

## Литература

1. Musialek P., Lei M., Brown H.F., Paterson D.J., Casadei B. // *Circ.Res.*– 1997.– V.81.– P.60–68.
2. Ковалев И.В., Панов А.А., Капилевич Л.В. и др. // *Актуальные проблемы пульмонологии.*– М.– 2000.– С.722–729.
3. Kojda G., Kottenbarg K., Nix P. et al. // *Circ. Res.*– 1996.– V.78.– P.91–101.
4. Diamond J., Ten Eick R.E., Trapani A.J. // *Bioch. Biophys. Res. Communications.*– 1977.– V.79.– P.912–918.
5. Korth M. // *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology.*– 1975.– V.287.– P.328–347.
6. Pabla R., Curtis M.J. // *Circ. Res.*– 1995.– V.77.– P.984–992.
7. Kowaluk E.A., Seth P., Fung H.-L. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.*– 1992.– V.262.– P.916–922.
8. Sarkar D., Vallance P., Amirmansour C., Harding S.E. // *Cardiovasc. Res.*– 2000.– V.48.– P.430–439.

## ОБРАЗОВАНИЕ ГЛУТАТИОНОВЫХ КОНЬЮГАТОВ ПРИ ОКИСЛЕНИИ ЛАКТОПЕРОКСИДАЗОЙ ПЕНТАГИДРОКСИФЛАВОНОВ В ПРИСУТСТВИИ ГЛУТАТИОНА

**М.В. Антонова, Е.О. Корик, Л.А. Гладкая, И.В. Семак**

*Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь  
semak@bsu.by*

В настоящее время показано, что гликозиды флавоноидов при попадании с пищей в желудочно-кишечный тракт гидролизуются до агликонов бактериальными гликозидазами, присутствующими в пищеварительном тракте. Агликоны флавоноидов затем абсорбируются эпителием кишечника и попадают в кровоток. Большая часть флавоноидов через портальную вену попадает в печень, в которой они подвергаются разнообразным ферментативным и неферментативным превращениям, включая реакции пероксидазного или псевдопероксидазного окисления.

На фоне существенного прогресса в исследовании метаболизма флавоноидов в печени, информация о других потенциальных сайтах их биотрансформации выглядит крайне скудной. Вместе с тем флавоноиды, являющиеся естественными компонентами пищи, могут вступать в реакции пероксидазного окисления уже в ротовой полости, так как в слюне человека и животных имеются пероксидазы: миелопероксидаза и лактопероксидаза [1]. Более того, продукты окисления флавоноидов могут взаимодействовать с соединениями, входящими в состав слюны, например, с восстановленным глутатионом (GSH), влияя тем самым на ее антиоксидантные свойства. Ранее нами было показано, что окисление кверцетина и рутина в системе пероксидаза хрена/ $H_2O_2$  в присутствии GSH приводит к образованию глутатионовых конъюгатов пентагидроксифлавонов [2, 3].

Принимая это во внимание, целью настоящей работы стало изучения возможности окисления рутина и кверцетина лактопероксидазой из коровьего молока и сравнение способности продуктов их пероксидазного окисления взаимодействовать с восстановленным глутатионом.

Разделение продуктов реакции с помощью обратнофазной хроматографии и их последующий масс-спектрометрический анализ показали, что инкубация кверцетина в системе лактопероксидаза/ $H_2O_2$  в присутствии GSH приводит к появлению двух основных метаболитов с разным временем удерживания и максимумами поглощения при 299,4 и 295,7 нм для метаболита I и II, соответственно. Данные соединения не образуются при пероксидажном окислении флавоноида в отсутствие GSH и имеют одинаковое соотношение масса/заряд, соответствующее гидратированной форме моноглутатионового конъюгата кверцетина ( $[M+H]^+=626$ ).

