

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ORIGINAL PAPERS

УДК 544.54:547.466

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНАЯ ДЕСТРУКЦИЯ ГИДРОКСИЛСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ

A. A. СЛАДКОВА^{1), 2)}, И. П. ЕДИМЕЧЕВА²⁾, А. А. СОСНОВСКАЯ²⁾, О. И. ШАДЫРО^{1), 2)}

¹⁾*Белорусский государственный университет,*

пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

²⁾*Научно-исследовательский институт физико-химических проблем БГУ,*

ул. Ленинградская, 14, 220006, г. Минск, Беларусь

Установлен новый путь свободнорадикальной деструкции серина, треонина и их пептидных производных, индуцированной активными формами кислорода и HOCl , через стадию образования азотцентрированных радикалов и их последующую фрагментацию с отщеплением бокового фрагмента. Показано, что ингибиторами данного процесса являются вещества, обладающие восстановительными свойствами, в то время как кислород не влияет на вероятность его протекания. Полученные данные имеют важное значение для развития новых подходов к поиску эффективных регуляторов свободнорадикальных процессов.

Ключевые слова: серин; треонин; свободнорадикальные реакции; деструкция углеродного скелета; биохимические реакции.

Образец цитирования:

Сладкова АА, Едимечева ИП, Сосновская АА, Шадыро ОИ. Свободнорадикальная деструкция гидроксилсодержащих аминокислот. *Журнал Белорусского государственного университета. Химия*. 2019;1:3–13.

<https://doi.org/10.33581/2520-257X-2019-1-3-13>

For citation:

Sladkova AA, Edimecheva IP, Sosnovskaya AA, Shadyro OI. Free radical destruction of hydroxyl-containing amino acids. *Journal of the Belarusian State University. Chemistry*. 2019;1:3–13. Russian.

<https://doi.org/10.33581/2520-257X-2019-1-3-13>

Авторы:

Анастасия Алексеевна Сладкова – кандидат химических наук; доцент кафедры радиационной химии и химико-фармацевтических технологий химического факультета¹⁾, старший научный сотрудник лаборатории химии свободнорадикальных процессов²⁾.

Ирина Петровна Едимечева – кандидат химических наук; ведущий научный сотрудник лаборатории химии свободнорадикальных процессов.

Анна Алексеевна Сосновская – кандидат химических наук; ведущий научный сотрудник лаборатории химии свободнорадикальных процессов.

Олег Иосифович Шадыро – доктор химических наук, профессор; заведующий кафедрой радиационной химии и химико-фармацевтических технологий химического факультета¹⁾, заведующий лабораторией химии свободнорадикальных процессов²⁾.

Authors:

Anastasia A. Sladkova, PhD (chemistry); associate professor at the department of radiation chemistry and chemical-pharmaceutical technology, faculty of chemistry^a, senior researcher at the laboratory of chemistry of free radical processes^b.

sladkova-an@yandex.ru

Irina P. Edimecheva, PhD (chemistry); leading researcher at the laboratory of chemistry of free radical processes.

irina.edimecheva@gmail.com

Anna A. Sosnovskaya, PhD (chemistry); leading researcher at the laboratory of chemistry of free radical processes.

anna-sosn@mail.ru

Oleg I. Shadyro, doctor of science (chemistry), full professor; head of the department of radiation chemistry and chemical-pharmaceutical technology, faculty of chemistry^a, head of the laboratory of chemistry of free radical processes^b.

shadyro@tut.by

FREE RADICAL DESTRUCTION OF HYDROXYL-CONTAINING AMINO ACIDS

A. A. SLADKOVA^{a, b}, I. P. EDIMECHEVA^b, A. A. SOSNOVSKAYA^b, O. I. SHADYRO^{a, b}

^aBelarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

^bResearch Institute for Physical Chemical Problems, Belarusian State University,
14 Lieninhradskaja Street, Minsk 220006, Belarus

Corresponding author: A. A. Sladkova (sladkova-an@yandex.ru)

A new way of the free radical ROS- and HOCl-induced destruction of serine, threonine, and their peptide derivatives due to the nitrogen-centered radicals formation and their subsequent decomposition with the side chain elimination has been established. It has been shown that substances with reducing properties are inhibitors of this process, while oxygen does not affect the probability of its occurrence. The data obtained are relevant for the development of novel approaches to the search for effective free radical processes regulators.

Key words: serine; threonine; free radical reactions; carbon skeleton destruction; biochemical reactions.

Введение

В живых системах исключительно важную роль играют свободнорадикальные процессы. Общеизвестно, что одноименные реакции в биообъектах инициируются, как правило, активными формами кислорода (АФК), образование которых происходит при физиологических процессах клеточного дыхания, защите организма от патогенов и др. [1; 2]. Однако реакции АФК неселективны, поэтому их гиперпродукция может приводить к различного типа повреждениям биомолекул и развитию ряда патологий [1; 3–5].

Аминокислоты серин (Ser) и треонин (Thr) чрезвычайно важны для функционирования биосистем в норме, а дисбаланс их катаболизма либо анаболизма может сопровождать опухолевые и другие заболевания [6; 7]. Катализируемое протеинкиназами фосфорилирование остатков Ser и Thr в составе белков, как правило, приводит к модификации структурных и функциональных свойств последних. Thr является незаменимой для человека и животных аминокислотой. Ser участвует в биосинтезе ряда других аминокислот, сфинголипидов, пуриновых и пиrimидиновых оснований. Остатки гидроксил-содержащих аминокислот играют значимую роль в активных центрах некоторых классов ферментов, участвуя в механизмах катализа и ориентации субстратов [6; 8; 9].

В настоящей работе представлены данные, которые указывают на возможность реализации процессов деструкции углеродного скелета Ser, Thr и содержащих остатки этих аминокислот дипептидов при действии инициаторов свободнорадикальных реакций (гамма-излучения, HOCl) на их водные растворы.

Методика эксперимента

В работе в качестве объектов исследования использованы (рис. 1) D,L-Ser (1), фосфат D,L-Ser (2), L-гомосерин (3), L-Thr (4), фосфат D,L-Thr (5), O-метил-L-Thr (6), D,L-аланин (Ala) (7), D,L-валин (Val) (8), L-Ala-L-Ser (9), L-Ser-L-Ala (10) фирмы *Sigma-Aldrich* (США), L-Thr-L-Thr (11), L-Thr-L-Val (12), L-Val-L-Thr (13), синтезированные по [10]. Структуры синтезированных дипептидов подтверждены с использованием ¹Н-ЯМР, ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии. Применялись L-цистеин (Cys) фирмы *Fluka* (США), раствор гипохлорита натрия (4–5 %) фирмы *Sigma-Aldrich*.

