

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 фотоллизе 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-

рах при pH 7, так как радиационно-индуцированные превращения Г1Ф моделируют процессы свободнорадикальной деструкции полярного участка молекул глицерофосфолипидов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве вещества, содержащего фосфоэфирную связь, в работе использовалась динатриевая соль глицеро-1-фосфата (гексагидрат) фирмы «Fluka» 90 % чистоты. Чистота исследуемых производных триптофана – триптамина, 5-гидрокситриптофана, серотонина и мелатонина, составляла не менее 98 % (Sigma). Структурные формулы использованных в работе соединений приведены на рисунке 1.

Приготовление растворов осуществлялось по методике, описанной в работе [4]. Концентрации тестируемых соединений составляли 10^{-3} моль/литр. Концентрация Г1Ф составляла 10^{-1} моль/литр. Облучение растворов осуществляли γ -квантами изотопа ^{60}Co на установке МРХ- γ -25М. Мощность дозы – $0,222 \pm 0,005$ Гр/с. Диапазон поглощенных доз составлял 0,1 – 0,95 кГр.

Для определения устойчивости тестируемых соединений по отношению к продуктам радиолитического распада воды в деаэрированных условиях готовили растворы добавок в фосфатном буфере (pH 7; 0,01 М K_2HPO_4 и KH_2PO_4). Концентрации растворов, их подготовка к облучению и само облучение были идентичны основному эксперименту.

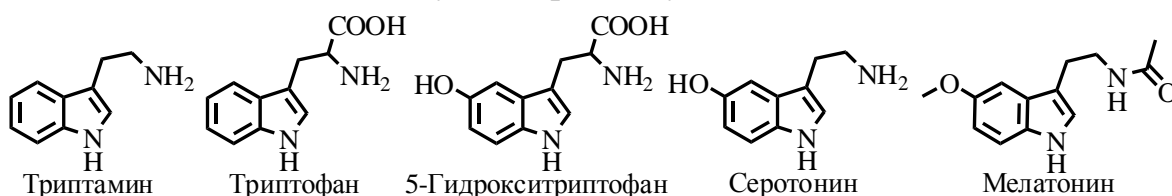


Рис.1. Структурные формулы использованных соединений

Неорганический фосфат в присутствии органического фосфата определяли реagentно-спектрофотометрически, используя модифицированную методику [5]. К 0,5 мл анализируемого раствора последовательно приливали 1 мл 1,8 % раствора $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$ в 1 М H_2SO_4 , 0,2 мл 10 % $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ в 0,075 М H_2SO_4 и 4 мл бидистиллированной воды. В раствор, используемый для сравнения, вместо 0,5 мл анализируемого образца добавляли такое же количество бидистиллированной воды. Затем полученную смесь перемешивали на шейкерном столе в течение 10 минут. Оптическую плотность растворов измеряли по максимуму поглощения при $\lambda = 720$ нм.

Концентрации добавок до и после облучения определяли спектрофотометрически на приборе Specord S600. Радиационно-химические выхо-

ды (G) образования неорганического фосфата и расходования тестируемых соединений рассчитывали на линейных участках зависимости концентраций веществ от поглощенной дозы с использованием метода наименьших квадратов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Неорганический фосфат является главным продуктом радиолиза Г1Ф в деаэрированных водных растворах при pH 7. Радиационно-индуцированное дефосфорилирование Г1Ф протекает по схеме, представленной на рисунке 2.

Подавление процессов дефосфорилирования в присутствии исследуемых веществ может определяться как конкуренцией добавок и Г1Ф при взаимодействии с продуктами радиолиза воды, так и взаимодействием производных триптофана с α -ГУР, образующимися в процессе радиолиза растворов Г1Ф.

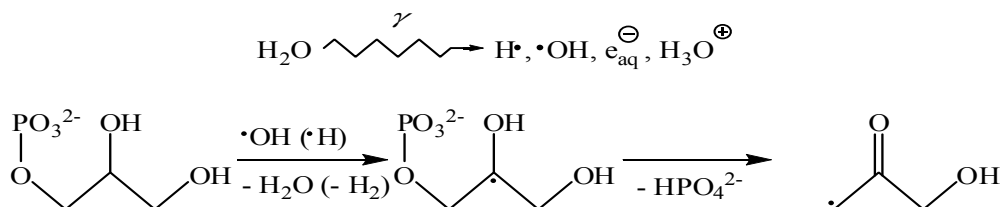


Рис.2. Радиационно-индуцированное дефосфорилирование Г1Ф в деаэрированных водных растворах

Нами было показано, что исследуемые соединения проявляют относительно высокую устойчивость по отношению к продуктам радиолиза воды (см. таблица 1). Кроме того, константы скорости реакций производных триптофана с ОН/Н-радикалами имеют порядок $10^{10} \text{ M}^{-1} \times \text{c}^{-1}$ [6] и сопоставимы с константами скорости реакции этих радикалов с Г1Ф [4]. Так как концентрация Г1Ф в растворах в 100 раз превышала концентрации добавок, то можно утверждать, что радикальные продукты радиолиза воды преимущественно реагируют с молекулами Г1Ф с образованием α -ГУР. Таким образом, влияние триптофана и его производных на радиационно-химическое дефосфорилирование Г1Ф должно быть обусловлено непосредственным взаимодействием добавок с α -ГУР Г1Ф.

