

С. Д. БРИНКЕВИЧ, О. И. ШАДЫРО

ВЛИЯНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ ПРОИЗВОДНЫХ НА РАДИАЦИОННО- ИНДУЦИРОВАННЫЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ ОКСИГЕНИРОВАННОГО ЭТАНОЛА И ЕГО ВОДНЫХ РАСТВОРОВ

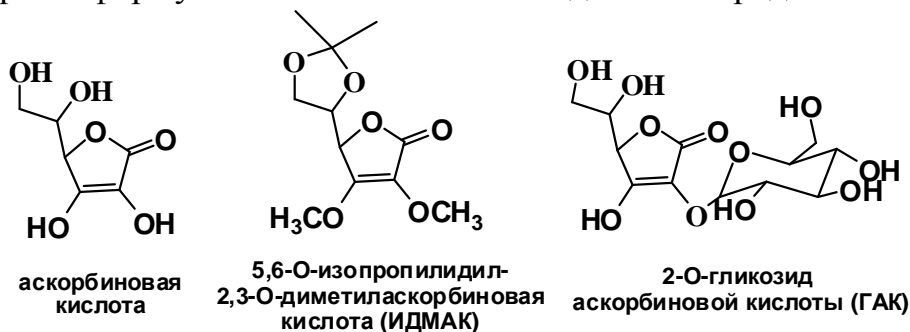
Аскорбиновая кислота (АК) является одним из важнейших регуляторов свободнорадикального гомеостаза в организме человека. Она выступает ко-фактором гидроксилаз и монооксигеназ, вовлеченных в синтез коллагена, карнитина, желчных кислот и нейротрансмитеров, а также детоксикацию ксенобиотиков [1]. За счет способности акцептировать активные формы кислорода в водной фазе и восстанавливать радикалы жирорастворимых антиоксидантов, в первую очередь токоферола, АК предотвращает свободнорадикальное повреждение биосистем [2]. Поэтому она широко используется в медицине для профилактики и лечения вирусных, онкологических, сердечно-сосудистых, нейродегенеративных и других заболеваний, сопровождающихся гиперпродукцией активных форм кислорода и активацией перекисного окисления липидов (ПОЛ) [1, 3]. В то же время в ряде исследований, проведенных на клеточных культурах и животных, было показано, что АК способна выступать как прооксидант, увеличивая уровни маркеров ПОЛ и свободнорадикального повреждения ДНК [4,5]. Считается, что этот эффект обусловлен восстановлением ионов железа и других металлов переменной валентности, вступающих с H_2O_2 и органическими гидропероксидами в реакции типа Фентона [5].

Метод стационарного радиолиза позволяет генерировать различные типы свободных радикалов, образующихся в биосистемах, и установить механизм взаимодействия тестируемых соединений с радикальными частицами. Настоящая работа посвящена изучению влияния аскорбиновой кислоты, ее 2-О-гликозилированного и полностью алкилированного аналогов на выходы основных молекулярных продуктов радиолиза оксигенированного этанола и его водных растворов при pH 7.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В работе использовалась аскорбиновая кислота фирмы Sigma-Aldrich; 5,6-О-изопропилидил-2,3-О-диметиласкорбиновая кислота (ИДМАК) синтезировалась по методике [6]; 2-О-глюкопиранозил-

аскорбиновая кислота (ГАК) была предоставлена CCI Corporation (Japan). Структурные формулы использованных соединений представлены ниже:

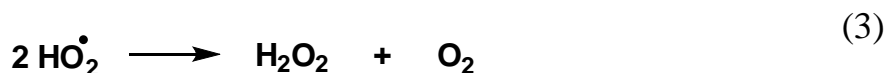
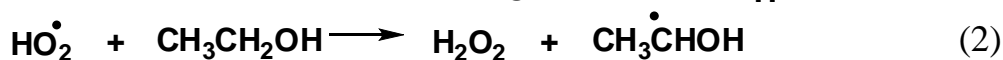
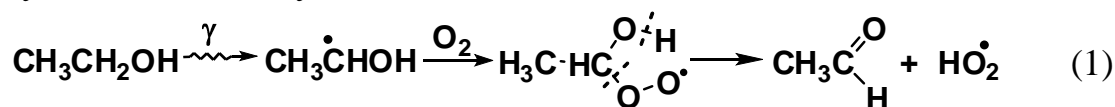