Растворы нужных соединений готовили на бидистиллированной воде. Необходимая величина pH достигалась прибавлением растворов хлорной кислоты и гидроксида натрия. Изучаемый материал помещали в ампулы и продували аргоном или кислородом в течение 45 мин, после чего ампулы запаивали. Приготовленные образцы облучали на γ -установке с источником излучения ⁶⁰Со, мощность дозы ($0,39 \pm 0,01$) Гр · с⁻¹. Интервал поглощенных доз 0,47–1,87 кГр. HOCl-индуцированные превращения Thr и Ser в водных растворах проводили при комнатной температуре. Концентрацию добавляемого раствора HOCl рассчитывали из данных оптической плотности, измеренной при 292 нм ($\epsilon_{292}^{[OCl]} = 350$ л/(моль · см)) в щелочных растворах NaOCl (100 ммоль/л NaOH, pH 12) [11].

Анализ карбонильных продуктов свободнорадикальных превращений осуществляли методом высокоеффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с УФ-детектированием на хроматографе LCMS-2020 (*Shimadzu*, Япония) после проведения реакции карбонильных соединений с 2,4-динитрофенил-

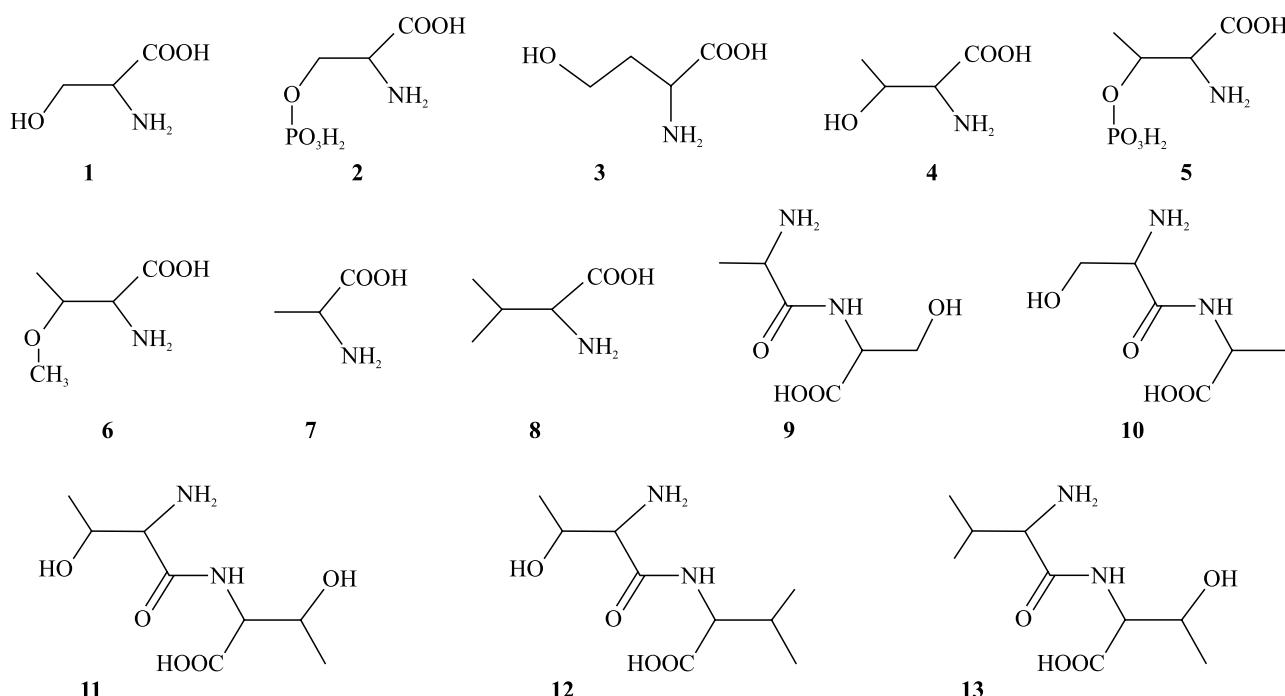


Рис. 1. Структурные формулы исследованных соединений

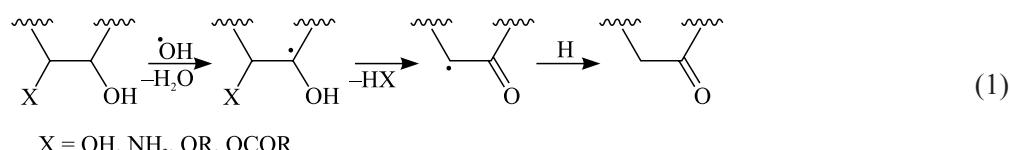
Fig. 1. Structures of the compounds under study

гидразином ($\lambda = 366$ нм). Глицин в облученных растворах аминокислот определяли методом ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием (положительная электросpray-ионизация), используя режим мониторинга заданного иона ($m/z = 76,07$). Концентрацию неорганического фосфата в растворах фосфатов аминокислот устанавливали спектрофотометрическим методом [12]. Анализ CO_2 в облученных растворах исследуемых соединений проводили методом газожидкостной хроматографии с кондуктометрическим детектированием на хроматографе GC-2010 с системой автоматической парофазной задачи пробы AOC5000 (*Shimadzu*). Для определения метанола и метилэтилового эфира в облученных растворах О-метил-Thr использовали газожидкостный хроматограф GC-17A (*Shimadzu*) с пламенно-ионизационным детектированием.

Радиационно-химические выходы G (молекула/100 эВ) образования веществ вычисляли исходя из данных по их накоплению в зависимости от поглощенной дозы γ -излучения при условии линейности ($y = kx$ либо $y = kx + b$). Приведенные в работе величины G получены усреднением результатов не менее трех независимых экспериментов. Данные всех экспериментов представлены в виде $x \pm \Delta x$, где x – среднее значение; Δx – ошибка среднего. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение

Из большого разнообразия свободнорадикальных процессов, которые могут приводить к повреждению биологически важных соединений, наиболее изученными являются процессы перекисного окисления липидов, в результате которых в молекулах липидов трансформируются остатки полиненасыщенных жирных кислот с образованием токсических продуктов окисления и окислительной деструкции [13; 14]. В работах кафедры радиационной химии и химико-фармацевтических технологий БГУ показано, что в условиях пониженного содержания кислорода возможна реализация свободнорадикальных реакций фрагментации гидроксилсодержащих органических соединений, которые протекают через стадию образования углеродцентрированных радикалов [15–17]:



В случае Ser и Thr реакция (1) приводит к их дезаминированию, не затрагивающему углеродный скелет исходных молекул [16]. Наряду с дезаминированием при радиолизе аминокислоты подвергаются также декарбоксилированию, которое осуществляется за счет деструкции в них C—C-связи [18–20].