Табл. 1

Устойчивость триптофана и его производных по отношению к продуктам радиолиза воды в деаэрированных условиях

Тестируемое соединение	Радиационно-химический выход разложения (G), молекула/100 эВ
Триптамин	0,06±0,48
Триптофан	0,12±0,03
5-Гидрокситриптофан	0,00±0,04
Серотонин	0,03±0,06
Мелатонин	0,14±0,03

Величины G образования неорганического фосфата и разложения исследуемых веществ представлены в таблице 2. В ходе радиационно-химического эксперимента нами было установлено, что исследуемые соединения ингибируют дефосфорилирование глицеро-1-фосфата, в 1,4-1,8 раза снижая выход неорганического фосфата в процессе радиолиза. При этом тестируемые вещества практически не разлагались. Это может указывать на способность исследуемых веществ регенерировать при взаимодействии с α -ГУР Г1Ф, либо свидетельствует о низкой селективности спектрофотометрического метода определения изменения концентрации исследуемых веществ.

Табл.2

Влияние производных триптофана на радиационно-индуцированные превращения Г1Ф в деаэрированных водных растворах при рН 7

Тестируемое соединение	Радиационно-химический выход (G), молекула/100 эВ	
	Неорганический фосфат	Разложение добавки
Без добавок	3,44±0,07	-
Триптамин	1,92±0,05	-0,22±0,06
Триптофан	2,10±0,10	-0,32±0,17
5-ОН-Триптофан	2,41±0,10	-0,15±0,06
Серотонин	1,87±0,06	-0,09±0,04
Мелатонин	2,09±0,12	-0,33±0,13

На кафедре радиационной химии и химико-фармацевтических технологий было показано [2, 3], что триптофан и его производные ингибируют превращения α -ГЭР, преимущественно, путем присоединения последних. Поэтому наблюдаемое в присутствии тестируемых веществ снижение G неорганического фосфата, вероятнее всего, обусловлено присоединением α -ГУР Г1Ф к молекулам триптофана и его производных до того как происходит радиационно-индуцированная деструкция органического фосфата.

Таким образом, при радиолизе 10^{-1} М деаэрированных водных растворов Г1Ф было показано, что триптофан и его производные способны подавлять радиационно-индуцированное дефосфорилирование органических фосфатов за счет взаимодействия с их α -ГУР.

Литература

1. Yurkova I.L., Kisel M.A., Arnhold J., Shadyro O.I. Iron-mediated free-radical formation of signaling lipids in a model system // Chemistry and Physics of Lipids. 2005. Vol. 137, № 1-2. P. 29-37.
2. Бринкевич С.Д., Сverdlov Р.Л., Шадыро О.И. Влияние производных индола и имидазола на радиационно- и пероксидиндуцированные превращения этанола // Химия высоких энергий. 2013. Т. 47, № 1. С. 19-27.
3. Sverdlov R.L, Brinkevich S.D., Shadyro O.I. Effects of tryptophan derivatives and β -carboline alkaloids on radiation- and peroxide-induced transformations of ethanol // Radiation Physics and Chemistry. 2014. V. 98. P. 77-85.

4. Brinkevich, S.D., Shadyro O.I. Effects of Coenzyme Q0, Ascorbic Acid, and Its Glycoside on the Radiation-Induced Dephosphorylation of Organic Phosphates in Aqueous Solutions // High Energy Chemistry. 2009. Vol. 43, № 6. P. 435-439.
5. Lin T.-I., Morales M. F. Application of a One-Step Procedure for Measuring Inorganic Phosphate in the Presence of Proteins: The Actomyosin ATPase System // Analytical Biochemistry. 1977. P. 10-17.
6. Пикаев А.К., Кабакчи С.А. Реакционная способность первичных продуктов радиолиза воды. М.: Энергоиздат, 1982. – 201 с.

АНТИ- И ПРООКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ЭКСТРАКТОВ ФИТОКОМПОЗИЦИЙ ДЛЯ ЧАЙНЫХ НАПИТКОВ

**К. Д. Лешкова, Е. В. Мечковская, Т. А. Мадзиевская,
С. И. Михнова, Г. Н. Семенкова**

Одним из способов борьбы с синдромом хронической усталости у взрослых и детей является использование фитопрепаратов, изготавливаемых на основе растительных экстрактов. В «Научно-технологическом парке» и на предприятии «Унитехпром» БГУ разрабатываются комбинированные составы серии функциональных напитков общеукрепляющего свойства, предназначенных для детей старшего и среднего школьного возраста и студентов. Поскольку одной из причин развития синдрома хронической усталости может быть оксидативный стресс, приводящий к нарушению иммунных реакций организма, нами исследованы анти- и прооксидантные свойства фитодобавок к разрабатываемым напиткам с целью определения их иммуномодулирующих свойств.

Методом хемилюминесценции (ХЛ) с использованием люминола в качестве эмиттера свечения изучено влияние водных экстрактов фитоконпозиций, используемых при создании сухих функциональных напитков на свободнорадикальные процессы в модельных системах: люминол – пероксид водорода, люминол – гипохлорит натрия; люминол – пероксид водорода – миелопероксидаза (МПО) в галогенирующем (рН = 6,0) и оксидазном (рН = 7,4) циклах этого фермента. МПО выделяли из нейтрофилов крови здоровых людей по стандартной методике. В работе исследованы следующие фитоконцентраты: сухой чай, содержащий порошок яблочной выжимки (более 50 %), чай каркаде, чай черный, ржаной ферментированный солод (3 %); сухая обогатительная добавка, которая включает витамины РР, В6, В9, инолин, глюкозу.

На рисунке 1 показано влияние водных экстрактов исследуемых фитоконцентратов на суммарный выход ХЛ в реакциях окисления люминола пероксидом водорода (А) и (Б) и гипохлоритом натрия (В), а на рисунке 2 – в миелопероксидазной реакции в оксидазном и галогенирующем циклах.