از ترکیبات هیدروکربن آروماتیک (کریزن، پیرن و فنانترن) بر روی ساختار



محفظه نمونه آلومین و به محفظه شاهد هم حجم آلومین بافر اضافه و جذب آلومین در ۲۸۰ nm خوانده شد. در مرحله بعد، به هر دو محفظه با غلظت و حجم یکسان کریزن افزوده و پس از ۳ دقیقه آنکوباسیون در دمای محیط جذب در طول موج ۲۸۰ nm ثبت گردید. به این ترتیب تیتراسیون مرحله به مرحله انجام گرفت و در هر مرحله بعد از ۳ دقیقه آنکوباسیون جذب مربوط به هر نقطه تیتراسیون خوانده شد. هم زمان نمودار غلظت کریزن علیه جذب در طول موج ۲۸۰ nm رسم شد و تا به اشباع رسیدن منحنی، تیتراسیون ادامه داده شد. این آزمایشات یکبار برای پیرن و یکبار هم برای فنانترن به همان ترتیب انجام شد. در اینجا غلظت لیگاند (ترکیبات PAH) و غلظت آلومین در هر نقطه از تیتراسیون با استفاده از روابط زیر قابل محاسبه می باشد: در فرمول زیر E نماد آنزیم یا هر پروتئین دیگر می باشد و L نماد لیگاند است که در این آزمایشات نشان دهنده ترکیبات PAH است.

**۳- بررسی اثر pH بر روی میزان جذب آلومین در حضور ترکیبات کریزن، پیرن و فنانترن:** این بررسی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری ماوراء بنفش - مرئی مدل CECIL 9000، در طول موج

$$[E] = \frac{V_0}{(V + V_0)} \times [E_0]$$

$$[L] = \frac{V}{(V + V_0)} \times [Lst]$$

۲۸۰ nm و در بافر فسفات ۱۰ mM و محدوده ۵-۸.۵ pH انجام شده است. آلومین در ۳ غلظت

مشخص  
۱۱۰ mM و ۳۰،۷۰ از ترکیبات کریزن، پیرن و فنانترن به مدت ۳ دقیقه در هر کدام از pH های ۸.۵ و ۷.۵-۷-۶.۵-۶-۵.۵ آنکوبه شده است. سپس جذب آن در ۲۸۰ nm اندازه گیری و بررسی شد.

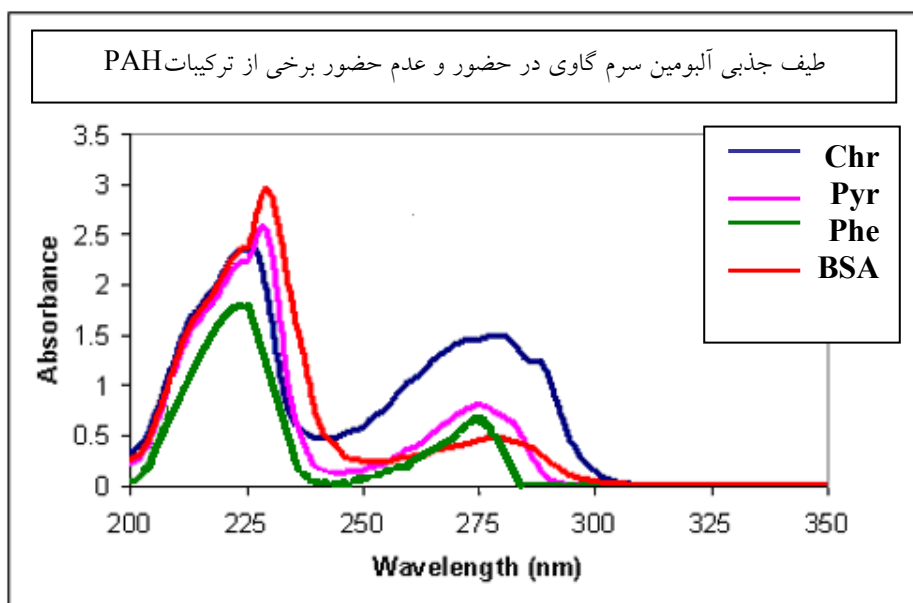
**۴- بررسی ساختار دوم آلومین سرم گاوی در حضور ترکیبات آروماتیک حلقوی از قبیل کریزن، پیرن و فنانترن با استفاده از تکنیک دورنگ نمایی دورانی (CD):** طیف های CD در ناحیه ماوراء بنفش دور (Far-UV CD spectra) با استفاده از دستگاه طیف نور سنج Jasco J-7.5 در غلظت ۲۵ میکرومول پروتئین و در عدم حضور ترکیبات PAH و سپس در حضور غلظت ۰/۱ M کریزن، پیرن و فنانترن پس از ۵ دقیقه آنکوباسیون در دمای ۲۷°C ثبت شد و نتایج حاصله براساس واحد بیضی واری مولی (molar ellipticity) یا ( $\text{deg cm}^2 \text{dmol}^{-1}$ ) گزارش شده است. در این رابطه از معادله  $[\theta]_l = (\theta_{obs} \times 100MRW) / C.L$  استفاده شد که در آن C نشان دهنده غلظت پروتئین برحسب  $\frac{mg}{ml}$ ، L نمایانگر طول مسیر عبوری نور برحسب cm، MRW متوسط وزن مولکولی یک اسید آمینه و  $\theta$  مقدار اندازه گیری شده از بیضی واری برحسب درجه در یک طول موج خاص می باشد. دستگاه توسط ماده (+) -۱ کافوراسیدسولفونیک و با توجه به مقدار گزارش شده  $[\theta]_{291} = 7820 \text{ deg cm}^2 \text{dmol}^{-1}$  کالیبره شده است. حذف اغتشاشات موجود در منحنی های ثبت

