

Соединение	Расчетный срок хранения, ч	Расчетный срок хранения, год
Льняное масло + грамин (XX)	7280	0,83
Льняное масло + пирокатехин (II)	8503	0,97
Льняное масло + агидол (VI)	11338	1,29
Льняное масло + тетрагидроноргарман (XXIV)	16283	1,85
Льняное масло + гармалин (XXVI)	19477	2,22

Способность изученных соединений ингибировать процессы окисления ЛМ можно использовать при поиске новых регуляторов свободно-радикальных реакций окисления, в том числе для стабилизации масел из растительного сырья.

Литература

1. Язева Л.И., Филиппова Г.И., Федина Н.И. О биологических свойствах растительных масел, содержащих линоленовую кислоту // Вопросы питания. 1989. №3. С.49-53.
2. Тимофеевко Т.И., Лобода А.В. Льняное и амарантовое масла – источники биологически активных веществ для новых БАД // Известия вузов. Пищевая технология. 2012. №1. С. 10-13.
3. Ипатов О.М., Прозоровская Н.Н., Баранова В.С. // Льняное масло как источник омега-3 жирных кислот // Биомедицинская химия. 2004. №1. С. 25-43.
4. C. Rihui. β -Carboline alkaloids: biochemical and pharmacological functions // Current Medicinal Chemistry. 2007. P. 479-500.
5. Бринкевич С.Д., Свердлов Р.Л., Шадыро О.И. Влияние производных индола и имидазола на радиционно- и пероксииндуцированные превращения этанола // Химия высоких энергий. 2013. Т. 47. С. 19-27.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРЕВРАЩЕНИЙ СФИНГОЗИНА, С-15 СФИНГОЗИНА И ДИГИДРОСФИНГОЗИНА

А. Н. Кулинка, А. Г. Лисовская, О. И. Шадыро

К настоящему времени установлено [1,2], что в радиационно-индуцированном повреждении ряда биологически активных соединений в водных растворах наряду с процессами окисления важную роль играют реакции свободнорадикальной фрагментации с участием углерод- и азотцентрированных радикалов. Так, при действии γ -, УФ-излучений на водные растворы ряда аминоспиртов, аминокислот и сфинголипидов

происходит С-С-деструкция, которая включает стадию образования азотцентрированных радикалов [3]. В работе [4] показано, что хлорноватистая кислота (НОСl) эффективно реагирует со сфинголипидами с образованием азотцентрированных радикалов, которые в последующем фрагментируют с разрывом С-С-связи.

Поскольку сфинголипиды являются составляющей плазматических мембран клеток и играют важную роль в функционировании биосистем, представляет интерес установление связи между структурой и склонностью к свободнорадикальной деструкции сфинголипидов. С этой целью в данной работе изучены радиационно-индуцированные превращения водных дисперсий сфингозина (2-амино-4-октадецен-1,3-диол, СФЗ) (Рис.1,*a*), С15 сфингозина (2-амино-4-пентадецен-1,3-диол, 15-СФЗ) (Рис.1,*b*) и дигидросфингозина (2-амино-4-октадекан-1,3-диол, ДГС) (Рис.1,*c*), которые были от фирмы «Sigma-Aldrich».

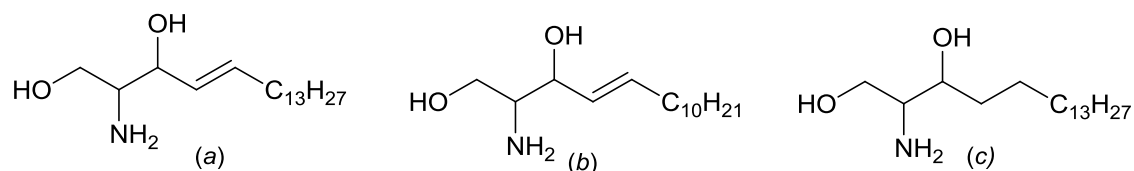


Рис.1. Структурные формулы исследованных сфинголипидов

Многослойные липосомы получали диспергированием тонкой липидной пленки в 50 мМ фосфатном буфере (ФБ), рН 7.4. В качестве мицеллообразующего агента для СФЗ и С15-СФЗ использовался додецилсульфат натрия (ДСН), для ДГС – фосфатидилхолин (ФХ). Свободнорадикальные реакции инициировали γ -излучением изотопа ^{60}Co на установке МРХ- γ -25М.