Известно, что флавоноиды с В кольцом катехольного типа могут образовывать глутатионовые конъюгаты нескольких типов. Региоселективность конъюгатов определяется при-

сутствием в молекуле флавоноида ОН-групп в 3, 5 и 7 положениях, кетогруппы в 4 положении и двойной связи С2-С3. Благодаря наличию всех данных структурных элементов семихинон, являющийся продуктом одноэлектронного пероксидазного окисления кверцетина, способен диспропорционировать непосредственно в хинонметид. Об образовании хиноидного продукта свидетельствует отсутствие феномена восстановления исходного спектра кверцетина при добавлении в реакционную смесь боргидрида натрия. Хинонметид, являющийся более электрофильным соединением чем хинон, взаимодействует с глутатионом через образование комплекса Майзенхаймера. Присоединение глутатиона в зависимости от условий проведения реакции может происходить по С6 и С8 положениям кольца А либо по С2' и С6' положениям кольца В. Анализ спектров поглощения образовавшихся аддуктов позволяет их идентифицировать как 6-глутатионилкверцетин и 8-глутатионилкверцетин. Полученные результаты подтверждают данные литературы, согласно которым при нейтральных значениях рН присоединение глутатиона протекает преимущественно по С6 и С8 положениям кольца А.

Инкубация рутина в системе лактопероксидаза/Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> в присутствии GSH сопровождается образованием одного метаболита с максимумами поглощения при 257,3, 303,1 и 331,7 нм. Данное соединение по своим физико-химическим свойствам отличается от продуктов окисления флавоноида, образующихся в отсутствие GSH, и имеет соотношение масса/заряд, соответствующее негидратированному моноглутатионовому конъюгату рутина ( $[M+H]^+ = 916$ ). Блокирование С3 кислорода дисахаридом, по-видимому, препятствует присоединению гидроксила по С2 положению С-кольца, предотвращая тем самым хинонметидную изомеризацию и ограничивая образование глутатионовых аддуктов В-кольцом о-хинонового изомера флавоноида.

При введении в систему лактопероксидаза/Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> боргидрида натрия наблюдается восстановление исходных спектров рутина. Данный феномен свидетельствует о присутствии в реакционной смеси о-хинона рутина, а не хиноидного продукта его окисления. На основании этого можно предложить следующий механизм конъюгации рутина с глутатионом. Образовавшийся при пероксидажном окислении С4' ОН-группы рутина семихинон, в отличие от такового кверцетина диспропорционирует не в хинонметид, а в о-хинон. Предполагается, что формирование комплекса Майзенхаймера для о-хинонов флавоноидов по С6 и С8 положениям маловероятно, поскольку приводит к генерации интермедиатов бирадикального типа. Поэтому нуклеофильная атака тиолат ионом о-хинона рутина может протекать по С2', С5' или С6' положениям В-кольца. Присоединение глутатиона происходит скорее всего по С2' положению, которое согласно теоретическим расчетам является наиболее реакционно-способным местом В-кольца хинонов флавоноидов.

Различная природа глутатионовых конъюгатов кверцетина и рутина подтверждается данными спектрофотометрического анализа. Исходный спектр поглощения кверцетина при нейтральных значениях рН характеризуется наличием двух максимумов поглощения при 258 нм и 374 нм, а также плеча при 321 нм. В ходе реакции пероксидазного окисления кверцетина максимумы при 258 и 374 нм, а также плечо при 321 нм смещаются в коротковолновую область на 24, 40 и 21 нм, соответственно. Выраженный гипсохромный эффект при пероксидажном окислении кверцетина является результатом потери двойной связи С2=С3 в кольце С и свидетельствует об образовании хиноидных продуктов флавоноида. В системе лактопероксидаза/Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/GSH наблюдается гипсохромный сдвиг плеча на 9 нм с одновременным уменьшением его интенсивности, незначительный батохромный сдвиг максимума при 334 нм на 2 нм и появление нового максимума при 409 нм.