Представляет интерес установить возможности и закономерности протекания других (помимо декарбоксилирования) типов гомолитической деструкции углеродного скелета гидроксилсодержащих аминокислот и их производных.

Для определения влияния α , β -аминоспиртового фрагмента в структуре Ser и Thr на их способность подвергаться γ -индуцированным превращениям, сопровождающимся разрывом углерод-углеродной связи, а также для сравнения не содержащих данного фрагмента Val и Ala при различных значениях pH среды был проведен радиолиз деаэрированных водных растворов Ser и Thr. Экспериментальные данные по образованию основных продуктов радиолиза водных растворов исследуемых аминокислот и их производных представлены в табл. 1.

Таблица 1

Значение G основных продуктов деструкции при радиолизе 0,01 моль/л деаэрированных водных растворов ряда аминокислот и их производных, молекула/100 эВ

Table 1

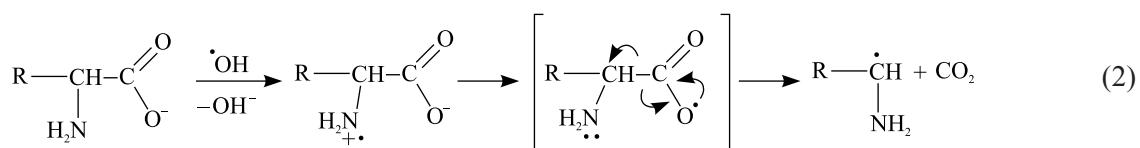
Radiation chemical yield G of the main degradation products formed during the radiolysis of 0.01 mol/L deaerated aqueous solutions of a number of amino acids and their derivatives, molecule/100 eV

Исходное вещество	Продукты радиолиза	pH		
		7,0	9,5	12,0
Ala (7)	CO ₂	0,93 ± 0,09	1,83 ± 0,19	2,42 ± 0,20
	Ацетальдегид	0,052 ± 0,007	0,20 ± 0,02	0,43 ± 0,05
Val (8)	CO ₂	0,30 ± 0,03	1,35 ± 0,10	1,50 ± 0,14
	Изобутиральдегид	0,020 ± 0,005	0,050 ± 0,008	0,13 ± 0,03
Ser (1)	CO ₂	2,38 ± 0,19	3,19 ± 0,32	1,78 ± 0,20
	Формальдегид	0,010 ± 0,003	0,12 ± 0,01	0,70 ± 0,06
	Ацетальдегид	0,32 ± 0,04	0,40 ± 0,05	0,20 ± 0,02
	Гликоловый альдегид	0,021 ± 0,005	0,060 ± 0,011	Н/д
	Gly	Н/д	0,071 ± 0,010	0,22 ± 0,02
Thr (4)	CO ₂	2,12 ± 0,15	2,40 ± 0,28	1,23 ± 0,10
	Ацетальдегид	0,050 ± 0,005	0,61 ± 0,06	1,49 ± 0,15
	Пропионовый альдегид	0,020 ± 0,004	0,21 ± 0,03	0,09 ± 0,01
	Ацетон	0,19 ± 0,03	0,08 ± 0,01	0,061 ± 0,015
	Gly	Н/д	0,060 ± 0,007	0,36 ± 0,09
Фосфат Ser* (2)	Ацетальдегид	0,13 ± 0,03	0,99 ± 0,01	1,21 ± 0,01
	Неорганический фосфат	2,04 ± 0,29	1,97 ± 0,12	2,02 ± 0,13
Гомосерин (3)	Формальдегид	Н/д	Н/д	–
	Ацетальдегид	Н/д	Н/д	–
Фосфат Thr* (5)	Ацетальдегид	–	Н/д	–
	Пропионовый альдегид	–	0,61 ± 0,04	–
	Ацетон	–	Н/д	–
	Неорганический фосфат	–	2,02 ± 0,28	–
O-метил-Thr (6)	CO ₂	1,16 ± 0,30	1,70 ± 0,20	3,44 ± 0,38
	Ацетальдегид	Н/д	Н/д	Н/д
	Пропионовый альдегид	Н/д	0,10 ± 0,03	0,070 ± 0,007
	Метанол	–	1,10 ± 0,20	0,91 ± 0,07
	Метилэтиловый эфир	Н/д	Н/д	Н/д

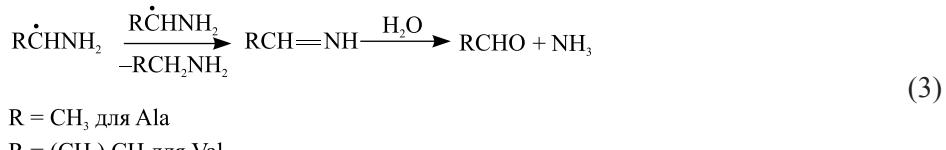
Примечания: 1. Н/д – продукт не детектируется. 2. * – для 0,1 моль/л деаэрированных водных растворов субстрата.

Как следует из табл. 1, основные продукты разрушения углеродного скелета молекул при радиолизе Ala (7) и Val (8) образуются в результате их декарбоксилирования. Введение в структуру аминокислоты гидроксильной группы, т. е. переход к Ser (1) и Thr (4), приводит к увеличению по сравнению с Ala и Val набора продуктов деструкции. Появляются вещества, образующиеся за счет отщепления бокового фрагмента от молекул исходных соединений. Это формальдегид и Gly – при радиолизе Ser, ацетальдегид и Gly – при радиолизе Thr. При этом процессы C—C-деструкции всех исследованных аминокислот интенсифицируются в щелочных растворах. В случае Val и Ala увеличиваются выходы CO₂, а Ser и Thr с ростом pH растворов более эффективно подвергаются деструкции с отщеплением боковой цепи молекул.

Согласно [18; 19], радиационно-индуцированное декарбоксилирование аминокислот протекает через стадию образования аминиевых катион-радикалов, данный процесс интенсифицируется в щелочных средах. При этом OH-радикалы, образующиеся при радиолизе воды, взаимодействуют с непротонированными аминогруппами аминокислот по реакции переноса электрона за счет так называемого SET-механизма (single electron transfer). Цвиттер-ион-радикалы трансформируются за счет переноса электрона, образуя кислородцентрированные радикалы, способные в результате β -расщепления элиминировать CO₂ и RCH₂•HNH₂ (схема (2)). Последние были обнаружены методом импульсного радиолиза [20].