Этанол-ректификат (96 об. %) перед использованием очищался сорбцией на цеолите марки Wolfen Zeosorb LA с последующей перегонкой. Для приготовления водных растворов с pH $7 \pm 0,05$ навески тестируемых соединений растворяли в приготовленном на бидистиллированной воде фосфатном буфере. Водные растворы насыщали кислородом в ампулах в течение 60 мин, после чего запаивали. Спиртовые растворы готовили на предварительно оксигенированном этаноле. Облучение проводили на установке МРХ- γ -25М с источником ^{60}Co . Мощность поглощенной дозы составляла $0,50 \pm 0,016$ Гр/с, интервал поглощенных доз – 0,18–0,90 кГр.

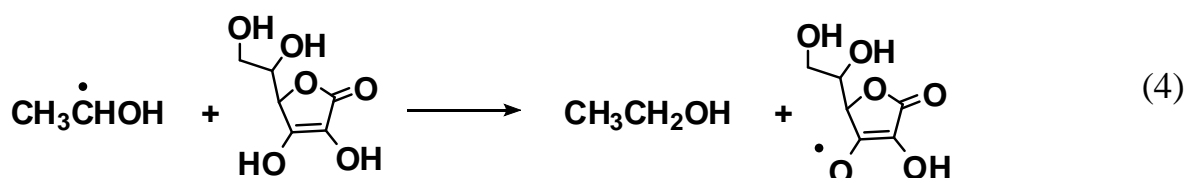
Ацетальдегид определяли методом газожидкостной хроматографии в соответствии с [7], пероксид водорода – реактивно-спектрофотометрическим методом, основанным на образовании желтого комплекса пероксида водорода с сульфатом титанила в сернокислом растворе [8]. Концентрацию тестируемых соединений в растворах определяли спектрофотометрически на Specord M40. Радиационно-химические выходы образования продуктов радиолитического распада и расходования добавок рассчитывали на линейных участках зависимости концентраций веществ от поглощенной дозы с использованием метода наименьших квадратов. Приведенные в работе величины радиационно-химических выходов являются результатом усреднения трех независимых экспериментов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

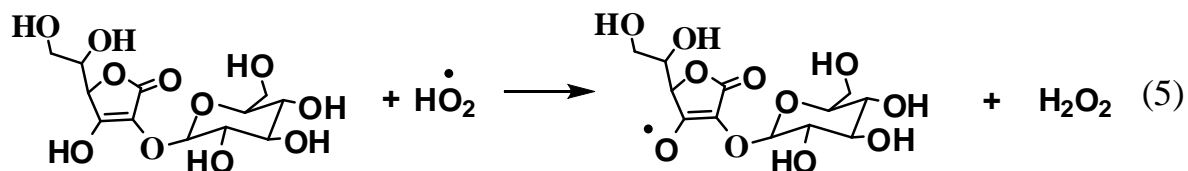
При радиолитическом расходе этанола, насыщенного кислородом, основными молекулярными продуктами являются ацетальдегид и пероксид водорода, образующиеся по следующей схеме [9]:



При радиоллизе АК в насыщенном кислороде этаноле, наблюдаются высокие выходы разложения добавки, что свидетельствует о ее высокой реакционной способности по отношению к образующимся в данной системе радикальным частицам. В работе [7] было показано, что АК способна эффективно подавлять радиационно-индуцированные превращения деаэрированного этанола за счет окисления α -гидроксиэтильных радикалов (α -ГЭР). Реализация данного механизма при радиоллизе оксигенированного этанола в присутствии АК приводила бы к увеличению выходов ацетальдегида. Представленные в табл. 1 данные свидетельствуют об уменьшении выходов как ацетальдегида, так и пероксида водорода при облучении оксигенированного этанола в присутствии добавки. Поэтому наблюдаемые эффекты могут быть обусловлены восстановлением α -ГЭР по реакции:



Радиационно-химические выходы разложения ГАК, а также ее влияние на выходы продуктов радиоллиза оксигенированного этанола указывают на низкую реакционную способность данного соединения по отношению к α -ГЭР; незначительное увеличение выходов H_2O_2 может быть обусловлено восстановлением гидропероксильных радикалов добавкой:



При радиоллизе оксигенированного этанола в присутствии ИДМАК происходит увеличение радиационно-химического выхода ацетальдегида при снижении выхода пероксида водорода, что свидетельствует об окислении α -ГЭР добавкой:

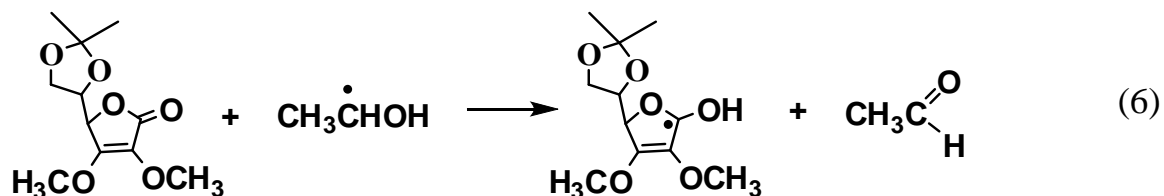
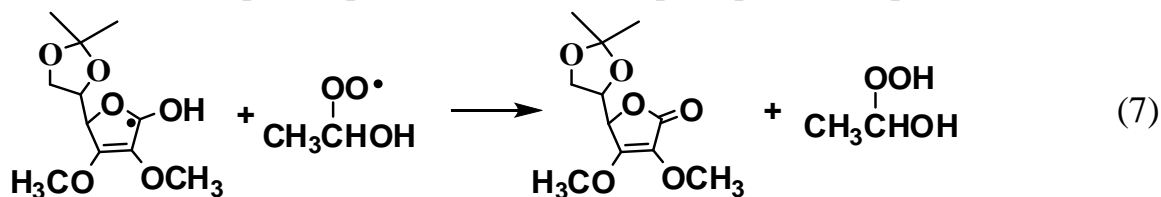


Таблица 1

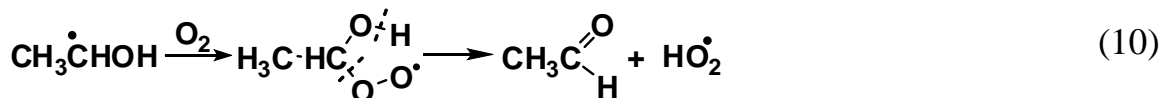
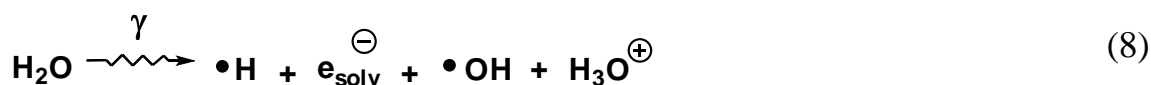
**Влияние АК, ГАК и ИДМАК на радиационно-индуцированные превращения
оксигенированного этанола и его водных растворов при pH 7**

Добавки, $c = 10^{-3}$ моль/л	Радиационно-химические выходы (G), молекула/100 эВ		
	Ацетальдегид	Пероксид водорода	Разложение добавки
96 % этанол			
Без добавок	7,06±0,28	7,54±0,27	
АК	4,69±0,26	5,69±0,14	-2,91±0,14
ГАК	7,64±0,29	7,81±0,25	-0,78±0,05
ИДМАК	9,43±0,30	6,42±0,28	-0,15±0,02
Концентрация этанола 1 моль/дм ³			
Без добавок	4,31±0,23	2,73±0,18	
АК	4,09±0,30	1,98±0,20	-3,48±0,26
ГАК	4,12±0,23	2,72±0,20	-0,17±0,01
ИДМАК	4,45±0,11	2,36±0,18	-0,32±0,04
Концентрация этанола 10^{-1} моль/дм ³			
Без добавок	3,79±0,014	2,18±0,05	
АК	3,19±0,26	1,45±0,16	-3,85±0,38
ГАК	3,59±0,12	2,15±0,05	-0,31±0,04
ИДМАК	4,31±0,22	1,78±0,09	-0,54±0,08
Концентрация этанола 10^{-2} моль/дм ³			
Без добавок	2,43±0,11	2,06±0,11	
АК	1,96±0,15	1,13±0,10	-4,77±0,30
ГАК	2,36±0,19	1,90±0,08	-1,24±0,12
ИДМАК	2,53±0,12	1,44±0,11	-1,21±0,15
Концентрация этанола 10^{-3} моль/дм ³			
Без добавок	1,56±0,14	1,39±0,04	
АК	0,59±0,15	1,10±0,20	-5,62±0,25
ГАК	0,69±0,10	1,42±0,05	-2,48±0,21
ИДМАК	1,07±0,11	1,12±0,20	-2,69±0,23