При пероксидажном окислении рутина регистрируется исчезновение плеча при 319 нм и гипсохромный сдвиг максимума при 271 нм на 7 нм. Максимум поглощения при 364 нм смещается в коротковолновую область, формируя плато значительно меньшей интенсивно-

сти в области 334–339 нм. В присутствии GSH выявляется незначительный гипсохромный сдвиг максимума при 264 нм. Платообразный максимум распадается на более выраженный максимум при 339 нм и плечо при 306 нм. Таким образом, глутатионовые конъюгаты рутина характеризуются наибольшей интенсивностью поглощения в коротковолновой области своего спектра.

Кверцетин, рутин и их полусинтетические производные в настоящее время достаточно широко используются в качестве ингредиентов витаминных и лекарственных препаратов, а также биологически активных добавок. Вместе с тем полученные в настоящей работе результаты, свидетельствуют о способности продуктов его пероксидазного окисления взаимодействовать с GSH. Восстановленный глутатион помимо антиоксидантной защиты обеспечивает нормальное протекание целого ряда физиологических и биохимических процессов. В этой связи, очевидно, что феномен образования глутатионовых конъюгатов рутина заслуживает особого внимания и нуждается в дальнейшем всестороннем изучении.

### Литература

1. Thomas E.L., Jefferson M.M., Joyner R.E., Cook G.S., King C.C. Leukocyte myeloperoxidase and salivary lactoperoxidase: Identification and quantitation in human mixed saliva // J. Dent. Res.– 1994.– V.73(2).– P.544–555.
2. Семак И.В., Корик Е.О., Наумова М.В., Сломински А. Взаимодействие продуктов пероксидазного окисления моно-, ди- и тригидроксифлавонов с глутатионом // Весці НАН Беларусі. Серыя медыка-біялагічных навук.– 2003, №4.– С.50–56.
3. Корик Е.О., Наумова М.В., Сломински А., Семак И.В. Возможные механизмы образования глутатионовых конъюгатов кверцетина и рутина // Весці НАН Беларусі. Серыя медыка-біялагічных навук.– 2003, №4.– С.62–67.

## ОБЕСПЕЧЕНИЕ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ СОВРЕМЕННЫМИ ОТЕЧЕСТВЕННЫМИ ХИМИЧЕСКИМИ СРЕДСТВАМИ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

**А.И. Быховец, В.М. Гончарук, Ф.А. Лахвич**

*Институт биоорганической химии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь  
bychow@iboch.bas-net.by*

Мировой опыт показывает, что любая из известных ныне систем земледелия в условиях самой высокой и перспективной формы интенсификации сельского хозяйства невозможна без организованной защиты растений как фактора, определяющего высокие урожаи. Растения, как и любые живые организмы, включая человека и сельскохозяйственных животных, нуждаются не только в полноценном сбалансированном питании, комфортных условиях развития и роста, но и в защите от болезней, насекомых-вредителей, других вредных организмов и неблагоприятных факторов окружающей среды. При этом потери от вредителей, болезней и сорняков все еще велики и достигают 20–30 % валового урожая, а по некоторым культурам – вплоть до полной потери урожая.

Химические средства защиты растений – пестициды в промышленном масштабе в Республике Беларусь только начинают производиться. Потребность сельского хозяйства в этой продукции ранее обеспечивалась за счет импорта. На закупку таких средств защиты в зависимости от фитосанитарной ситуации ежегодно требуется от 80 до 140 млн. долларов США. Объемы применения пестицидов в Беларуси за последние 30 лет показывают, что за каждые 5 лет объем защитных мероприятий (в пересчете на однократную обработку) удваивался. Аналогичная картина наблюдается и сейчас, когда потребность в пестицидах за пять лет (с 2003 по 2007 годы) практически выросла в два раза.

До середины 70-х годов прошлого века борьба с вредными видами сорняков основывалась на широком применении сильнодействующих химических веществ. Однако методы