در محدوده  $280\text{nm}$  مربوط به حلقه های آروماتیک اسیدهای آمینه تریپتوفان، تیروزین و فنیل آلانین است. بررسی طیف جذبی آلبومین در حضور ترکیبات کریزن، پیرن و فنانترون و مقایسه آنها با طیف جذبی آلبومین در عدم حضور این ترکیبات نشان می‌دهد که این ترکیبات توانسته اند باعث افزایش جذب آلبومین سرم گاوی در  $280\text{nm}$  شوند. در این فرایند بیشترین افزایش جذب مربوط به کریزن و سپس پیرن و پس از آن فنانترون بوده است. برعکس در طول موج  $230\text{nm}$  این ترکیبات باعث کاهش جذب می‌شوند (شکل ۱).

شده نیز با استفاده از نرم‌افزار Aviv بدون تغییر در شکل اصلی منحنی‌ها صورت گرفته است و برای آنالیز طیف‌ها جهت تعیین میزان ساختارهای دوم از نرم افزار CDNN استفاده شده است [۱۰].

## نتایج

۱- بررسی طیف جذبی آلبومین سرم گاوی در حضور و عدم حضور برخی از ترکیبات پلی-آروماتیک حلقوی: در این روش برای شناسایی پروتئین‌ها از دو طول موج در محدوده  $280\text{nm}$  و  $230\text{nm}$  استفاده می‌شود. طول موج در محدوده  $230\text{nm}$  مربوط به گروههای پپتیدی و طول موج



شکل ۱- طیف جذبی آلبومین سرم گاوی در حضور و عدم حضور برخی از ترکیبات پلی آروماتیک حلقوی

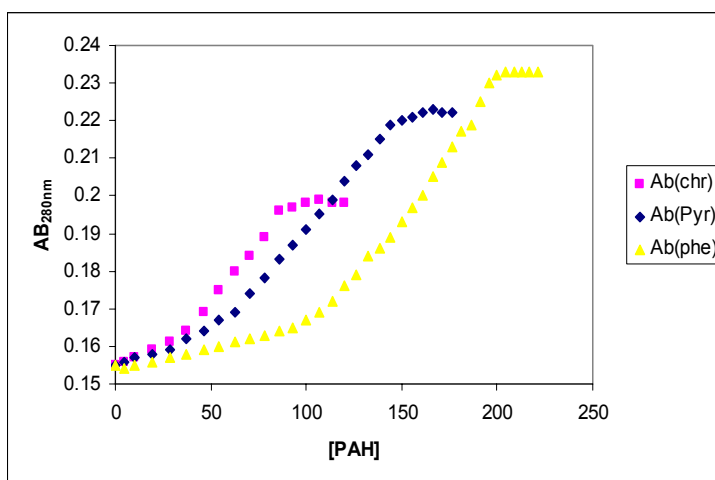
پیرن و فنانترون به آلبومین همان طور که در شکل (۲) نشان داده شده است، تیتراسیون پی در پی این