Среди продуктов радиолиза указанных сфинголипидов с использованием метода ГХ-МС были обнаружены длинноцепочечные альдегиды: гексадеканаль для ДГС, 2-гексадеценаль для СФЗ и 2-пентадеценаль для 15-СФЗ. Для того чтобы зафиксировать образующиеся альдегиды в более низких концентрациях, а также идентифицировать низкомолекулярные карбонильные продукты деструкции сфинголипидов был разработан метод ВЭЖХ с флуоресцентным детектором, где в качестве дериватизирующего агента использовался 2-дифенилацетил-1,3-индандион-1-гидразон (ДАИН). При помощи данного метода среди продуктов радиолиза исследуемых сфинголипидов кроме указанных ранее длинноцепочечных альдегидов, были также зафиксированы гликолевый альдегид и формальдегид.

Установлено, что количество образовавшихся альдегидов для всех исследованных сфинголипидов линейно возрастает с увеличением поглощенной дозы. Это говорит о том, что данные соединения являются

первичными продуктами радиолиза исследуемых сфинголипидов. Исходя из кинетических зависимостей накопления продуктов радиолиза 10 мМ водных дисперсий сфинголипидов, рассчитывали их радиационно-химические выходы, значения которых приведены в таблице.

Из таблицы видно, что выходы гексадеканала и гликолевого альдегида в облученных дисперсиях ДГС значительно ниже, чем для сфингозинов. Это может быть связано со стерическим фактором. В работе [5] показано, что СФЗ в мицеллах существует в виде агрегатов, которые представляют собой пятичленные циклические структуры, соединенные внутри- и межмолекулярными водородными связями. Такая пространственная структура лизосфинголипидов предопределяет возможность их радиационно-индуцированной деструкции, протекающей через стадию образования азотцентрированных радикалов. Можно предположить, что молекулы сфингозинов за счет наличия двойной связи имеют более компактную структуру, что облегчает подход гидроксильного радикала к аминогруппе для образования азотцентрированного радикала. Дигидросфингозин, в свою очередь, за счет отсутствия двойной связи имеет более объемный углеводородный остаток, что затрудняет этот процесс.

Кроме того, при сравнении выходов СФЗ и С15-СФЗ, можно сделать вывод, что длина углеводородного остатка незначительно влияет на процесс свободнорадикальной деструкции.

Табл.

Радиационно-химические выходы (G, молекула/100 эВ) образования основных карбонильных продуктов радиолиза дисперсий сфинголипидов

Сфинголипид	Радиационный выход алифатических альдегидов (G), молекул/100 эВ	Радиационный выход гликолевого альдегида (G), молекул/100
Дигидросфингозин	0,02±0,001	0,05±0,002
Сфингозин	0,14±0,02	0,17±0,01
С15-Сфингозин	0,12±0,01	0,18±0,04

Также вызывает интерес изучение закономерности протекания свободнорадикальных реакций деструкции сфинголипидов под действием активных форм хлора. В работе исследован качественный и количественный состав продуктов, образующихся в результате реакции HOCl с водными дисперсиями исследуемых сфинголипидов. Реакции сфинголипидов со свежеприготовленными растворами NaOCl проводили при комнатной температуре. Концентрация растворов NaOCl составляла от 2,0 до 19 мМ, которую рассчитывали из данных оптической плотности, измеренной при 292 нм в 100 мМ растворе NaOH при pH 12 ($\epsilon_{292}(\text{OCl}^-) = 350 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) на спектрофотометре SPECORD® S600 [6].

Показано, что при добавлении раствора NaOCl к водным дисперсиям исследуемых сфинголипидов в соотношении концентраций 1:1, нами

было отмечено протекание процесса галогенирования с образованием моно- и дихлораминов исходных сфинголипидов. Хлорпроизводные были идентифицированы методом масс-спектрометрии с ионизацией распыления в электрическом поле. Следует отметить, что данные хлорпроизводные являются короткоживущими и через 30 минут после проведения реакции зафиксировать их уже было невозможно.

Методом ГХ-МС было обнаружено, что основными продуктами HOCl -индуцированных превращений ДГС, СФЗ и 15-СФЗ являются гексадеканаль, 2-гексадеценаль и 2-пентадеценаль соответственно. В ходе работы было изучено также влияние концентрации NaOCl на образование указанных альдегидов (Рис.1). Видно, что с увеличением концентрации гипохлорита натрия, выход длинноцепочечных альдегидов экспоненциально возрастает, затем достигает максимального значения, а при дальнейшем повышении концентрации NaOCl выход альдегидов замедляется. Такая закономерность вероятнее всего связана с вовлечением образующихся альдегидов в реакции с исходным реагентом, поскольку альдегиды легко взаимодействуют HOCl .

