

УДК 543.637.4

ФАКТОРЫ, ИЗМЕНЯЮЩИЕ РАДИОПРОТЕКТОРНУЮ АКТИВНОСТЬ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Шарифуллина Л.Р.

НОУ ВПО «Московский технологический институт ВТУ»,
Москва, e-mail: lr_sharifullina@mti.edu.ru

Анализируются накопленные данные о влиянии различных факторов на изменение антиоксидантных и радиопротекторных свойств биологически активных соединений, имеющих полифенольную структуру. Определение эффективности в обеспечении противолучевой терапии полифенольных соединений может достигаться различными физико-химическими способами. Показано влияние таких факторов, как структура флавоноида (расположение ОН-групп), кислотно-щелочное состояние раствора (рН), присутствие ионов некоторых металлов, с которыми образуются комплексные соединения. Выявленные факторы влияют на степень взаимодействия биологически активных соединений с активными формами кислорода, что и обуславливает антиоксидантный и радиопротекторный эффект исследуемых соединений. Также рассматривается возможность исследования противолучевого действия полифенольных веществ растительного происхождения – флавоноидов – различными физико-химическими методами анализа, позволяющими прямыми или косвенными способами определять их способность к окислению.

Ключевые слова: радиопротекторная активность, антиоксиданты, флавоноиды, полифенольные соединения

FACTORS, CHANGE THE RADIATION PROTECTION ACTIVITY OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS

Sharifullina L.R.

Moscow Technological Institute «WTU», Moscow, e-mail: lr_sharifullina@mti.edu.ru

This article analyses the collected data on the impact of different factors on changes in antioxidant and radioprotective properties of biologically active compounds, with polyphenolic structure. Definition of efficiency in the provision of against ionizing radiation therapy polyphenolic compounds can be achieved by various physical and chemical methods. Shown the influence of such factors as the structure of flavonoid (the location of OH-groups), acid-base status of the solution (pH), the presence of certain metals, which are formed complex compounds. The identified factors affect the degree of interaction of biologically active compounds with the active forms of oxygen, which causes the antioxidant and radioprotective effect of the studied compounds. Also consider the possibility of research against ionizing radiation actions polyphenolic substances of plant origin – of flavonoids various physical and chemical methods of analysis, allowing direct or indirect means to determine their ability to oxidation.

Keywords: radioprotection activity, antioxidants, flavonoids, polyphenolic compounds

Многообразие защитных реакций и полифункциональная активность флавоноидов широко используется в противолучевой терапии. Однако роль полифенольных соединений в изменении различных сторон клеточного метаболизма полностью не выяснена. Существуют данные, которые указывают на наличие других, недостаточно изученных механизмов действия антиоксидантной активности в живых организмах после облучения. Полифенольные соединения являются активными акцепторами свободно-радикальных частиц ($e^-_{ак}$, OH, O_2^- , $R^\cdot$, $RO_2^\cdot$), т.е. могут осуществлять защиту организма за счет регулирования скорости перекисного окисления липидов.

В нашей работе мы попытаемся выяснить, какие факторы могут изменять радиопротекторную активность полифенольных соединений.

Обсуждение результатов

На структуру и свойства флавоноида сильно влияет рН раствора. Полагают, что протоны вызывают возмущение энергетических уровней молекулы, в результате чего

изменяется абсорбция и окраска флавоноидов. С увеличением рН комплекс становится более темной окраски.

Известно, что фенольные соединения играют важную роль в обмене веществ растений. Окисление фенольного соединения в биологических системах катализируется некоторыми ферментами, такими как полифенолоксидаза и пероксидаза с образованием свободного радикала, хинона или семихинона. В этой форме фенолы способны участвовать в переносе электрона или атома Н в окислительно-восстановительной цепи, включающей цитохромы и другие белки-переносчики. Полифенольные соединения под действием света могут окисляться хлоропластом. Это окисление осуществляет анион-радикал O_2^- или радикалы, образованные при перекисном окислении липидов. Предполагается, что в этой реакции окисления участвуют пероксидаза и супероксиддисмутаза. Также научно доказано, что кверцетин является ингибитором переноса электрона, подавляя синтез АТФ.

Флавоноиды существуют в нескольких формах: свободной, гликозидированной

и в комплексе с металлами. В ряде работ проводилось сравнение физиологического действия свободной и гликозидной форм флавоноида. Увеличение концентрации рутина почти на порядок (в отличие от кверцетина) оказало более слабое ингибирующее действие на активность клеточных ферментов, чем у кверцетина [4]. Исследования влияния природных флавоноидов на фотосинтетическую ассимиляцию CO_2 изолированными хлоропластами шпината показали, что наибольшее ингибирование фотосинтеза (70–80%) замечено в присутствии кверцетина ($C_{gr} = 2,5 \cdot 10^{-5} \text{ М/л}$). Рутин той же концентрации ингибировал процесс фотовосстановления и транспорт электронов лишь на 40%. При низких же концентрациях рутин слабо подавляет восстановление акцептора электронов и нециклическое фотовосстановление. Снижение реакционной способности рутина можно объяснить наличием сахаров в его молекуле. Известно, что сахара создают стерический барьер для взаимодействия с ферментом. Рутин ускоряет переход радиоактивной метки $^{14}\text{CO}_2$ из гексозофосфата в 3-фосфоглицериновую кислоту, увеличивая скорость регенерации рибулозо-1,5-дифосфата, в то время как кверцетин подавлял этот процесс на 60–80%.