۲- مطالعه تاثیر لیگاند کریزن، پیرن و فنانترون بر ساختار آلبومین: در بررسی اتصال لیگاند کریزن،



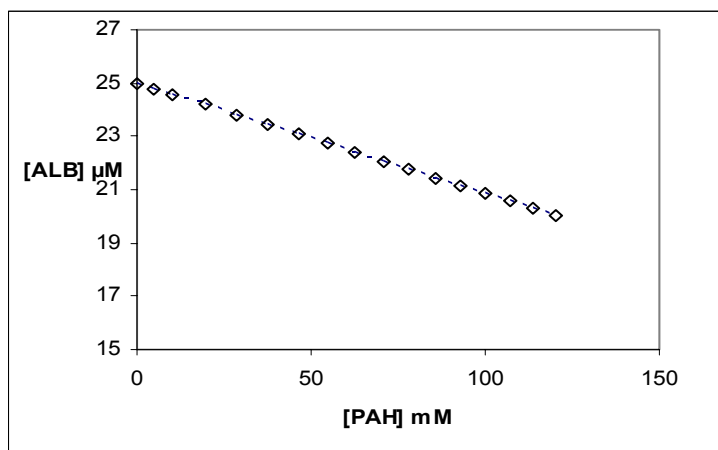
تیتراسیون لیگاند منجر به افزایش منظم غلظت آن و از طرفی کاهش منظم غلظت آلبومین در محیط واکنش می شود مقایسه منحنی تیتراسیون آلبومین در حضور کریزن، پیرن و فنانترن نشان می دهد که منحنی اشباع آلبومین در حضور کریزن در غلظت کمتری از لیگاند نسبت به دو ترکیب دیگر به مرحله اشباع می رسد (شکل ۲).

ترکیبات در محلول حاوی پروتئین با غلظت  $\mu\text{M}$  ۲۵، منجر به افزایش جذب کمپلکس آلبومین و لیگاند در طول موج  $280\text{ nm}$  می شود. این افزایش جذب تا به اشباع رسیدن کامل آلبومین از کریزن، پیرن و فنانترن ادامه می یابد. در ناحیه اشباع آلبومین، افزایش میزان لیگاند تغییر محسوسی در میزان جذب کمپلکس آلبومین و لیگاند ایجاد نمی کند.



شکل ۲- مقایسه منحنی اشباع کریزن، پیرن و فنانترن

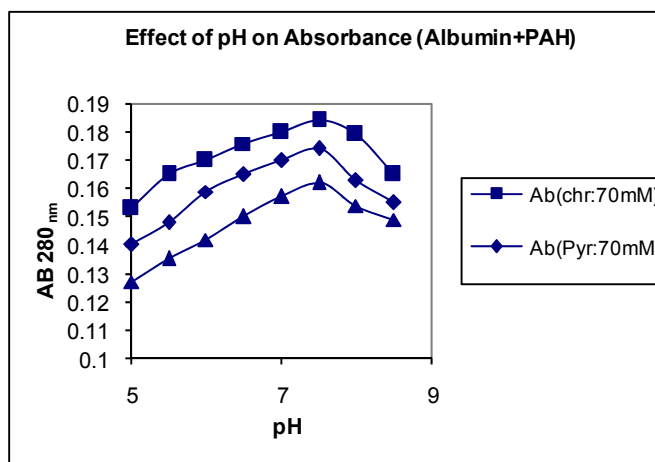
افزایش غلظت کریزن، پیرن و فنانترن در هر مرحله از تیتراسیون وجود دارد که باعث افزایش حجم محتویات سل شده و چون تغییری در میزان آلبومین در سل کوارتز ایجاد نمی شود افزایش حجم در هر مرحله از تیتراسیون منجر به کاهش غلظت آلبومین در هر مرحله می گردد (شکل ۳).