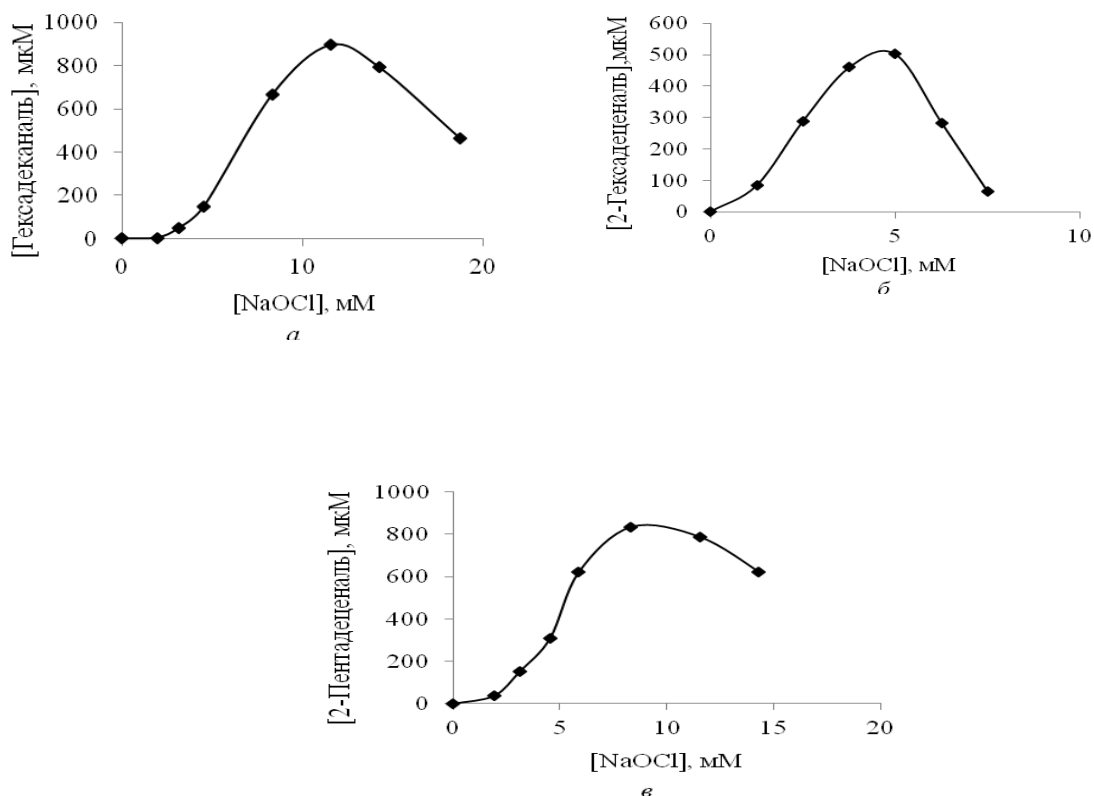
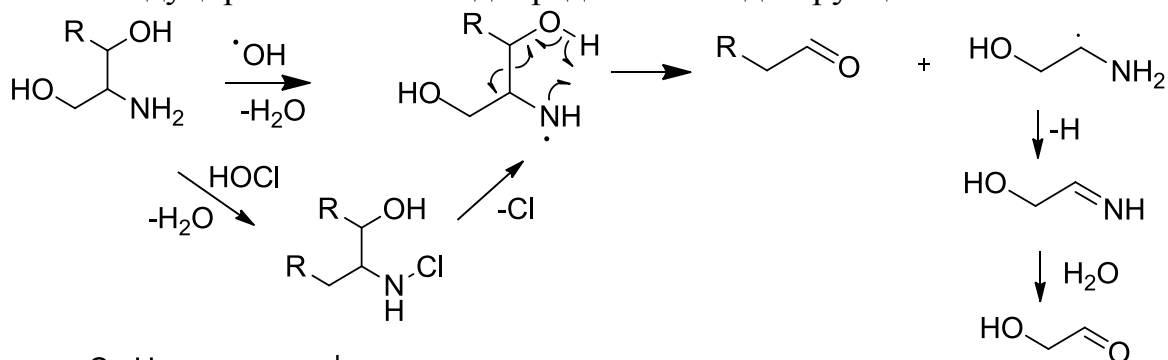


Рис. 1. Накопление длинноцепочечных альдегидов в зависимости от концентрации добавленного NaOCl в водных дисперсиях

a – 10 mM дигидросфингозина (50 mM ФБ, pH 7.4, 1 mM ФХ); *б* – 5 mM сфингозина (50 mM ФБ, pH 7.4, 1 mM ДСН); *в* – 10 mM С15-сфингозина (50 mM ФБ, pH 7.4, 1 mM ДСН)

Также нами было отмечено, что максимальный выход альдегидов для СФГ и С15-СФГ достигается при соотношении концентраций сфинголипид/NaOCl = 1:1, в то время как для ДГС – при соотношении 1:1,5. Эти данные согласуются с результатами, полученными при радиолизе сфинголипидов, где деструкция ДГС протекает значительно слабее.