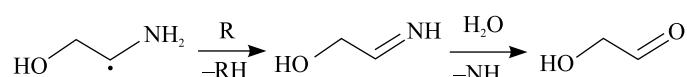


В нейтральных растворах аминогруппы аминокислот протонированы и аминиевые катион-радикалы могут образовываться за счет отрыва от них атома водорода по НАТ-механизму (hydrogen atom transfer). Данный процесс менее вероятный, чем перенос электрона, что подтверждает наблюдаемое нами уменьшение выходов CO₂ и альдегидов (см. табл. 1) при радиолизе Ala и Val в нейтральных растворах по сравнению со щелочными. Альдегиды в данном случае образуются из частиц RCH₂•HNH₂ по схеме:

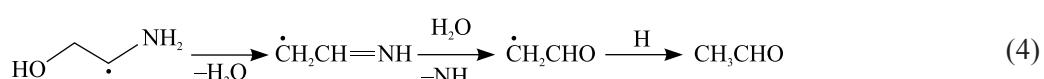


Образование диоксида углерода при радиолизе Ser и Thr интенсивнее при pH 9,5, чем в более щелочной среде (см. табл. 1). Это может быть связано с протеканием в щелочных средах нескольких конкурирующих процессов фрагментации данных аминокислот, ключевой стадией которых является образование радикального центра на атоме азота аминогруппы исходных молекул.

При реакции (2) для гидроксилсодержащих аминокислот наряду с CO₂ образуются радикалы R'CH(OH)C•HNH₂. В случае Ser (R' = H) они могут вступать в реакцию диспропорционирования, приводящую к появлению гликолевого альдегида:

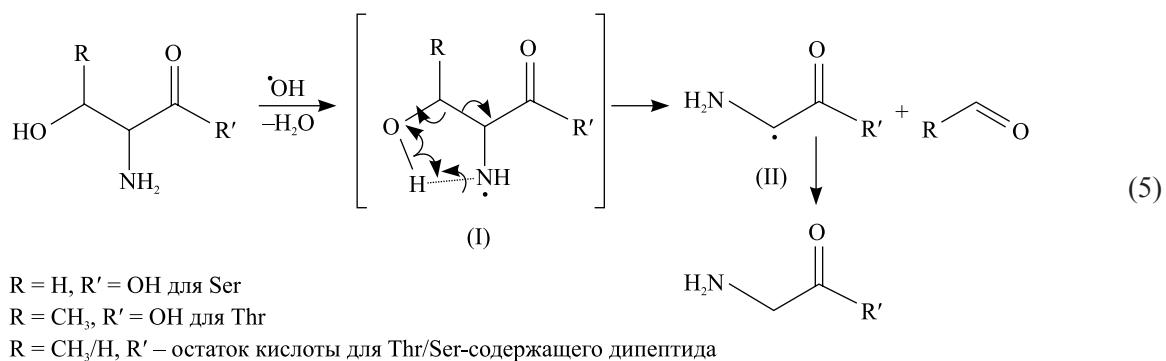


– либо в реакцию фрагментации с образованием ацетальдегида:



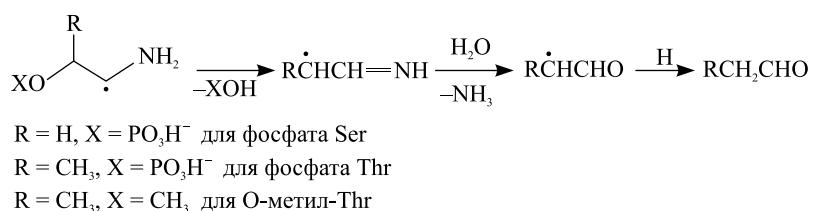
При радиолизе водных растворов Thr (R' = CH₃) реакция, аналогичная (4), может обусловить появление пропионового альдегида. Уменьшение выходов последнего в сильнощелочных средах (см. табл. 1) коррелирует с уменьшением выходов CO₂.

Среди продуктов радиолиза Ser и Thr обнаружены формальдегид и ацетальдегид соответственно. Еще одним продуктом радиационно-индуцированных превращений данных аминокислот с отщеплением боковой цепи является Gly. Нами предложен механизм образования данных продуктов элиминирования боковой цепи аминокислот и их производных через стадию генерации аминильных радикалов (I) (см. реакцию (5)) и последующего их распада с разрывом двух β -связей через пятичленное переходное состояние:



Восстановление радикалов типа (II) (формула (5)) приводит к накоплению Gly в растворах. Обязательным условием для радиационно-индуцированного образования альдегидов и Gly по реакции (5) при радиолизе Ser и Thr является наличие гидроксильной группы в β -положении по отношению к аминогруппе, причем данный процесс протекает предпочтительнее в щелочных средах (см. табл. 1), когда аминогруппа не протонирована и может участвовать в образовании водородной связи с OH-группой, а также становится более доступной для атаки электрофильного гидроксильного радикала. В случае Thr при pH 12,0 выходы ацетальдегида превышают выходы CO_2 , т. е. преимущественно реализуется процесс (5) (см. табл. 1). На основании экспериментальных данных табл. 1 можно сделать вывод, что при радиолизе водных растворов Ser и Thr процессы деструкции углеродного скелета (2) и (5) конкурируют между собой.

Для подтверждения предложенного механизма (5) отщепления боковой цепи гидроксилсодержащих аминокислот и их производных был проведен радиолиз O-замещенных производных Ser и Thr (2, 5, 6) (см. табл. 1). Установлено, что замена в аминокислоте атома водорода гидроксильной группы на метильную или фосфатную приводит к блокированию процесса отщепления бокового участка, так как в данном случае отсутствует необходимый для реализации процесса (5) α, β -аминоспиртовой фрагмент. В то же время радиационно-химические выходы CO_2 для O-метил-Thr (6) увеличиваются при переходе от нейтральных к щелочным средам, как и в случае радиолиза Ala и Val (см. табл. 1). Даный факт свидетельствует о том, что при блокировании процесса (5) производные гидроксилсодержащих аминокислот ведут себя так же, как и не содержащие гидроксильной группы аминокислоты: увеличение доли анионной формы аминокислоты в растворе и, соответственно, возможности образования радикального центра на атоме азота аминогруппы приводят к увеличению вероятности образования диоксида углерода. Образование неорганического фосфата и метанола, а также пропионового альдегида (в случае фосфата Thr (5) и O-метил-Thr) и ацетальдегида (в случае фосфата Ser (2)) (см. табл. 1) можно объяснить протеканием реакций декарбоксилирования исходных молекул и последующей фрагментации, аналогичной реакции дегидратации (4), в реализации которой участвуют α -аминосодержащие углерод-центрированные радикалы:



Как упоминалось ранее, процесс деструкции углеродного скелета типа (5) реализуется только в случае, когда амино- и гидроксильная группы в субстрате расположены вицинально. В гомосерине (3) подобный процесс деструкции не должен протекать, так как NH₂- и OH-группы разделены метиленовым фрагментом и из-за этого переходное пятичленное состояние образоваться не может. Действительно, возможные карбонильные продукты C—C-деструкции гомосерина – формальдегид и ацетальдегид – среди продуктов радиолиза этой аминокислоты обнаружены не были (см. табл. 1).

Следует отметить, что присутствие кислорода в облучаемых водных 0,1 моль/л растворах Thr и Ser (pH 7,4 или 12,0) не влияет на свободнорадикальную деструкцию углеродного скелета данных аминокислот с образованием альдегидов: радиационно-химические выходы ацетальдегида и формальдегида соответственно не изменились в пределах ошибки определения по сравнению с деаэрированными системами. Данное обстоятельство может служить подтверждением того, что продукты C—C-деструкции Thr и Ser образуются из азотцентрированных радикалов, которые не взаимодействуют с кислородом, поскольку, как известно, сами являются окислителями [21].

Присутствие же в облучаемых деаэрированных растворах Thr и Ser такого восстановителя, как Cys, в стократно меньшей концентрации, чем изучаемых аминокислот, приводило к значительному снижению выходов альдегидных продуктов отщепления их боковой цепи: в 2,3 и 3,9 раза в случае Ser (pH 11,0) и Thr (pH 7,0) соответственно. Следовательно, Cys может ингибиовать процесс C—C-деструкции α , β -аминоспиртового фрагмента аминокислот за счет восстановления аминильных радикалов Ser и Thr SH-группами.

При радиолизе дипептидов, в состав которых входят остатки Thr, как следует из экспериментальных данных (табл. 2), выходы ацетальдегида – продукта отщепления боковой цепи Thr-Thr (11) и Thr-Val (12) – значительны уже при pH 7,0. При переходе же от нейтральных к щелочным растворам выходы данного продукта деструкции существенно возрастают.

Таблица 2

Значения G продуктов C—C-деструкции боковой цепи, образующихся при радиолизе 0,1 моль/л деаэрированных водных растворов ряда дипептидов, молекула/100 эВ

Table 2

Radiation chemical yield G of products of the C—C-destruction of the side chain, which are formed during radiolysis of 0.1 mol/L deaerated aqueous solutions of a number of dipeptides, molecule/100 eV

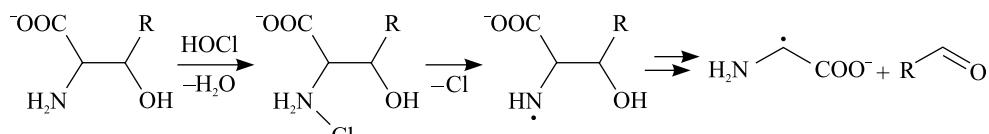
Исходное вещество	Продукт радиолиза	pH 7,0	pH 12,0
Thr-Thr (11)	Ацетальдегид	0,46 ± 0,04	1,32 ± 0,21
Thr-Val (12)		0,58 ± 0,05	1,36 ± 0,16
Val-Thr (13)		Н/д	Н/д
Ser-Ala* (10)	Формальдегид	0,34 ± 0,05	0,67 ± 0,05
Ala-Ser* (9)		Н/д	Н/д

Примечания: 1. Н/д – продукт не детектируется. 2. * – для 0,02 моль/л деаэрированных водных растворов дипептидов.

Среди продуктов радиолиза Val-Thr (13) и Ala-Ser (9) ацетальдегид и формальдегид соответственно не обнаружены. В то же время установлено, что формальдегид является основным карбонильным продуктом деструкции Ser-Ala (10) (см. табл. 2). Анализ полученных данных позволяет заключить, что только дипептиды, содержащие остаток Ser или Thr на N-концевом участке молекулы, подвергаются радиационно-индуцированной деструкции углеродного скелета с отщеплением боковых заместителей и образованием соответствующих альдегидов по схеме (5). Значение рKa производных аминокислот, содержащих амидную (пептидную) связь, как правило, на 1–2 единицы ниже, чем для самих аминокислот [22]. Поэтому, например, при радиолизе Thr-Thr, Thr-Val выходы продукта C—C-деструкции – ацетальдегида – значительны уже в нейтральных растворах ($G \sim 0,5$ молекула/100 эВ) (см. табл. 2) и выше соответствующего выхода для самого Thr (4) (ср. табл. 1).

Известно, что, кроме АФК, инициировать реакции превращения биомолекул могут активные формы хлора (АФХ). Так, при действии HOCl на водные растворы аминокислот образуются их неустойчивые N-хлорпроизводные. Последние могут распадаться с образованием азотцентрированных радикалов аминокислот, которые претерпевают дальнейшие превращения [21; 23]. Поэтому взаимодействие Ser и Thr с хлорноватистой кислотой было использовано как еще один способ генерирования аминильных радикалов этих аминокислот и установления возможности их последующего распада с элиминированием боковой цепи. Экспериментальные данные по образованию альдегидов при взаимодействии Ser и Thr с HOCl/OCl⁻ представлены на рис. 2 и 3, из которых видно, что при действии хлорноватистой кислоты на водные растворы Ser и Thr в качестве карбонильных продуктов образуются формальдегид и ацетальдегид соответственно – продукты деструкции аминокислот с отщеплением бокового фрагмента.