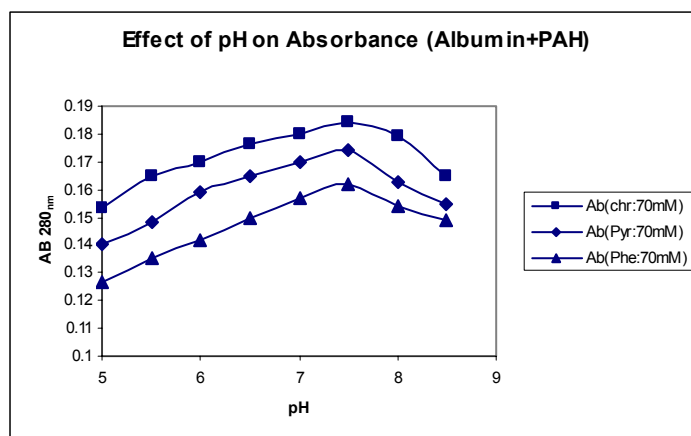
شکل ۳- نشان دهنده کاهش غلظت آلبومین [ALB] به دنبال افزایش غلظت لیگاند [PAH] در طی روند تیتراسیون

دهد که بیشترین میزان جذب و به عبارتی بیشترین تغییر ساختاری آلبومین در حضور این ترکیبات در  $pH=7/2-7/5$  می‌باشد (شکل ۴).

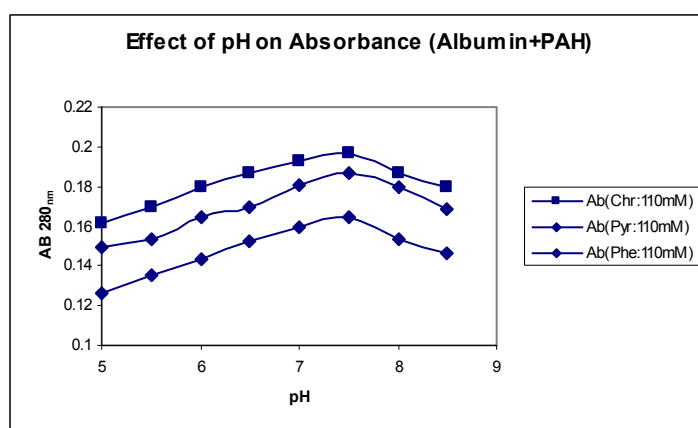
۳- بررسی اثر  $pH$  بر روی میزان جذب آلبومین در حضور ترکیبات کریزن، پیرن و فنانترون: بررسی میزان جذب آلبومین در طول موج  $280\text{ nm}$  و در حضور  $3\text{ }\mu\text{M}$  غلظت  $110$ ،  $30$ ،  $70$  میلی‌مولار از کریزن، پیرن و فنانترون در محدوده  $pH: 5-8/5$  نشان می‌-



شکل ۴- مقایسه جذب آلبومین در حضور کریزن، پیرن و فنانترون در غلظت  $30\text{ mM}$  و در محدوده  $pH= 5-8/5$ .



شکل ۵- مقایسه جذب آلبومین در حضور کریزن، پیرن و فنانترن در غلظت ۷۰ mM و در محدوده ۵-۸/۵ pH.



شکل ۶- مقایسه جذب آلبومین در حضور کریزن، پیرن و فنانترن در غلظت ۱۱۰ mM و در محدوده ۵-۸/۵ pH.

