

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ИНДОЛА НА РАДИАЦИОННО-ХИМИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ НАСЫЩЕННОГО КИСЛОРОДОМ ЭТАНОЛА

А. Н. Кожемякина, И. А. Ковалев, Р. Л. Свердлов, С. Д. Бринкевич

ВВЕДЕНИЕ

Свободные радикалы постоянно генерируются в человеческом организме и участвуют в различных физиологически важных реакциях. Исследования показали, что их количество в организме увеличивается, когда клетки подвергаются вредному воздействию окружающей среды. В результате нарушается нормальный ход физиологических процессов в организме, происходит гиперпродукция активных форм кислорода и, как следствие, активация свободнорадикальных процессов, приводящих к повреждению биологически важных молекул. При этом нарушается правильное функционирование тканей и органов организма, провоцируются воспалительные процессы, разрушается иммунная система человека [1,2].

Ранее было показано, что реакции фрагментации α -гидроксилсодержащих углеродцентрированных радикалов (α -ГУР), являются причиной деструкции полисахаридов, фосфолипидов, церебразидов, приводят к образованию сигнальных молекул, участвующих в апоптозе и пролиферации клеток [3, 4]. На кафедре радиационной химии и химико-фармацевтических технологий было установлено, что производные индола способны ингибировать превращения простейших α -ГУР – α -гидроксиэтильных радикалов (α -ГЭР) за счет их окисления или восстановления в деаэрированных условиях [5]. Однако в клетках α -ГУР быстро взаимодействуют с кислородом, в результате чего, образуются пероксильные радикалы биомолекул, которые также претерпевают фрагментацию. Для изучения способности производных индола ингибировать реакции α -ГУР в присутствии кислорода нами был изучен радиолиз насыщенных кислородом этанольных растворов тестируемых веществ. Подобная модель позволяет оценить реакционную способность и установить механизм взаимодействия исследуемых веществ как по отношению к углерод- так и кислородцентрированным радикалам.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе без предварительной очистки использовались пиррол, индол, гарман, гармин, гармалин, серотонин, мелатонин, 5-гидрокси-триптофан (Sigma-Aldrich), триптофан (ICN Pharmaceuticals, Inc.), чистотой не менее 98 % (рис. 1).

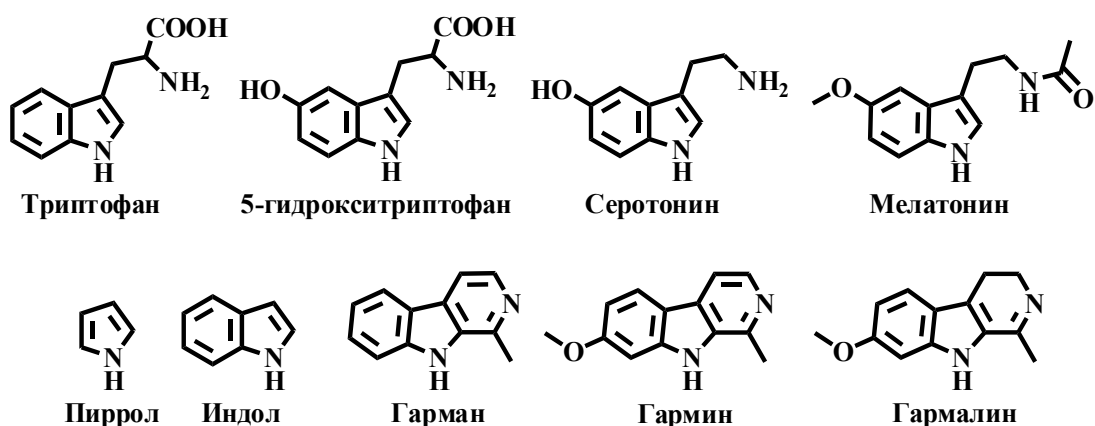


Рис. 1. Структурные формулы использованных соединений

Растворы исследуемых соединений получали путем растворения их точных навесок в насыщенном кислородом этаноле. В силу высокой летучести растворителя для приготовления оксигенированных растворов тестируемых соединений в этаноле с концентрацией 10^{-3} моль/л (5×10^{-4} моль/л для триптофана) была использована следующая методика. Растворы продували кислородом высокой степени чистоты (99,9 %) в пикнометрах в течение 60 мин, после чего объем испарившегося растворителя компенсировали оксигенированным этанолом. Затем растворы перемешивали. Предварительно продутые кислородом ампулы заполняли растворами не более чем на 60 % и запаивали. Свободнорадикальные реакции в растворах добавок инициировали γ -излучением изотопа ^{60}Co на установке МРХ- γ -25М.

Качественный и количественный анализ осуществляли хроматографическими и спектрофотометрическими методами. Образующийся при радиоллизе этанола ацетальдегид определяли газохроматографическим методом на хроматографе GC-17A фирмы «Shimadzu» с использованием кварцевой капиллярной колонки Stabilwax-DA: $l=30$ м, внутренний диаметр – 0,53 мм, толщина пленки неподвижной фазы – 1 мкм. Для определения пероксида водорода использовали реагентоспектрофотометрический метод, основанный на образовании желтого комплекса пероксида водорода с сульфатом титанила в сернокислом растворе [6]. Измерения проводили на спектрофотометре Specord S600. Для идентификации продуктов радиационно-индуцированных превращений производных индола и определения концентраций добавок использовали жидкостной хроматограф «Shimadzu», укомплектованный масс-спектрометром LCMS-2020 [5]. Радиационно-химические выходы (G) образования продуктов или расходования исходных веществ рассчитывали на линейных участках зависимостей их концентраций от поглощенной дозы с использованием метода наименьших квадратов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Радиолиз оксигенированного этанола (рис. 2) приводит к образованию α -ГЭР (реакции 1, 2), взаимодействие которых с кислородом приводит к образованию ацетальдегида и гидропероксильных радикалов (реакция 3). Основными продуктами при радиолизе оксигенированного этанола являются ацетальдегид (АА) и пероксид водорода (ПВ) (реакции 3–5) [7].