Влияние структуры флавоноида (расположение ОН-групп) показано на примере морина и кверцетина. Молекула морина отличается от молекулы кверцетина мета-положением группы ОН в кольце «В». Однако это небольшое различие в структуре сильно сказывается на химических свойствах флавоноидов. Так, в метанольном растворе кверцетина на воздухе при $\lambda = 380\text{--}390 \text{ нм}$ наблюдаются сигналы оптического поглощения, имеющие колебательный характер. Возможно, под действием импульса электронов устанавливается равновесие между флавоном и его таутомером – дикетофлавоном. Последний, как известно, обуславливает появление двух максимумов в области 300–320 и 370–390 нм. В образовании такого таутомера принимает участие 3-оксигруппа, сопряженная с карбонилем. Предполагают, что первый максимум принадлежит флавонолу, 2-дикетофлавонолу.

Морин значительно слабее подавляет циклический и нециклический синтез АТФ и активирует транспорт электронов. В большом диапазоне рН морин уменьшает зачку протонов, увеличивая протонную проницаемость мембраны. Следовательно, в отличие от кверцетина эффект морина в хлоропластах при его физиологических концентрациях ($10^{-4} - 10^{-5} \text{ М}$) более мягкий. При облучении спиртовых растворов флавоноида потоком ускоренных электро-

нов в спектре поглощения кверцетина кроме снижения оптической плотности происходит гипсохромное смещение в УФ-область полосы с $\lambda_{\text{max}} = 374 \text{ нм}$ на 6–8 нм. При дальнейшем увеличении дозы это смещение остается постоянным, в интервале 290–320 нм появляется широкая бесструктурная полоса. В спектре морина наблюдается более сильное гипсохромное смещение полосы с $\lambda_{\text{max}} = 390 \text{ нм}$ до $\lambda = 367 \pm 2 \text{ нм}$ и изменение структуры полосы в области 265–280 нм. Подобное смещение полосы собственного поглощения до 365 нм наблюдается в вакуумированных необлученных метанольных растворах морина. При впуске кислорода в исходный образец происходит обратимое изменение спектра. Также изменение спектров позволило предположить образование лабильного комплекса с частичным переносом электронов от атома кислорода пиренового кольца на кислород 2^1 ОН группы морина и $3^1 - \text{ОН}$ группы кверцетина. Переносу заряда в молекуле способствует наличие водородных связей и стабилизация в спиртовых растворах комплексов флавонол/растворитель. В отличие от морина орто-положение ОН-группы кверцетина является менее энергетически выгодным для образования комплекса с O_2 , что видно по небольшому смещению полосы поглощения. Обратимая пострадиационная регенерация пигментов на воздухе свидетельствует о возможности использования флавоноида в качестве катализаторов окислительно-восстановительных реакций.

В работе [5] методами оптической спектрофотометрии исследованы структурные преобразования мальвина в растворах буфера водного ацетата в широком диапазоне рН, моделируя *in vitro* условия. Эти изменения показывают, что произошел процесс депротонирования структуры флавилиум-катиона, в результате образовалась окрашенная фаза. Образующаяся фаза обладает дополнительной двойной связью, что увеличивает число π -электронов относительно флавилиум-катиона, вызывая увеличение делокализации электронов, то есть, значительное bathochromic смещение основной полосы поглощения ($\lambda_{\text{max}} = 570 \text{ нм}$). При дальнейшем повышении рН, процесс депротонирования продолжается за счет кольца «В», что связано с появлением анионной формы мальвина.

Начало образования анионной формы указано смещением основной полосы поглощения ($\lambda_{\text{max}} = 610 \text{ нм}$) уже в нейтральной среде. Можно сказать, что депротонирование кольца «В» начинается в нейтральной среде, немедленно после депротонирования кольца «А». Эти реакции прекращаются при рН = 8.

Дополнительно к спектрофотометрическим исследованиям, проводили вольтамперометрические измерения, что позволяло не только изучить поведение и механизм redox-процессов флавоноидов, но и показать изменение ее антиоксидантных свойств [1]. Электронные спектры поглощения показывают, что структурные изменения флавоноидов, вызванные изменениями в pH среды, ведут к изменениям и вольтамперометрического поведения этой молекулы – смещению потенциалов восстановления в область меньших величин с ростом pH. Зависимость потенциала окисления флавоноидов от pH среды, что может быть объяснено присутствием других электроноактивных молекулярных структур соединения при других величинах pH, указывает на другие механизмы электродных процессов [2]. По результатам циклической вольтамперограммы соединений флавоноидов, согласующимся со спектрофотометрическими данными, выяснено, что это соединение обладает антиоксидантными свойствами в изученном pH-диапазоне. Установлено, что антиоксидантная активность флавоноидов в большей мере проявляется при pH = 6,0–7,0. Вольтамперометрическую активность мальвина сравнили с поведением стандартного синтетического антиоксиданта и природного антиоксиданта кверцетина и обнаружили, что антиоксидантная активность мальвина ниже, чем у природного кверцетина.

Методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) показано, что антиоксидантная и прооксидантная активность флавоноидов в присутствии ионов металлов объясняется различием механизмов протекания окислительных реакций. До недавнего времени зафиксировать эти радикалы методами ЭПР было сложно в связи с быстрой регенерацией радикалов. Присутствие ионов Cu^{2+} изменяет кинетику гибели этих радикалов, что позволяет изучать их методом ЭПР. Феноксильные радикалы могут проявлять цитотоксичную прооксидантную активность, если время жизни радикалов пролонгировано эффектом спиновой стабилизации за счет присутствия ионов металлов [3].

Заключение

Таким образом, на изменения радиопротекторных свойств природных полифенольных соединений могут влиять такие факторы, как структура флавоноида (расположение ОН-групп), кислотно-щелочное состояние раствора (pH), присутствие ионов некоторых металлов, с которыми образуются комплексные соединения. Выявленные факторы влияют на степень взаимодействия биологически активных соединений с актив-

ными формами кислорода, что и обуславливает антиоксидантный и радиопротекторный эффект исследуемых соединений.

Список литературы

1. Шарифуллина Л.Р. Радиационно-химические превращения антиоксидантов фенольной природы и их комплексов с ионами металлов: автореф. дис. ... канд. хим. наук. – М., 2004. – 24 с.
2. Шарифуллина Л.Р., Ревина А.А., Брянцева Н.В. Комплексообразование кверцетина и метилрезорцина с ионами Cu^{2+} // Живые системы и биологическая безопасность тезисы докл. 2 Междун. Научн. конф. (Москва, 21 октября 2003 г.). – М., 2003. – С. 48.
3. Шарифуллина Л.Р., Ревина А.А., Брянцева Н.В. Определение радиопротекторных свойств аминополисахаридов в различных средах методами радиационно-химического моделирования // Медико-биологические проблемы противолучевой и противохимической защиты: тезисы докл. Российс. научн. конф. (Санкт-Петербург, 20–21 мая 2004 г.). – СПб., 2004. – С. 272.
4. Brett M. Barney, Matthew R. Schaab, Russell LoBrutto, Wilson A. Francisco. Evidence for a new metal in a known active site: purification and characterization of an iron-containing quercetin 2,3-dioxygenase from *Bacillus subtilis* // Protein Expression and Purification, 2004. Vol.35. Issue 1. P. 131–141.
5. Ljubisa M. Ignjatovic, Jasmina M. Dimitric Markovic, Dragan A. Markovic, Jelisaveta M. Baranac. The spectroabsorptiometric and voltammetric behavior of malvin in buffered solutions and its antioxidant properties // J. Serb. Shem. Soc. – 2002. – Vol. 67(1). – P. 53–60.

References

1. Sharifullina L.R. Radiacionno-himicheskie prevrasheniya antioksidantov fenol'noj prirody i ih kompleksov s ionami metallov: *Abstract of dissertation of candidate of chemical Sciences*. Moscow, 2004, 24 p.
2. Sharifullina L.R., Revina A.A., Brjanceva N.V. Kompleksoobrazovanie kvercetina i metilrezorcina s ionami Cu^{2+} . *Tezisy dokladov 2 Mezhdunarodnoj nauchnoj konferencii «Zhivye sistemy i biologicheskaja bezopasnost' naselenija»* (Prog. 2th Int. Symp. «Living systems and biological safety of the population»). Moscow, 2003, pp. 48.
3. Sharifullina L.R., Revina A.A., Brjanceva N.V. Opredelenie radioprotekturnyh svojstv aminopolisaharidov v razlichnyh sredaz metodami radiacionno-himicheskogo modelirovaniya. *Tezisy dokladov Rossijskoj nauchnoj konferencii «Mediko-biologicheskie problemy protivoluchевой i protivohimicheskoy zashhity»* (Prog. Rus.Symp. «Medical-biological problems of radioprotector and chemical protection»). St-Petersburg, 2004, pp. 272.
4. Brett M. Barney, Matthew R. Schaab, Russell LoBrutto, Wilson A. Francisco. *Protein Expression and Purification*, 2004, Vol. 35, Issue 1, pp. 131–141.
5. Ljubisa M. Ignjatovic, Jasmina M. Dimitric Markovic, Dragan A. Markovic, Jelisaveta M. Baranac. *J.Serb.Shem.Soc.*, 2002, Vol. 67(1), pp. 53–60.

Рецензенты:

Веденяпина М.Д., д.х.н., профессор, ведущий научный сотрудник Института органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, г. Москва;

Пушкин И.А., д.т.н., профессор, заслуженный деятель науки, заведующий кафедрой «Химия и материаловедение», ФГБОУ ВПО «Академия гражданской защиты МЧС России», г. Химки.

Работа поступила в редакцию 05.12.2013.