

жизнеспособности наиболее приемлем метод деплазмолиза в гипотонических средах. С помощью этого метода можно не только определять жизнеспособность протопластов, но и оценивать степень повреждения плазмалеммы. Применение витальных красителей (нейтрального красного) не всегда возможно и в ряде случаев дает противоречивые результаты: фрагменты разрушенных клеток могут окрашиваться даже более интенсивно, чем нативные протопласты. Применение же диацетата флюоресцеина сопряжено с рядом трудностей технического характера.

Литература

1. Гайворонская Л. М., Хасирджеева А. К., Бутенко Р. Г. и др. Получение протопластов и клеток из ткани листьев табака с применением препарата пектиназа-500 // Физиол. раст., 1982, т. 29, вып. 4, с. 794–798
2. Культура клеток растений. 1981, «Наука», М., с. 69–84
3. Трики А., Майар П., Гюдан К. Получение протопластов из зооспор и цист водоросли *Haematococcus pluvialis* // Физиол. раст., 1997, т. 44, вып. 6, с. 935–942

БИОТРАНСФОРМАЦИЯ ФЛАВОНОЛОВ ТИРЕОИД-ПЕРОКСИДАЗОЙ

Е. А. Ледак, Н. В. Иващенко

Флавонолы – биологически активные фенольные соединения растений. Флавонолы обладают Р-витаминными, антиатеросклеротическими, ангиопротекторными свойствами и активно применяются в качестве лекарственных препаратов и биологически активных добавок [1]. Флавонолы являются важнейшими естественными антиоксидантами в пище человека [2]. В основе структурного и функционального разнообразия многочисленных природных флавонолов лежат гидроксипроизводные 2-(фенил)-хромен-4-она [1, 2]. Одним из наиболее вероятных механизмов реализации функциональных свойств может быть вовлечение флавонолов в качестве субстратов и/или ингибиторов гемопротеинов и металлопротеинов, катализирующих реакции пероксидазного окисления разнообразных органических и неорганических соединений [3, 4]. Результаты модельных исследований на пероксидазе из хрена показывают, что флавонолы могут быть отнесены к наиболее активным субстратам пероксидаз [4,5]. Предполагается, что пероксидазные реакции, протекающие в организме человека и животных, являются основным путем биотрансформации флавонолов в направлении деградации и инактивации [3–5]. Среди важнейших пероксидаз человека и животных особое внимание привлекает тиреоид-пероксидаза (ЕС 1.11.1.8) – ключевой фермент в синтезе гормонов щитовидной железы 3,3',5,5'-тетраиодтиронина и