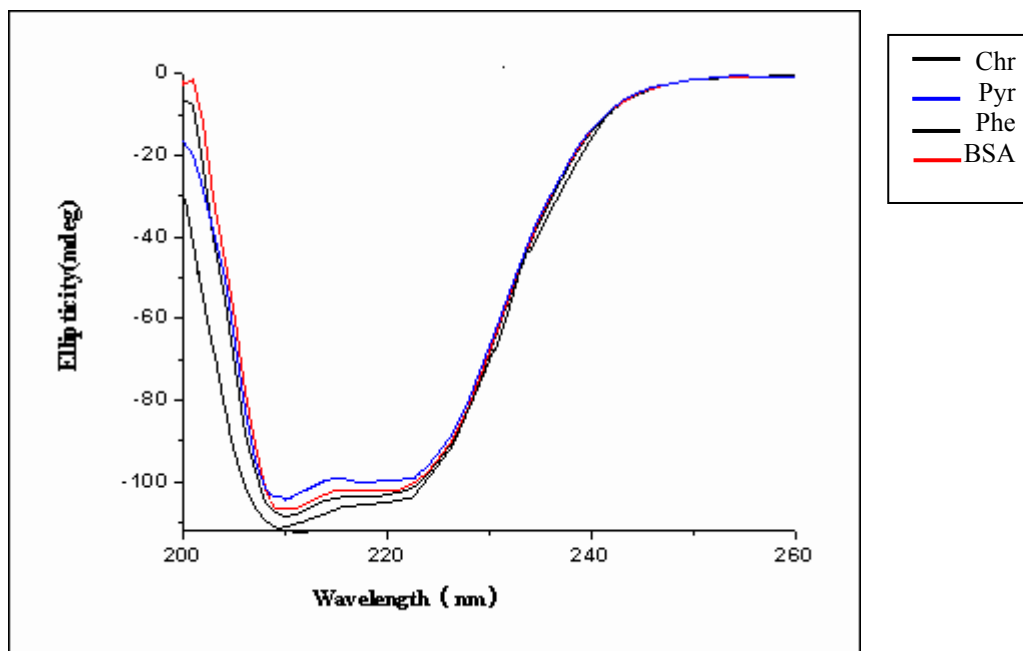
۷- بررسی ساختار آلبومین سرم گاوی در حضور ترکیبات آروماتیک حلقوی از قبیل کریزن، پیرن و فنانترن با استفاده از تکنیک دورنگ نمایی دورانی (CD): در غلظت یکسانی از ۳ ترکیب کریزن، پیرن و فنانترن طیف CD آلبومین در ناحیه Far-UV بررسی شد و همان طور که در شکل ۷ مشخص است ترکیبات ذکر شده ساختار دوم پروتئین آلبومین سرم گاوی را با درصدی متفاوتی تغییر می دهند. جدول ۱ درصد این تغییرات را نشان می دهد.

۴- بررسی ساختار دوم آلبومین سرم گاوی در حضور ترکیبات آروماتیک حلقوی از قبیل کریزن، پیرن و فنانترن با استفاده از تکنیک دورنگ نمایی دورانی (CD): در غلظت یکسانی از ۳ ترکیب کریزن، پیرن و فنانترن طیف CD آلبومین در ناحیه



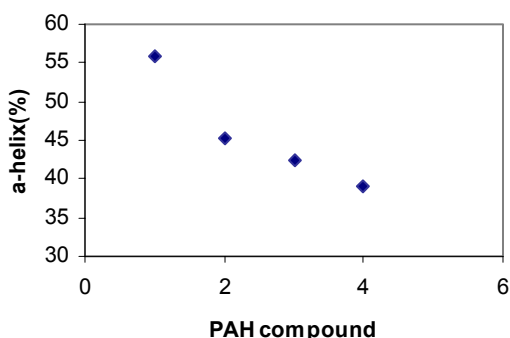
جدول ۱- درصد تغییرات ساختار دوم پروتئین آلبومین سرم گاوی در حضور کریزن، پیرن و فنانترن

PAH Kind	a-Helix(%)	b-Sheet(%)	b-Turn(%)
Albumin	55.78	35.81	8.41
Alb +Phenanthrene	45.15	36.75	18.01
Alb +Pyrene	42.40	38.03	19.57
Alb +Chrysene	39.12	40.07	21.37