На основании полученных в работе данных и изученных литературных источников [1-4], можно предположить механизм радиационно- и HOCl-индуцированной свободнорадикальной деструкции:



R = -C₁₅H₃₁ дигидросфингозин

R = -CH=CH-C₁₃H₂₇ сфингозин

R = -CH=CH-C₁₀H₂₁ С15 сфингозин

Предложенный процесс γ - и HOCl-индуцированной деструкции изученных сфинголипидов протекает через стадию образования азотцентрированных радикалов с дальнейшим их распадом за счет разрыва С-С связей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе работы было установлено, что отсутствие двойной связи в молекуле дигидросфингозина в сравнении со сфингозином уменьшает вероятность протекания процесса радиационно- и HOCl-индуцированной свободнорадикальной деструкции, что может быть связано со стерическим фактором. Также было отмечено, что укорочение углеродной цепи на 3 атома углерода в С15-сфингозине в сравнении со сфингозином незначительно влияет на процесс свободнорадикальной фрагментации.

На основании полученных в работе данных о продуктах деструкции и изученных литературных источниках, был предложен механизм радиационно- и HOCl-индуцированной свободнорадикальной деструкции, который включает стадию образования азотцентрированных радикалов с дальнейшим разрывом С-С связей.

Литература

1. *Lisovskaya A., Edimecheva I., Shadyro O.* A new mechanism for photo- and radiation-induced decomposition of sphingolipids // *Lipids*. 2011. Vol. 46. P. 271–276.
2. *Lisovskaya A., Shadyro O., Edimecheva I.* A novel pathway of photoinduced decomposition of sphingolipids // *Photochem. Photobiol.* 2012. Vol. 88. P. 899–903.
3. *Лисовская А.Г., Сладкова А.А., Сосновская А.А., Шадыро О.И.* Реакции аминильных радикалов при радиоллизе и фотолизе водных растворов аминоспиртов и их производных // *Химия высоких энергий*. 2012. Т. 46, №. 4. С. 289–294.
4. *Лисовская А.Г., Шадыро О.И., Семенкова Г.Н., Дивакова Н.В.* Свободнорадикальная фрагментация сфинголипидов при действии гипохлорит-ионов // *Сб. ст. / БГУ. – Минск, 2012. Вып. 8 : Свиридовские чтения. С. 202–209.*
5. *Sasaki H., Arai H., Cocco M.J., White S.H.* pH Dependence of sphingosine aggregation // *Biophysical Journal* 2009. – Vol. 96. – P. 2727–2733.
6. *Morris J.C.* The acid ionization constant of HOCl from 5 to 35 // *J. Phys. Chem.* 1966. Vol. 70, № 12. P. 3798–3805.

ВЛИЯНИЕ ТРИПТОФАНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ НА РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОЕ ДЕФОСФОРИЛИРОВАНИЕ ГЛИЦЕРО-1-ФОСФАТА В ДЕАЭРИРОВАННЫХ ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

Е. В. Лепушенко, Р. Л. Свердлов

ВВЕДЕНИЕ

Свободнорадикальные процессы повреждения фосфорорганических соединений играют ключевую роль в развитии радиобиологических последствий воздействия ионизирующего излучения на организм человека. В работе [1] было показано, что в результате свободнорадикальной фрагментации фосфолипидов, протекающей через стадию деструкции α -гидроксилсодержащих углеродцентрированных радикалов (α -ГУР), образуются фосфатидные кислоты, регулирующие пролиферацию клеток.

Ранее на кафедре радиационной химии и химико-фармацевтических технологий было показано [2, 3], что триптофан и его производные способны ингибировать реакции рекомбинации и диспропорционирования α -гидроксиэтильных радикалов (α -ГЭР), образующихся при радиоллизе деаэрированного этанола. α -ГЭР являются одними из простейших представителей α -ГУР. Поэтому производные триптофана могут быть способны предотвращать фрагментацию α -ГУР фосфорорганических соединений.

Настоящая работа посвящена изучению способности триптофана и его производных подавлять радиационно-индуцированное дефосфорилирование глицеро-1-фосфата (Г1Ф) в деаэрированных водных раство-