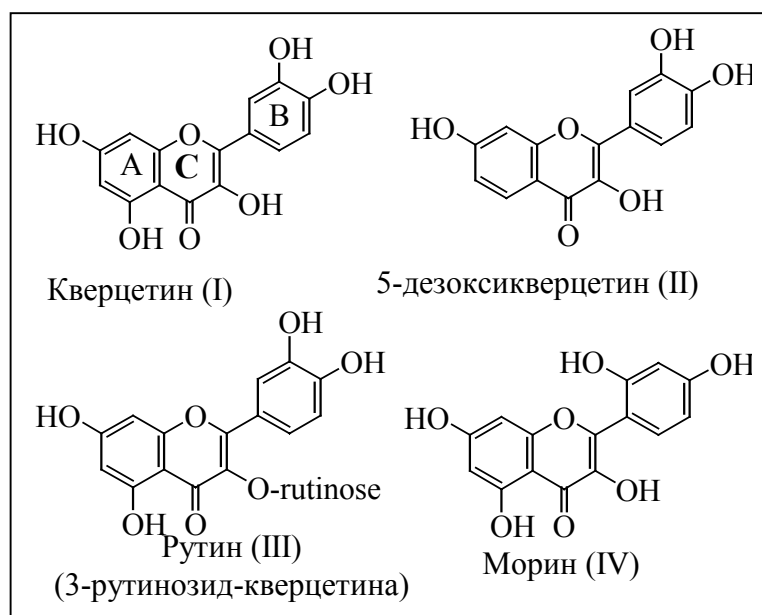


Рис. 1. Химическое строение флавонолов

3,3',5-трийодтиронины, которая использует фенольные ядра остатков тирозина в составе тиреоглобулина для синтеза гормонов [3]. В работе Divi D. & Doerge R. установлено [6], что природные флавонолы способны эффективно ингибировать иод-пероксидазную активность тиреоидпероксидазы. Вместе с тем, возможность пероксидазного окисления флавонолов не была исследована этими авторами. В связи с этим, нами предпринято изучение возможной пероксидазной биотрансформации при участии тиреоид-пероксидазы человека ряда структурно родственных флавонолов (рис. 1): кверцетина (2-(3,4-дигидроксифенил)-3,5,7-тригидрокси-хромен-4-он), морина (2-(2,4-дигидроксифенил)-3,5,7-тригидрокси-хромен-4-он), рутина (3-рутинозид кверцетина), физетина (5-дезоксикверцетин). Целью работы явилось выяснение возможных взаимосвязей между структурой флавонолов и эффективностью их окисления в пероксидазной реакции биотрансформации.

Для решения поставленной задачи использованы методы стационарной ферментативной кинетики, UV-VIS-спектро-фотометрический анализ, хромато-масс-спектрометрический анализ (LC/MS) продуктов реакции.

Реакция пероксидазного окисления кверцетина I (но не рутина III или морина IV) начинается с образования нестойкого пурпурного комплекса ($\lambda_{\max} = 558$ нм), имеющего, по-видимому, радикальную природу семихинонного типа по кольцу В и/или строение пирилиевого катиона. Для его образования необходимо наличие о-дигидроксифенильного кольца В и свободных ОН-групп в положениях С₃ и С₇. Короткоживущее пурпурное соединение окисляется по катехольному кольцу В до о-хинона с $\lambda_{\max} = 509-512$ нм, который легко переходит в этилацетат.

Дальнейшее пероксидазное окисление флавонолов, как показано на схемах рисунка 2, протекает с раскрытием γ -пиронового кольца по C_3-C_4 и $O-C_2$, что ведет к образованию серии фенолкарбоновых кислот, среди которых идентифицированы флороглюцинкарбоновая кислота (соединение V, происходит из кольца А кверцетина и морина), изомерные дигидроксibenзойные продукты превращения кольца В, состав которых различен для морина и кверцетина. Впрочем, флороглюцинкарбоновая кислота вовсе не появляется среди продуктов окисления физетина, тогда как 3,4-дигидроксibenзойная кислота (соединение VI) образуется как при окислении физетина, так и кверцетина. Разрыв γ -пиронового кольца морина ведет к появлению 2,4-дигидроксibenзойной кислоты. Следует заметить, что рутин намного хуже окисляется по пероксидазному механизму, чем другие исследованные флавонолы. При этом схема пероксидазного окисления рутина во-многом похожа на превращение кверцетина. В работе определены параметры пероксидазного окисления изучен-