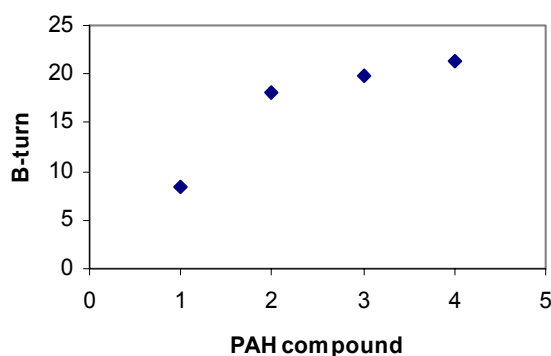
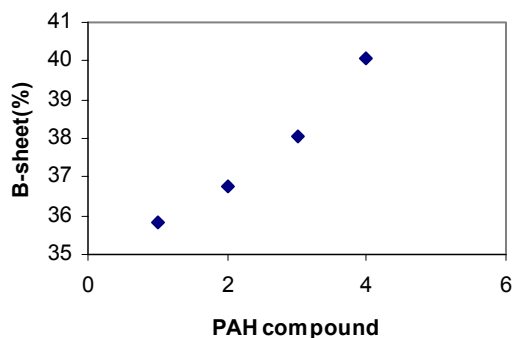


شکل ۷- طیف دورنگ نمایی دورانی (CD) پروتئین آلبومین سرم گاوی در حضور و عدم حضور ترکیبات کریزن، پیرن و فنانترن

turn در بین ترکیبات ذکر شده توسط کریزن ایجاد می شود (شکل ۸).



پس از به دست آوردن pH بهینه برای بررسی های ساختاری، ساختار دوم آلبومین در حضور این ترکیبات مورد بررسی قرار گرفت. همان طور که در شکل ۷ مشخص است در غلظت یکسان از هر سه ماده کریزن، پیرن و فنانترن ساختار دوم آلبومین درصدی تغییر می کند. کریزن ترکیبی است که بیشترین تغییرات را در ساختار این پروتئین ایجاد می کند به طوری که بیشترین کاهش در درصد a-helix و بیشترین افزایش در درصد B-sheet و B-helix



شکل ۸- بررسی تغییرات ساختار دوم آلومین سرم گاوی در عدم حضور PAH (۱)، در حضور فنانترن (۲)، پیرن (۳) و کریزن (۴).

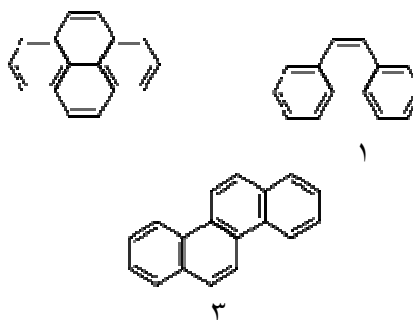
های بیشتری دارد. در مرحله بعد برای بررسی های بیشتر منحنی اشباع آلومین در حضور ترکیبات کریزن، پیرن و فنانترن رسم گردید. برای رسم منحنی اشباع در هر مرحله حجم مشخصی از لیگاند به پروتئین افزوده شده و سپس ۳ دقیقه زمان آنکوباسیون در نظر گرفته می شود تا لیگاند فرصت کافی برای اتصال به نواحی مختلف پروتئین را داشته باشد. در اینجا با توجه به منحنی های به دست آمده از تیتراسیون هر لیگاند و مقایسه آنها با یکدیگر به این نتیجه می رسیم که هر سه ترکیب کریزن، پیرن و فنانترن توانسته اند به آلومین اتصال یافته و تغییرات ساختاری در آن ایجاد کنند زیرا همان طور که در منحنی های اشباع آنها مشخص است افزایش غلظت لیگاند باعث افزایش جذب آلومین در طول موج ۲۸۰ nm شده است. با توجه به شکل سیگموئیدی منحنی های اشباع آلومین در حضور ترکیبات PAH می توان به این نتیجه رسید که اتصال این ترکیبات به آلومین از یک الگوی اثر تعاونی مثبت پیروی می کند