На основании экспериментальных и литературных данных предположено, что указанный процесс свободнорадикальной деструкции протекает через стадию образования хлорпроизводных, которые, гомолитически распадаясь, дают азотцентрированные радикалы и в последующем – продукты их C—C-деструкции:



R = H для Ser

R = CH₃ для Thr

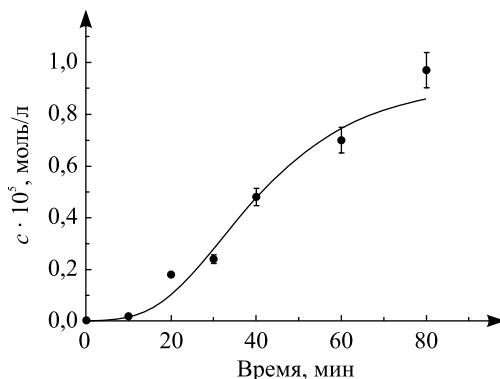


Рис. 2. Зависимость концентрации c формальдегида от времени взаимодействия Ser с HOCl/OCl^- (начальная концентрация 0,0125 моль/л) в его 0,01 моль/л водных растворах

Fig. 2. The dependence of formaldehyde concentration c on the time of interaction of Ser with HOCl/OCl^- (initial concentration 0.0125 mol/L) in its 0.01 mol/L solutions

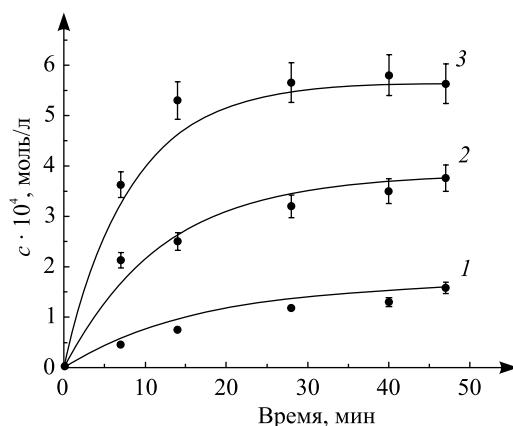


Рис. 3. Зависимость концентрации c ацетальдегида от времени взаимодействия Thr с HOCl/OCl^- (начальные концентрации 0,0025 (1), 0,005 (2) и 0,0075 (3) моль/л) в его 0,01 моль/л водных растворах

Fig. 3. The dependence of acetaldehyde concentration c on the time of Thr interaction with HOCl/OCl^- (initial concentrations 0.0025 (1), 0.005 (2) and 0.0075 (3) mol/L) in its 0.01 mol/L aqueous solutions

Известно, что такие низкомолекулярные альдегиды, как ацетальдегид и формальдегид, могут образовывать ковалентные аддукты с нуклеофильными частями макромолекул, выступать потенциальными канцерогенами и токсичными агентами [24; 25]. Интересно также отметить, что неферментативная деструкция Ser через образование азотцентрированных радикалов в соответствии с предлагаемой схемой (5), приводящей к образованию Gly и формальдегида, сходна с биоконверсией Ser, катализируемой ферментом Ser-гидроксиметилтрансферазой (SHMT). Последний является пиридоксальфосфат-зависимым ферментом, который в живых системах, в том числе и в организме человека, катализирует образование формальдегида и Gly из Ser. Одно из последствий данного превращения – образование $\text{N}^5, \text{N}^{10}$ -метиленитетрагидрофолиевой кислоты, которая служит донором одноуглеродного фрагмента в синтезе ряда биомолекул в норме и при патологии [7; 26–28]. Так, SHMT рассматривается как потенциальная мишень противоопухолевых и противомалярийных препаратов [29–32].

Установленный нами процесс (5) является новым свободнорадикальным путем деструкции гидроксилсодержащих аминокислот и их пептидных производных с отщеплением бокового фрагмента и образованием Gly, который необходимо учитывать при оценке роли гомолитических процессов повреждения биосистем.

Заключение

По совокупности полученных экспериментальных данных можно заключить, что процессы деструкции углеродного скелета Ser, Thr и дипептидов, содержащих остатки этих аминокислот на N-концевых участках молекул, протекают за счет распада азотцентрированных радикалов исходных субстратов. Для реализации таких OH- и HOCl-индуцированных процессов деструкции необходимым условием является наличие α, β -аминоспиртового фрагмента, который при атаке АФК и АФХ претерпевает гомолитический распад, протекающий с участием N-центрированных радикалов, что приводит к разрыву

С—С-связи. Результатом таких процессов является деструкция биомолекул с элиминированием боковой цепи и образованием биологически активных молекулярных продуктов (низкомолекулярных альдегидов, Gly).

Показано, что для ингибирования реакций свободнорадикальной С—С-деструкции гидроксилсодержащих аминокислот и их производных необходимо присутствие в растворе веществ, обладающих восстановительными свойствами, в то время как кислород не влияет на эти процессы.

Установленный новый свободнорадикальный процесс С—С-деструкции гидроксилсодержащих аминокислот необходимо учитывать при оценке роли гомолитических процессов в повреждении биосистем.