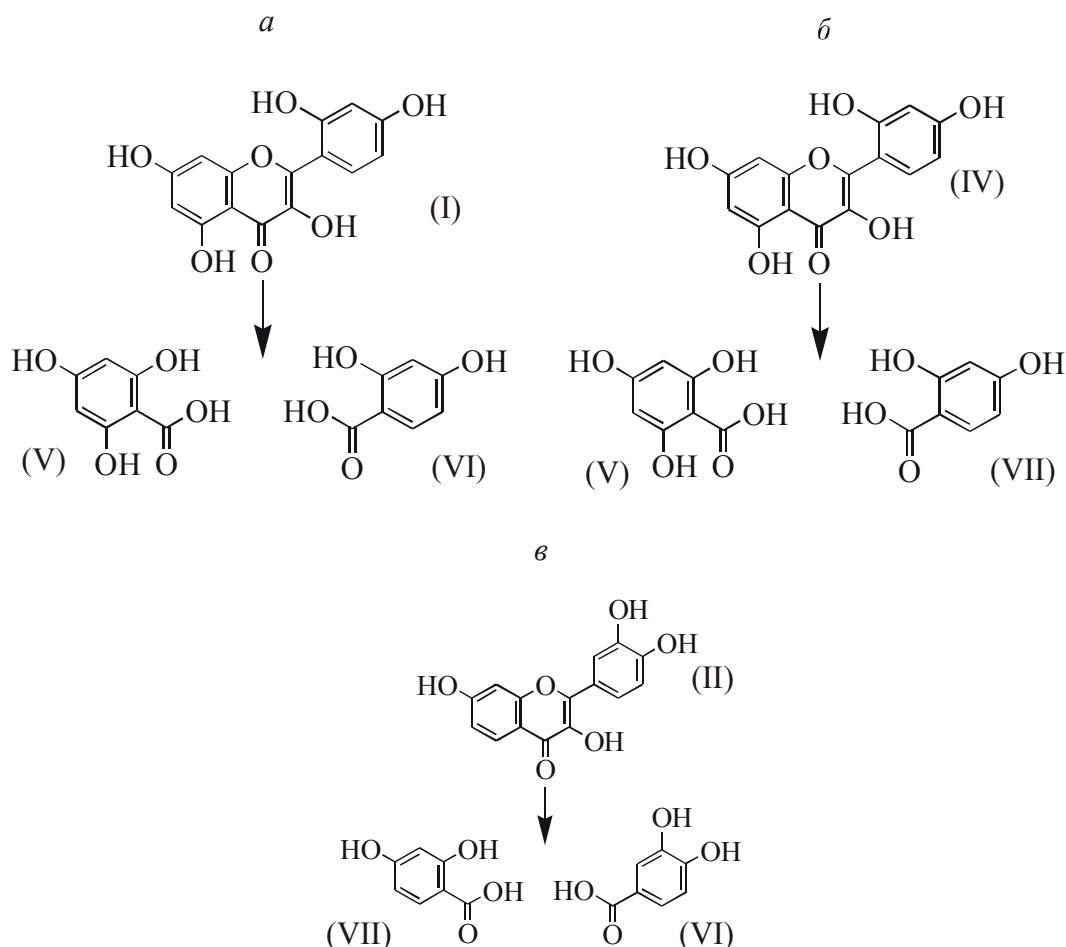


Рис.2. Схема окисления кверцетина (а), морина (б) и физетина (в) пероксидом водорода при участии пероксидазы из корней хрена или тиреоид-пероксидазы человека в среде 0,05 М Na-фосфатного буфера (pH=7,4)

ных флавонолов – скорость реакции, удельная активность, каталитические константы, стехиометрия расходования пероксида водорода. Эти результаты анализируются с привлечением данных об особенностях электронного строения флавонолов, их окислительно-восстановительных свойств.

Таким образом, с помощью методов стационарной ферментативной кинетики, UV-VIS-спектрофотометрического анализа, хромато-масс-спектрометрического анализа (LC/MS) определены каталитические параметры и продукты пероксидазного окисления ряда важнейших природных флавонолов. На основании полученных данных предложена схема пероксидазной биотрансформации флавонолов при участии тиреоид-пероксидазы щитовидной железы человека.

Литература

1. The Flavonoids: advances in research / Ed. J.B.Harborne. L.-N.Y, 1988.
2. *Запромётов М. Н.* Фенольные соединения. Распространение, метаболизм и функции в растениях. М.: Наука, 1993.
3. *O'Brien P. J.* Peroxidases // Chem. Biol. Interact. 2000. V.129. P. 113–139.
4. *Сенчук В. В.* Биохимические механизмы окисления фенольных соединений тиреоид-пероксидазой // Достижения современной биологии и биологическое образование. Труды 2 межд.науч.конф. Минск, 2003. С. 281–286.
5. *Ледак Е. А., Сенчук В. В.* // Вестн. Белорус. ун-та. Сер.2. 2003. N.1. С. 42–46.
6. *Divi R., Doerge D.* // Chem. Res. Toxicology. 1996. V. 9. P. 16–23.

ПРОДУКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ КРИЧЕВСКОГО ЛЕСНИЧЕСТВА

А. В. Мудреченко

Спрос на лекарственное растительное сырье удовлетворяется не полностью, поэтому возникает острая необходимость в увеличении заготовок лекарственных растений. В современной медицинской промышленности использование лекарственного растительного сырья не только остается стабильным, но и имеет тенденцию к некоторому увеличению. Лекарственные препараты растительного происхождения составляют около 40 %, а в некоторых группах (сердечные, отхаркивающие, желудочно-кишечные, кровоостанавливающие, седативные, тонизирующие, слабительные) достигают 60–80 % [6, с. 57].

Результаты фитоценотических исследований ассоциаций и учет ресурсов лекарственных растений приведены за вегетационный период 2001 и 2002 гг.