

Изучение антирадикальных свойств биологически активных соединений методом флуоресцентных зондов

Юркова И.Л.¹, Шендикова Е.Н.¹, Костюк А.Ю.¹, Буданицкая Л.²

¹Белорусский государственный университет, г. Минск

²Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

E-mail: yurkovail@tut.by

Активные формы кислорода (АФК) ($\text{HO}\cdot$, $\text{O}_2\cdot^-$, H_2O_2 , HClO) играют ключевую роль в развитии многих патологических процессов, а также в сигнальной трансдукции. АФК идентифицируют прямым методом (ЭПР) или косвенно с помощью химических зондов, в том числе флуоресцентных. Метод флуоресцентных зондов базируется на том, что взаимодействие АФК с определенными органическими веществами приводит либо к снижению их собственной флуоресценции, либо к образованию флуоресцирующих продуктов [1].

Целью данной работы было исследование антирадикальных свойств гистидин-содержащих дипептидов (ГСД) (карнозин (Кар), ансерин (Анс), глицил-гистидин (Гли-Гис)) и составляющих их аминокислот с помощью терефталевой кислоты (ТФ). Была оценена способность ГСД акцептировать радикалы $\text{HO}\cdot$, инициирующие в биосистемах свободнорадикальную деструкцию биомолекул. Радикалы $\text{HO}\cdot$ генерировали с помощью редокс-систем $\text{Fe}^{2+}(\text{Cu}^{2+})/\text{H}_2\text{O}_2$. ТФ является специфичным и высокочувствительным детектором частиц $\text{HO}\cdot$ ($< 0,5$ пикоМ). ТФ реагирует с $\text{HO}\cdot$ ($k_v = 4,4 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$) с образованием только одного моно-гидроксилированного изомера, 2-гидрокси-терефталата (2-ГТФ), обладающего стабильной флуоресценцией ($\lambda_{\text{воз}} = 315 \text{ нм}$, $\lambda_{\text{эм}} = 427 \text{ нм}$). Антирадикальные свойства тестируемых веществ оценивали по их способности конкурировать с ТФ за взаимодействие с $\text{HO}\cdot$, что препятствует образованию флуоресцирующего 2-ГТФ. Так, степень уменьшения флуоресценции в присутствии тестируемых соединений в сравнении с контролем (ТФ + компоненты редокс-системы) является мерой оценки их защитных свойств.

Было установлено, что в условиях Cu^{2+} -катализируемого генерирования частиц $\text{HO}\cdot$ наибольший антиоксидантный эффект проявлял Гли-Гис, который снижал интенсивность флуоресценции (ФЛ) в ~ 41 раз, а Кар и Анс только в ~ 4 и 5 раз, соответственно. Действие ГСД сравнивали с влиянием азида натрия, эффективного акцептора $\text{HO}\cdot$, NaN_3 подавлял ФЛ в $6,6$ раз. Свободные аминокислоты по их эффекту располагались в следующий ряд: аланин (усиливал ФЛ в $1,3$ раза), глицин (снижал ФЛ в 7 раз), гистидин (снижал ФЛ в 34 раза).

В условиях Fe^{2+} -опосредованного образования $\text{HO}\cdot$ Кар и Гли-Гис снижали ФЛ в ~ 3 раза, Анс – в $\sim 1,9$ раза, NaN_3 – в ~ 9 раз. Глицин и аланин практически не оказывали влияния на ФЛ в данных условиях, а гистидин подавлял ФЛ в $1,8$ раза.

Полученные данные указывают на важную роль остатков гистидина и пептидной связи в механизме антиоксидантного действия ГСД. Сопоставление данных для систем $\text{Fe}^{2+}(\text{Cu}^{2+})/\text{H}_2\text{O}_2$ указывает на то, что антиоксидантное действие ГСД может существенно отличаться в зависимости от способа активации свободнорадикальных процессов.

Так, флуоресцентные зонды могут давать предварительную информацию о анти- или прооксидантных свойствах различных соединений.

1. T. Nagano // J. Clin. Biochem. Nutr. 2009. V. 45. P. 111–124.