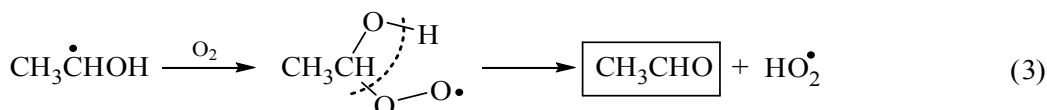
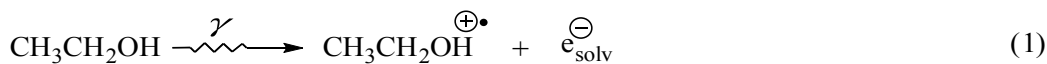


Рис. 2. Схема радиационно-химических превращений этанола в присутствии кислорода

Характер влияния тестируемых соединений на величину и соотношение G основных продуктов радиолиза оксигенированного этанола (ПВ и АА) определяется реакционной способностью и механизмом взаимодействия исследуемых соединений с углерод- и кислородцентрированными радикалами. Экспериментальные данные, представленные в таблице, свидетельствуют о том, что пиррол, индол и мелатонин незначительно влияют на G ПВ и АА. Это указывает на их низкую реакционную способность по отношению к углерод- и кислородцентрированным радикалам этанола. В присутствии триптофана, серотонина и 5-гидрокси-триптофана наблюдается почти двукратное снижение G как ПВ, так и АА. Следовательно добавки способны восстанавливать либо присоединять α -ГЭР. Для гармана, гармина и гармалина отмечено снижение G ПВ, при этом G АА остается на уровне, наблюдаемом для системы без добавок. Вероятно гарман, гармин и гармалин способны конкурировать с кислородом за окисление α -ГЭР. Методом жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием не были обнаружены продукты превращений тестируемых веществ при радиолизе их оксигенированных этанольных растворов. Последнее в совокупности с низкими G разложения тестируемых веществ (см. таблица) указывает на возможность регенерации добавок при их взаимодействии с α -ГЭР.

**Влияние производных индола
на радиационно-индуцированные превращения оксигенированного этанола**

Тестируемые соединения	Ацетальдегид	Пероксид водорода	Разложение добавки
Радиационно-химический выход (G), молекула/100 эВ			
Без добавок	5,85 ± 0,46	5,81 ± 0,42	-
Пиррол	4,79 ± 0,42	6,58 ± 0,92	-0,28 ± 0,07
Индол	7,41 ± 0,72	7,64 ± 0,86	-0,14 ± 0,13
Гарман	5,82 ± 0,72	4,75 ± 0,76	-0,08 ± 0,09
Гармин	5,34 ± 0,48	3,69 ± 0,44	-0,13 ± 0,11
Гармалин	5,25 ± 0,52	3,29 ± 0,28	-0,19 ± 0,10
Серотонин	2,41 ± 0,25	2,42 ± 0,24	-0,04 ± 0,05
Триптофан	2,91 ± 0,29	3,68 ± 0,56	-0,24 ± 0,17
5-гидрокситриптофан	2,62 ± 0,29	3,48 ± 0,39	-0,05 ± 0,09
Мелатонин	5,09 ± 0,43	5,75 ± 0,57	-0,15 ± 0,08

Таким образом в настоящей работе установлено, что пиррол, индол и мелатонин обладают низкой реакционной способностью, а триптофан, 5-гидрокситриптофан и серотонин восстанавливают α -гидроксиэтильные радикалы, образующиеся при радиационно-индуцированных превращениях насыщенного кислородом этанола. При тех же условиях гарман, гармин и гармалин окисляют α -гидроксиэтильные радикалы.

Литература

1. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Free radicals in biology and medicine. Oxford: University press, 1999.
2. Sibel S. Antioxidant activities of synthetic indole derivatives and possible activity mechanism // Topics in Heterocyclic Chemistry. 2007. Vol. 11. P. 145–178.
3. 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.
4. Shadyro O. I., Yurkova I. L., Kisel M. A., Brede O., Arnhold J. Radiation-induced fragmentation of cardiolipin in a model membrane. // Int. J. Radiat. Biol. 2004. V. 80. № 3. P. 239.
5. Бринкевич С. Д., Свердлов П. Л., Шадыро О. И. Влияние производных индола и имидазола на радиационно- и пероксид-индуцированные превращения этанола // Химия высоких энергий. 2013. Т. 47. С. 19–27.
6. Egerton A. C. The analysis of combustion products: Some improvements in the methods of analysis of peroxides // Anal. Chim. Acta. 1954. Vol. 10. P. 422–428.
7. Freeman G. R. Radiation chemistry of ethanol: A review of data on yields, reaction rate parameters, and spectral properties of transients. Washington: NBS. 1974.