Реализация такого типа реакции должна приводить к значительным выходам разложения добавки. Однако при радиоллизе в оксигенированном этаноле разложение ИДМАК не наблюдается, что может указывать на возможность регенерации добавки, например, за счет реакции:

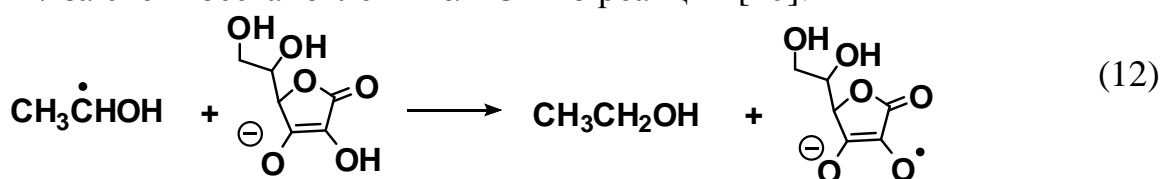


При облучении водных растворов этанола, насыщенных кислородом, свободнорадикальные процессы инициируются радикальными продуктами радиоллиза воды [9]:

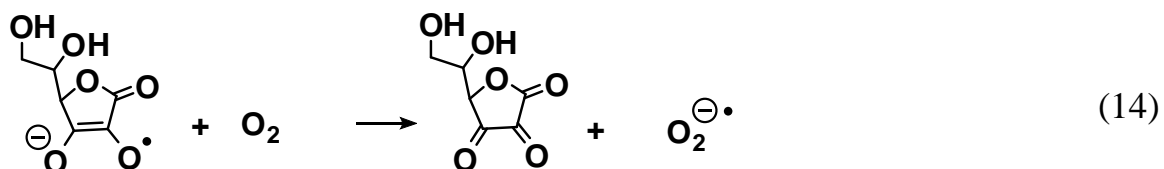
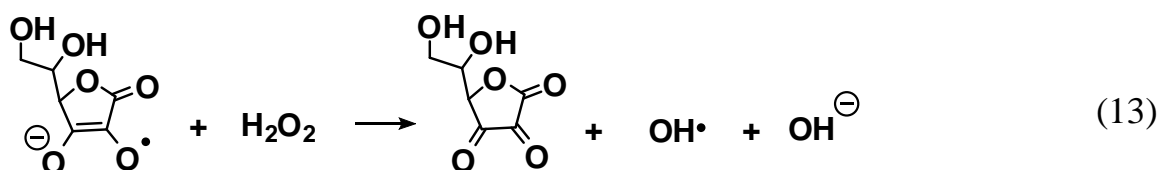


Поскольку константы скорости взаимодействия добавок и этанола с $\cdot\text{OH}$ и $\cdot\text{H}$ являются величинами одного порядка, то при радиоллизе 1 М водного раствора этанола в присутствии 1 мМ тестируемых соединений радикальные продукты радиоллиза воды будут практически полностью реагировать со спиртом с образованием α -ГЭР. Влияние добавок на выходы молекулярных продуктов радиоллиза оксигенированного 1 М раствора этанола будет обусловлено их взаимодействием с α -ГЭР, $\text{HO}_2\cdot$ и пероксильными радикалами, образующимися в реакции (10). При эквимолярном соотношении концентраций спирта и тестируемых соединений, в случае радиоллиза 10^{-3} М растворов этанола, растворенные вещества будут вступать в конкуренцию за радикальные продукты радиоллиза воды. Степень подавления выходов основных молекулярных продуктов радиоллиза будет определяться соотношением констант скорости реакции $\cdot\text{OH}$ и $\cdot\text{H}$ с тестируемыми веществами и этанолом.