Библиографические ссылки

1. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. 5th edition. New York: Oxford University Press; 2015.
2. Sena LA, Chandel NS. Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species (review). *Molecular Cell*. 2012;48(2):158–167. DOI: 10.1016/j.molcel.2012.09.025.
3. Davies MJ. The oxidative environment and protein damage. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2005;1703(2):93–109. DOI: 10.1016/j.bbapap.2004.08.007.
4. Liou G-Y, Storz P. Reactive oxygen species in cancer (review). *Free Radical Research*. 2010;44(5):479–496. DOI: 10.3109/10715761003667554.
5. Robbins MEC, Zhao W. Chronic oxidative stress and radiation-induced late normal tissue injury: a review. *International Journal of Radiation Biology*. 2004;80(4):251–259. DOI: 10.1080/09553000410001692726.
6. Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM. Principles of biochemistry. 6th edition. New York: Worth Publishing; 2012.
7. Newman AC, Maddocks ODK. Serine and functional metabolites in cancer. *Trends in Cell Biology*. 2017;27(9):645–657. DOI: 10.1016/j.tcb.2017.05.001.
8. Cohen P. The origins of protein phosphorylation. *Nature Cell Biology*. 2002;4(5):E127–E130. DOI: 10.1038/ncb0502-e127.
9. Rawlings ND, Barrett AJ. Families of serine peptidases. *Methods in Enzymology*. 1994;244(26):19–61. DOI: 10.1006/abbi.1995.1227.
10. Сорокина ЮМ, Сладкова АА, Попова ЛА, Шадыро ОИ, Книжников ВА. Синтез дипептидов на основе валина и треонина. *Журнал органической химии*. 2012;48(10):1302–1306. DOI: 10.1134/S1070428012100065.
11. Morris JC. The acid ionization constant of HOCl from 5 to 35°. *Journal of Physical Chemistry*. 1966;70(12):3798–3805. DOI: 10.1021/j100884a007.
12. Gin FJ, Morales FJ. Application of a one-step procedure for measuring inorganic phosphate in the presence of proteins: the actomyosin ATPase system. *Analytical Biochemistry*. 1977;77(1):10–17. DOI: 10.1016/0003-2697(77)90284-6.
13. Niki E. Lipid peroxidation: Physiological levels and dual biological effects. *Free Radical Biology and Medicine*. 2009;47(5):469–484. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.05.032.
14. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal (review). *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2014;2014(6):1–31. DOI: 10.1155/2014/360438.
15. Edimecheva IP, Kisiel RM, Shadyro OI, Kazem K, Murase H. Homolytic cleavage of the O-glycoside bond in carbohydrates: a steady-state radiolysis study. *Journal of Radiation Research*. 2005;46(3):319–324. DOI: 10.1269/jrr.46.319.
16. Shadyro OI, Sosnovskaya AA, Vrublevskaya ON. C—N bond cleavage reactions on radiolysis of amino containing organic compounds and their derivatives in aqueous solutions. *International Journal of Radiation Biology*. 2003;79(4):269–279. DOI: 10.1080/0955300031000085902.
17. Shadyro OI, Yurkova IL, Kisiel MA, Brede O. Formation of phosphatidic acid, ceramide and diglyceride on radiolysis of lipids: identification by MALDI-TOF mass spectrometry. *Free Radical Biology and Medicine*. 2004;36(12):1612–1624. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.03.013.
18. Monig J, Chapman R, Asmus KD. Effect of the protonation state of amino group on the OH radical induced decarboxylation of amino acids in aqueous solution. *Journal of Physical Chemistry*. 1985;89(14):3139–3144. DOI: 10.1021/j100260a037.
19. Bonifacit M, Štefanic I, Hug GL, Armstrong DA, Asmus K-D. Glycine decarboxylation: the free radical mechanism. *Journal of the American Chemical Society*. 1998;120(38):9930–9940. DOI: 10.1021/ja9815428.
20. Hug GL, Carmichael I, Fessenden RW. Direct EPR observation of the aminomethyl radical during the radiolysis of glycine. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*. 2000;5(5):907–908. DOI: 10.1039/b002283g.
21. Pattison DI, Davies MJ, Asmus KD. Absolute rate constants for the formation of nitrogen-centred radicals from chloramines/amides and their reactions with antioxidants. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*. 2002;8:1461–1467. DOI: 10.1039/b202526d.
22. Ellenbogen EJ. Dissociation constants of peptides. IV. The isomeric alanylalanines. *Journal of the American Chemical Society*. 1956;78(2):369–372. DOI: 10.1021/ja01583a033.
23. Hawkins CL, Davies MJ. Reaction of HOCl with amino acids and peptides: EPR evidence for rapid rearrangement and fragmentation reactions of nitrogen-centred radicals. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*. 1998;998(9):1937–1945. DOI: 10.1039/a802949k.
24. O'Brien PJ, Siraki AG, Shangari N. Aldehyde sources, metabolism, molecular toxicity mechanisms, and possible effects on human health. *Critical Reviews in Toxicology*. 2005;35(7):609–662. DOI: 10.1080/10408440591002183.
25. LoPachin RM, Gavin T. Molecular mechanisms of aldehyde toxicity: a chemical perspective. *Chemical Research in Toxicology*. 2014;27(7):1081–1091. DOI: 10.1021/tx5001046.
26. Tabatabaie L, Klomp LW, Berger R, de Koning TJ. L-serine synthesis in the central nervous system: a review on serine deficiency disorders. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2010;99(3):256–262. DOI: 10.1016/j.ymgme.2009.10.012.

27. Locasale JW. Serine, glycine and one-carbon units: cancer metabolism in full circle. *Nature Reviews Cancer*. 2013;13(8):572–583. DOI: 10.1038/nrc3557.
28. Matthews RB, Drummond JT, Rao NA. Providing one-carbon units for biological methylations: mechanistic studies on serine hydroxymethyltransferase, methylenetetrahydro-folate reductase, and methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase. *Chemical Reviews*. 1990;90(7):1275–1290. DOI: 10.1021/cr00105a010.
29. Paiardini A, Fiascarelli A, Rinaldo S, Daidone F, Giardina G, Koes DR, et al. Screening and *in vitro* testing of antifolate inhibitors of human cytosolic serine hydroxymethyltransferase. *ChemMedChem*. 2015;10(3):490–497. DOI: 10.1002/cmde.201500028.
30. Daidone F, Florio R, Rinaldo S, Contestabile R, di Salvo ML, Cutruzzolà F, et al. *In silico* and *in vitro* validation of serine hydroxymethyltransferase as a chemotherapeutic target of the antifolate drug pemetrexed. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2011;46(5):1616–1621. DOI: 10.1016/j.ejmech.2011.02.009.
31. Schwertz G, Frei MS, Witschel MC, Rottmann M, Leartsakulpanich U, Chitnumsub P, et al. Conformational aspects in the design of inhibitors for serine hydroxymethyltransferase (SHMT): biphenyl, aryl sulfonamide, and aryl sulfone motifs. *Chemistry: A European Journal*. 2017;23(57):14345–14357. DOI: 10.1002/chem.201703244.
32. Schwertz G, Witschel MC, Rottmann M, Leartsakulpanich U, Chitnumsub P, Jaruwat A, et al. Potent inhibitors of plasmoidal serine hydroxymethyltransferase (SHMT) featuring a spirocyclic scaffold. *ChemMedChem*. 2018;13(9):931–943. DOI: 10.1002/cmde.201800053.

