ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ
ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ
NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF ARMENIA

Հայաստանի քիմիական հանդես
Химический журнал Армении **68, №3, 2015** Chemical Journal of Armenia

ОБЩАЯ И ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

УДК 541.128:661.719.3

АНТИПЕРОКСИРАДИКАЛЬНАЯ СПОСОБНОСТЬ ДИФЕНИЛСЕЛЕНИДА, ДИФЕНИЛДИСЕЛЕНИДА И СЕЛЕНО-DL-МЕТИОНИНА

Л. А. ТАВАДЯН[а], З. О. МАНУКЯН[а], А. Д. СААКЯН[а], Л. А. АРУТЮНЯН[а] и Г. Г. МКРЯН[б]

[а]Институт химической физики им. А.Б. Налбандяна НАН Республики Армения
Армения, 0014, Ереван, ул. П. Севака, 5/2
[б]Научно-технологический центр органической и фармацевтической химии
НАН Республики Армения
Институт тонкой органической химии им. А. Л. Мнджояна
Армения, 0014, Ереван, пр. Азатутян, 26
E-mail: tavadyan@ichph.sci.am

Поступило 20 V 2015

Методом определения поглощающей емкости по отношению к кислородным свободным радикалам (ORAC) выявлена антипероксирадикальная емкость у селенорганических соединений – биогенного селенорганического соединения селено-DL-метионона, селенглутатионпероксидазы миметических соединений – дифенилселенида и дифенилдиселенида.

Методами циклической (ЦВ), дифференциальной импульсной (ДИВ) и квадратно-волновой (КВ) вольтамперометрий определены редокс-характеристики селенорганических соединений. Антирадикальные способность, емкость и активность исследуемых селенорганических соединений также измерялись с использованием стабильного свободного радикала 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразил (DPPH).

Наблюдается ряд антипероксирадикальной способности, коррелирующий с редокс- характеристиками селенорганических соединений:

селено-DL-метионин >дифенилдиселенид>дифенилселенид.

Рис. 3, табл. 2, библ. ссылок 11.

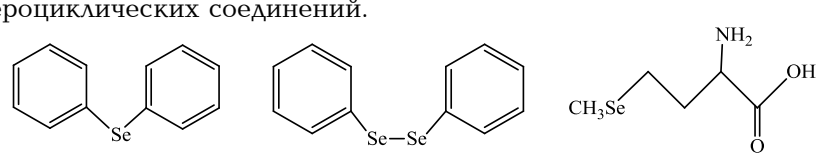
Реакционные кислородные метаболиты (РКМ), включая кислородные свободные радикалы, в условиях их избыточной генерации разру-

шают клеточные мишени организмов и вызывают различные патологии [1-5].

Селен является фундаментальным компонентом живой клетки. В частности, он входит в состав активного центра ферментного антиоксиданта, селенсодержащего фермента — глутатионпероксидазы. На сегодня особую актуальность представляет выявление детального механизма антиоксидантного действия селенсодержащих биогенных соединений [6], а также глутатионпероксидазы — GPx миметических синтетических селенорганических соединений [7-9]. Исследования химического механизма антиоксидантного действия селенсодержащих антиоксидантов содействуют повышению эффективности выбора селенсодержащих препаратов, предотвращающих болезни, вызванные окислительным стрессом.

Выбор конкретных соединений: селено-DL-метионона, дифенилселенида (DSe) и дифенилдиселенида (DDSe), обусловлен следующими причинами.

1. Селено-DL-метионин входит в состав активного центра селенметионинсодержащих протеинов и энзимов [10].
2. Синтетические диарилдиселениды и диарилселениды проявляют высокую биоантиоксидантную активность и различные фармакологические свойства. Одновременно эти соединения являются базовыми соединениями для синтеза новых биоактивных селенсодержащих гетероциклических соединений.



1 **дифенилселенид** **2** **дифенилдиселенид** **3** **селено-DL-метионин**

Схема 1. Структурные формулы исследуемых селенорганических соединений.

В настоящей работе поставлена цель исследовать антирадикальную способность по отношению к DPPH радикалу и антипероксирадикальную емкость селенорганических соединений: DSe, DDSe и селено-DL-метионина. Эти результаты, в частности, важны для предсказания антиоксидантной активности дифенилселенида, дифенилдиселенида и селено-DL-метионина в цепных свободнорадикальных реакциях пероксидного окисления липидов мембран клеток.