АК эффективно подавляет образование основных молекулярных продуктов радиоллиза деаэрированного 1 М водного раствора этанола при pH 7 за счет восстановления α -ГЭР по реакции [10]:



В то же время представленные в табл. 1 данные свидетельствуют о том, что при радиолизе оксигенированных растворов этанола при pH 7 АК лишь незначительно снижает радиационно-химические выходы ацетальдегида и пероксида водорода, одновременно наблюдаются высокие выходы разложения добавки, свидетельствующие об интенсивном расходовании АК в радикальных реакциях. Это указывает на то, что помимо восстановления α -ГЭР по реакции (12), приводящей к снижению радиационно-химических выходов ацетальдегида и пероксида водорода, при радиолизе оксигенированных водных растворов этанола при pH 7 АК может быть вовлечена в реакции, в результате которых образуются дополнительные количества радикальных частиц, например:



Низкие радиационно-химические выходы разложения ГАК и отсутствие влияния на выходы молекулярных продуктов радиолиза оксигенированных растворов этанола указывают на ее низкую реакционную способность по отношению к образующимся в данных условиях радикальным частицам. Только при радиолизе 10^{-3} М растворов этанола за счет более высоких констант скорости взаимодействия с $\bullet\text{OH}$ и $\bullet\text{H}$ ГАК значительно снижает выход ацетальдегида. Отсутствие снижения выхода пероксида водорода в присутствии добавки может свидетельствовать о его дополнительном образовании за счет реакции типа (5).

При радиолизе оксигенированных водных растворов этанола в присутствии ИДМАК наблюдается незначительное увеличение выхода ацетальдегида и снижение выхода пероксида водорода, что указывает на способность тестируемого соединения за счет окисления α -ГЭР по реакции (6) предотвращать окисление спиртовых радикалов по реакции (10). Наблюдаемые при радиолизе 1 мМ водного раствора этанола эффекты обусловлены акцептированием ИДМАК радикальных продуктов радиолиза воды.

ВЫВОДЫ

Представленные в работе данные свидетельствуют о том, что в эквивалентных с этанолом концентрациях аскорбиновая кислота и ее производные эффективно подавляют радиационно-индуцированные превращения этанола в оксигенированных водных растворах за счет акцептирования радикальных продуктов радиолиза воды. При увеличении концентрации этанола аскорбиновая кислота способна за счет восстановления, а ИДМАК – за счет окисления α -ГЭР снижать выходы основных продуктов радиолиза оксигенированного этанола и его водных растворов при pH 7. Помимо способности ингибировать радиационно-индуцированные превращения оксигенированного этанола и его водных растворов при pH 7, АК может вступать в реакции, приводящие к образованию дополнительного количества активных форм кислорода, что необходимо учитывать при рассмотрении ее роли в свободнорадикальных процессах в биосистемах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Девис М., Остин Дж., Патридж Д. Витамин С. Химия и биохимия. М.: Мир. 1999.
2. Halliwell B., Gutteridge J. M. C. Free radicals in biology and medicine. Oxford: University press. 1999.
3. Violi, F.; Cangemi, R.; Loffredo L. Vitamin C : new research. New York: Nova Science Publishers. 2006. P. 93–119.
4. Buettner G. R., Jurkiewicz B. A. // Radiation research. 1996. Vol. 145. P. 532–541.
5. Carr A., Frei B. // FASEB Journal. 1999. Vol. 13. P. 1007–1024.
6. Olabisi A. O., Wimalasena K. // J. Org. Chem. 2004. Vol. 69, № 21. P. 7026–7032.
7. Бринкевич С. Д., Шадыро О. И. // Химия высоких энергий. 2008. Т. 42, № 4. С. 297–302.
8. Egerton Sir A., Everett A. J., Minkoff G. J. et al. // Anal. Chem. Acta. 1965. Vol. 10. P. 422–456.
9. Freeman G. R. Radiation chemistry of ethanol: A review of data on yields, reaction rate parameters, and spectral properties of transients. Washington: NBS. 1974. 33 p.
10. Brinkevich S. D., Shadyro O. I. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2008. Vol. 18. P. 6448–6450.