References

1. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. 5th edition. New York: Oxford University Press; 2015.
2. Sena LA, Chandel NS. Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species (review). *Molecular Cell*. 2012;48(2):158–167. DOI: 10.1016/j.molcel.2012.09.025.
3. Davies MJ. The oxidative environment and protein damage. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2005;1703(2):93–109. DOI: 10.1016/j.bbapap.2004.08.007.
4. Liou G-Y, Storz P. Reactive oxygen species in cancer (review). *Free Radical Research*. 2010;44(5):479–496. DOI: 10.3109/10715761003667554.
5. Robbins MEC, Zhao W. Chronic oxidative stress and radiation-induced late normal tissue injury: a review. *International Journal of Radiation Biology*. 2004;80(4):251–259. DOI: 10.1080/09553000410001692726.
6. Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM. Principles of biochemistry. 6th edition. New York: Worth Publishing; 2012.
7. Newman AC, Maddocks ODK. Serine and functional metabolites in cancer. *Trends in Cell Biology*. 2017;27(9):645–657. DOI: 10.1016/j.tcb.2017.05.001.
8. Cohen P. The origins of protein phosphorylation. *Nature Cell Biology*. 2002;4(5):E127–E130. DOI: 10.1038/ncb0502-e127.
9. Rawlings ND, Barrett AJ. Families of serine peptidases. *Methods in Enzymology*. 1994;244(26):19–61. DOI: 10.1006/abbi.1995.1227.
10. Sorokina YuM, Sladkova AA, Popova LA, Shadyro OI, Knizhnikov VA. Synthesis of dipeptides based on valine and threonine. *Journal of Organic Chemistry*. 2012;48(10):1302–1306. Russian. DOI: 10.1134/S1070428012100065.
11. Morris JC. The acid ionization constant of HOCl from 5 to 35°. *Journal of Physical Chemistry*. 1966;70(12):3798–3805. DOI: 10.1021/j100884a007.
12. Gin FJ, Morales FJ. Application of a one-step procedure for measuring inorganic phosphate in the presence of proteins: the actomyosin ATPase system. *Analytical Biochemistry*. 1977;77(1):10–17. DOI: 10.1016/0003-2697(77)90284-6.
13. Niki E. Lipid peroxidation: Physiological levels and dual biological effects. *Free Radical Biology and Medicine*. 2009;47(5):469–484. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.05.032.
14. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal (review). *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2014;2014(6):1–31. DOI: 10.1155/2014/360438.
15. Edimecheva IP, Kisel RM, Shadyro OI, Kazem K, Murase H. Homolytic cleavage of the O-glycoside bond in carbohydrates: a steady-state radiolysis study. *Journal of Radiation Research*. 2005;46(3):319–324. DOI: 10.1269/jrr.46.319.
16. Shadyro OI, Sosnovskaya AA, Vrublevskaya ON. C–N bond cleavage reactions on radiolysis of amino containing organic compounds and their derivatives in aqueous solutions. *International Journal of Radiation Biology*. 2003;79(4):269–279. DOI: 10.1080/0955300031000085902.
17. Shadyro OI, Yurkova IL, Kisel MA, Brede O. Formation of phosphatidic acid, ceramide and diglyceride on radiolysis of lipids: identification by MALDI-TOF mass spectrometry. *Free Radical Biology and Medicine*. 2004;36(12):1612–1624. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.03.013.
18. Monig J, Chapman R, Asmus KD. Effect of the protonation state of amino group on the OH radical induced decarboxylation of amino acids in aqueous solution. *Journal of Physical Chemistry*. 1985;89(14):3139–3144. DOI: 10.1021/j100260a037.
19. Bonifac M, Štefanić I, Hug GL, Armstrong DA, Asmus K-D. Glycine decarboxylation: the free radical mechanism. *Journal of the American Chemical Society*. 1998;120(38):9930–9940. DOI: 10.1021/ja9815428.
20. Hug GL, Carmichael I, Fessenden RW. Direct EPR observation of the aminomethyl radical during the radiolysis of glycine. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*. 2000;5(5):907–908. DOI: 10.1039/b002283g.
21. Pattison DI, Davies MJ, Asmus KD. Absolute rate constants for the formation of nitrogen-centred radicals from chloramines/amides and their reactions with antioxidants. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*. 2002;8:1461–1467. DOI: 10.1039/b202526d.
22. Ellenbogen EJ. Dissociation constants of peptides. IV. The isomeric alanylalanines. *Journal of the American Chemical Society*. 1956;78(2):369–372. DOI: 10.1021/ja01583a033.
23. Hawkins CL, Davies MJ. Reaction of HOCl with amino acids and peptides: EPR evidence for rapid rearrangement and fragmentation reactions of nitrogen-centred radicals. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*. 1998;998(9):1937–1945. DOI: 10.1039/a802949k.
24. O'Brien PJ, Siraki AG, Shangari N. Aldehyde sources, metabolism, molecular toxicity mechanisms, and possible effects on human health. *Critical Reviews in Toxicology*. 2005;35(7):609–662. DOI: 10.1080/1040844051002183.

25. LoPachin RM, Gavin T. Molecular mechanisms of aldehyde toxicity: a chemical perspective. *Chemical Research in Toxicology*. 2014;27(7):1081–1091. DOI: 10.1021/tx5001046.
26. Tabatabaie L, Klomp LW, Berger R, de Koning TJ. L-serine synthesis in the central nervous system: a review on serine deficiency disorders. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2010;99(3):256–262. DOI: 10.1016/j.ymgme.2009.10.012.
27. Locasale JW. Serine, glycine and one-carbon units: cancer metabolism in full circle. *Nature Reviews Cancer*. 2013;13(8):572–583. DOI: 10.1038/nrc3557.
28. Matthews RB, Drummond JT, Rao NA. Providing one-carbon units for biological methylations: mechanistic studies on serine hydroxymethyltransferase, methylenetetrahydro-folate reductase, and methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase. *Chemical Reviews*. 1990;90(7):1275–1290. DOI: 10.1021/cr00105a010.
29. Paiardini A, Fiascarelli A, Rinaldo S, Daidone F, Giardina G, Koes DR, et al. Screening and *in vitro* testing of antifolate inhibitors of human cytosolic serine hydroxymethyltransferase. *ChemMedChem*. 2015;10(3):490–497. DOI: 10.1002/cmde.201500028.
30. Daidone F, Florio R, Rinaldo S, Contestabile R, di Salvo ML, Cutruzzolà F, et al. *In silico* and *in vitro* validation of serine hydroxymethyltransferase as a chemotherapeutic target of the antifolate drug pemetrexed. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2011;46(5):1616–1621. DOI: 10.1016/j.ejmech.2011.02.009.
31. Schwertz G, Frei MS, Witschel MC, Rottmann M, Leartsakulpanich U, Chitnumsub P, et al. Conformational aspects in the design of inhibitors for serine hydroxymethyltransferase (SHMT): biphenyl, aryl sulfonamide, and aryl sulfone motifs. *Chemistry: A European Journal*. 2017;23(57):14345–14357. DOI: 10.1002/chem.201703244.
32. Schwertz G, Witschel MC, Rottmann M, Leartsakulpanich U, Chitnumsub P, Jaruwat A, et al. Potent inhibitors of plasmodial serine hydroxymethyltransferase (SHMT) featuring a spirocyclic scaffold. *ChemMedChem*. 2018;13(9):931–943. DOI: 10.1002/cmde.201800053.

Статья поступила в редакцию 27.11.2018.
Received by editorial board 27.11.2018.