Экспериментальная часть

Реактивы. Азоинициатор — 2,2'-азо-бис(2-амидинопропан)гидрохлорид (AAPH), 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота(тролокс), 2,6-дитретбутил-4-метилфенол (BHT), динатриевая соль флуоресцеина — 3',6'-дигидроксиспиро[изобензофуран-1(3H),9'-[9H]ксантен]-3-она динатриевая соль (Fl), 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразил (DDPH), DSe, DDSe и селено-DL-метионин приобретены из химической компании Sigma-Aldrich (США). Тетрабутиламмоний перхлорат (TBAP), нитрат серебра, растворители — ацетонитрил (ACN), этанол, метанол, фосфатный буфер (1.0 *M*) – все из той же компании. Растворители очищались согласно методике, описанной в [11]. Была использована деионизированная вода с электрическим сопротивлением 16 *МОм.см* при 25°С.

Результаты и их обсуждение

В табл. 1 приведены значения характерных пиков окисления и восстановления исследуемых селенорганических соединений **1-3**, измеренные тремя методами вольтамперометрии: ДИВ, ЦВ и КВ.

Таблица 1

Значения характерных пиков окисления и восстановления дифенилселенида, дифенилдиселенида, селено-DL-метионина, BHT и водорастворимого аналога *α*-токоферола – тролокса, измеренные методами ДИВ, ЦВ, КВ. Знак «–» означает, что измеряемых пиков не наблюдалось.

Метод вольтамперометрии (процессы окисления и восстановления)		DSe, *мВ*	DDSe, *мВ*	Селено-DL-метионин, *мВ*	Тролокс, *мВ*	BHT, *мВ*
ДИВ	окисление	560 960 1096	568 932 1180 (слабый)	492 784 1076	244	508
	восстановление	1028	1084	720	1016	1088
ЦВ	окисление	924	962	1074	—	—
	восстановление	981	999	—	–	106
КВ	окисление	912	920	1096	–	–
	восстановление	1044	1028	1048	–	–

Более примечательны в данном случае значения характерных пиков окисления, поскольку по отношению к пероксильному радикалу ($ROO^{\bullet}$) (схема 2) следует ожидать, что исследуемые селенорганические соединения **1-3** выступают в качестве восстановителей. Ниже приводится структурная формула пероксильного радикала, генерируемого в методе ORAC.

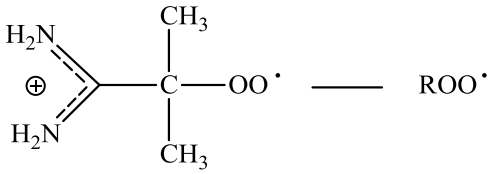


Схема 2. Структурная формула пероксильных радикалов, образующихся в результате термического разложения водорастворимого азоинициатора ААРН в присутствии молекулярного кислорода.

Из данных табл. 1 следует, что значения пиков окисления DSe, DDSe и селено-DL-метионина в целом близки между собой. Однако по увеличению значений пиков окисления, т.е. по росту их окислительной способности, наблюдается следующий ряд:

селено-DL-метионин > DDSe > DSe.

По антирадикальной способности изучаемых селенорганических соединений **1-3**, выраженной значением антипероксирадикальной емкости (рис. 1), наблюдается ряд, соответствующий ряду их окислительной способности:

селено-DL-метионин > DDSe > DSe.

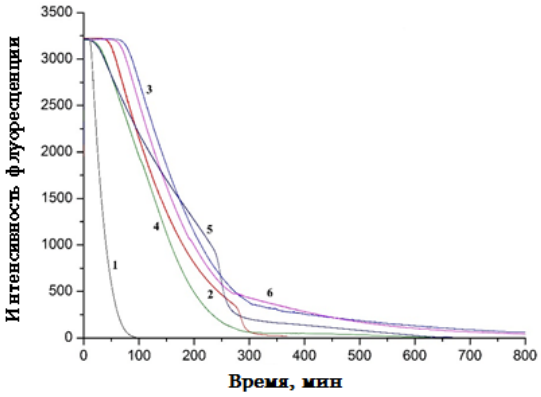


Рис. 1. Кинетические кривые уменьшения интенсивности флуоресценции F1 при 515 *нм* в результате реакции с пероксильными радикалами в отсутствие (1) и в присутствии антиоксидантов: тролокс (2), BHT (3), DSe (4), DDSe (5), селено-DL-метионин (6) при 37°C. $[AAPH]_0=1.53\times10^{-2}$ *M*, (скорость зарождения свободных радикалов составляет $R_i=3.2\times10^{-8}$ Mc^{-1}), концентрация антиоксидантов равна 5×10^{-6} *M*. Растворитель – деионизированная вода.