## بحث

در این پروژه تغییرات ساختاری آلومین سرم گاوی در حضور برخی از ترکیبات پلی آروماتیک حلقوی از قبیل کریزن، پیرن و فنانترن مورد بررسی قرار گرفت. در ابتدا طیف جذبی آلومین در حضور ترکیبات مورد نظر با غلظت یکسان گرفته شد و سپس با طیف جذبی آلومین در عدم حضور این ترکیبات مقایسه گردید (شکل ۱). با توجه به طیف های بدست آمده می توان گفت که ترکیبات پلی آروماتیک حلقوی در غلظت مورد استفاده منجر به باز شدن ساختار سه بعدی آلومین و تخریب هسته هیدروفوب این پروتئین شده اند که به دنبال آن اسید آمینه های آروماتیک بیشتر در معرض طول موج ۲۸۰ nm قرار گرفته و همان طور که در شکل دیده می شود این پدیده منجر به افزایش جذب در این طول موج و پدیده هیپرکرومیسم می شود. در بین ترکیبات ذکر شده کریزن بیشترین افزایش جذب در طول موج ۲۸۰ nm را ایجاد کرده است که نیاز به بررسی

در حضور ۳ غلظت ۳۰، ۷۰ و ۱۱۰ میلی‌مولار از این ترکیبات در محدوده  $\text{pH} = 5-8.5$  بررسی شد همان طور که در شکل های ۶-۴ مشخص است بیشترین میزان جذب و به عبارتی بیشترین تغییر ساختاری آلبومین در حضور کریزن، پیرن و فنانترون در هر ۳ غلظت در  $\text{pH} = 7.5-7.2$  می باشد. از طرفی در بین این ۳ ترکیب کریزن بیشترین تغییر ساختاری را در  $\text{pH} = 7.5-7.2$  بر روی آلبومین ایجاد می‌کند. با توجه به نتایج بدست آمده از دورنگ نمایی دورانی و طیف‌های بدست آمده از طیف سنجی اسپکتروفتومتری می‌توان به این نتیجه رسید که ترکیبات پلی‌آروماتیک حلقوی ذکر شده به ویژه ترکیب کریزن در تغییر ساختار آلبومین مؤثر هستند. همان طور که در نمودارها مشخص است در غلظت یکسان از هر سه ماده کریزن، پیرن و فنانترون ساختار دوم آلبومین درصدی تغییر می‌کند. کریزن ترکیبی است که بیشترین تغییرات را در ساختار این پروتئین ایجاد می‌کند به طوری که بیشترین کاهش در درصد  $\alpha$ -helix و بیشترین افزایش در درصد B-sheet و B-turn در بین ترکیبات ذکر شده توسط کریزن ایجاد می‌شود. با توجه به نتایج بدست آمده از دورنگ نمایی دورانی و طیف‌های بدست آمده از طیف سنجی اسپکتروفتومتری می‌توان به این نتیجه رسید که ترکیبات پلی‌آروماتیک حلقوی ذکر شده به ویژه ترکیب کریزن در به هم ریختگی ساختار دوم آلبومین مؤثر هستند.

(شکل ۲). همان طور که در شکل قبل مشخص است منحنی تیتراسیون آلبومین در حضور کریزن سریع‌تر از منحنی تیتراسیون آلبومین در حضور پیرن و فنانترون به مرحله اشباع می‌رسد. این مطلب می‌تواند ناشی از تفاوت ساختاری کریزن با دو ترکیب دیگر باشد. پیرن و فنانترون از نظر ساختاری شباهت زیادی با یکدیگر دارند ولی سطح تماس پیرن با محیط اطراف از فنانترون بیشتر است (شکل ۹). کریزن به دلیل تفاوت ساختاری و سطح تماس بیشتری که نسبت به دو ترکیب دیگر، با محیط اطراف دارد توانایی اتصال بیشتری به آلبومین دارد. می‌توان گفت این موضوع دلیل مناسبی برای زودتر به اشباع رسیدن منحنی تیتراسیون آلبومین در حضور کریزن باشد.



شکل ۹- ساختار فنانترون (۱)، پیرن (۲)، کریزن (۳)

پس از حصول اطمینان از این که ترکیبات کریزن، پیرن و فنانترون قادر به ایجاد تغییرات ساختاری در آلبومین هستند نوبت به بدست آوردن  $\text{pH}$  بهینه برای بررسی این تغییرات ساختاری است. برای این منظور میزان جذب آلبومین در طول موج  $280 \text{ nm}$  و



yl) sulfonyl urea to bovine serum albumin. *J Photochem Photobiol B*. 2008 (2): 98-102.

9- Zhang YZ, Zhou B, Zhang XP, Huang P, Li CH, Liu Y. (2008), Interaction of malachite green with bovine serum albumin: Determination of the binding mechanism and binding site by spectroscopic methods. *J Hazard Mater*.

10- Wang N, Ye L, Zhao BQ, Yu JX. (2008), Spectroscopic studies on the interaction of efonidipine with bovine serum albumin. *Braz J Med Biol Res*. 2008 (7): 589-95.

11- Chen KH, Wang YL, Guo M, Zheng XF, Tang Q, Ma JY, Gao DB. (2008), Study on the interaction between vincristine and bovine serum albumin. *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi*. 2008 (6): 1375-8.

12- Li D, Jiang XM, Yan ZY. (2008), Study of interaction between sorbitol and bovine serum albumin by fluorescence spectrometry. *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi*. 2008 (6): 1312-6.

13- Tang ZQ, He GW, Yi PG. (2008), Effect of acidity on the interaction of Ofloxacin and bovine serum albumin. *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi*. 2008 (5): 1107-10.

14- Wu GH, Wang J, Chen JL, Guo C, Wang PS, Wang DX, Wang ZQ. (2008), Bovine serum albumin in the

1- Changxia Sun, Jinghe Yang, Xia Wu, Xirong Huang, Fei Wang and Shufang Liu (2005), Unfolding and refolding of bovine serum albumin induced by cetylpyridinium bromide. *Biophys J.*, 2005 (5): 3518-24.

2- Fasano M, Curry S, Terreno E, Galliano M, Fanali G, Narciso P, Notari S, Ascenzi P. (2005), The extraordinary ligand binding properties of human serum albumin. *IUBMB Life*, 2005 (12): 787-96.

3- <http://www.syddpath.stvincents.com.au>

4- <http://www.wisegeek.com>

5- <http://www.ajwrb.org>

6- Rafatia A.A., Gharibib H. and Iloukhanian H. (2003), Conformational stability of bovine serum albumin by cationic surfactant treatments. *Physics and Chemistry of Liquids*. 2003(12): 509-517.

7- Doweiko JP, Nompleggi DJ. (1991), The role of albumin in human physiology and pathophysiology, Part III: Albumin and disease states. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.*, 1991 (4): 476-483.

8- Liu XH, Xi PX, Chen FJ, Xu ZH, Zeng ZZ. (2008), Spectroscopic studies on binding of 1-phenyl-3-(coumarin-6-



cancer tissue. *Clinical Cancer Research*, 6: 3657-3661.

18-Stahl T, Heudorf U, Moriske HJ, Mersch-Sundermann V. (2004), Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in an indoor environment. Sources, exposure and risk evaluation: *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*. 9: 868-81.

19- Fetzer, J. C. (2000), *The Chemistry and analysis of the large polycyclic aromatic hydrocarbons. Polycyclic Aromatic Compounds*, New York: Wiley, 2000: 27- 143.

20- *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)* (1996), Agency for toxic substances and disease registry. <http://www.atsdr.cdc.gov/tfacts69.html#bookmark02>

presence of zinc (II) by fluorescence method. *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi*. 2008 (4): 913-6.

15- Liang Y, Tse M.F., Young L., Wong M.H. (2007), Distribution patterns of polycyclic aromatic hydrocarbons in (PAHs) in the sediments and fish at Mai Po Marshes Nature Reserve, Hong Kong. *Water Research*, 2007(41):1303-1311.

16- Hylland K. (2006), Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) ecotoxicology in marine ecosystems. *J. Toxicol Environ Health A*, 2006 (1-2): 109-23.

17- Wallace HM., Duthie J., Evans D.M., Lamond S., Nicoll K.M., Heys S.D. (2000), Alteration in polyamine catabolic enzymes in human breast