Как нам представляется, превышение антирадикальной емкости DDSe над DSe обусловлено наличием двух атомов селена в его составе в отличие от одного атома селена в молекуле DSe. Высокая антипероксирадикальная емкость селено-DL-метионина, при наличии в его составе одного атома селена, по-видимому, связана со способностью селено-DL-метионина в реакции с пероксильными радикалами подвергаться преимущественно поэтапному одноэлектронному окислению, приводящему к образованию нерадикальных продуктов. Эта реакция конкурирует с реакцией двухэлектронного окисления пероксильным радикалом, при-

водящей к образованию нового активного алкоксильного свободного радикала RO• (схема 3).

Одновременное наличие трех (селено-DL-метионин, DSe и DDSe) пиков окисления на вольтамперограммах ДИВ (рис. 2) свидетельствует о возможности последовательного механизма окисления изучаемых селенорганических соединений **1-3**.

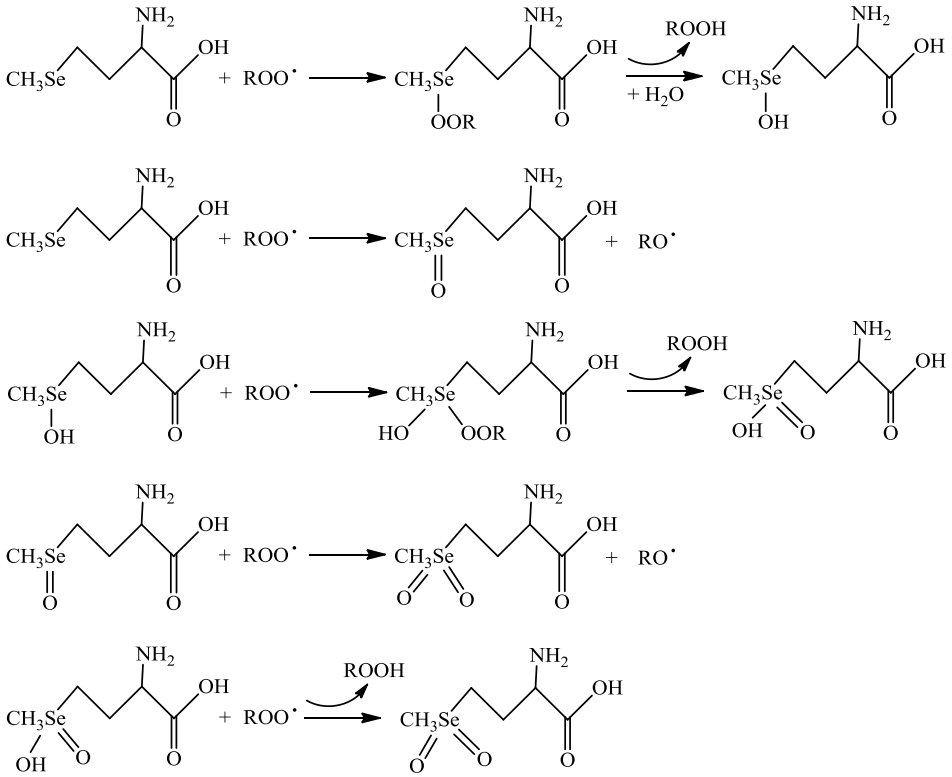


Схема 3. Последовательность химических превращений селено-DL-метионина в реакции с пероксильными радикалами.

Предполагаемый химический механизм антипероксирадикальной способности на примере селено-DL-метионина представлен схемой 3, из которой следует, что атом селена подвергается последовательному окислению пероксильными радикалами с повышением степени окисления.

Кинетические исследования селенорганических соединений **1-3** со стабильным радикалом DDPH позволили вычислить антирадикальную емкость селенорганических соединений по отношению к DPPH (рис. 3, табл. 2).

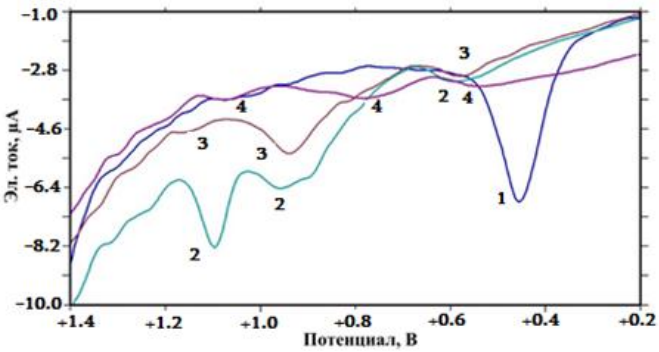


Рис 2. Вольтамперограммы ДИВ DPPH (1) и антиоксидантов DSe (2), DDSe (3), селено-DL-метионин (4) при 37°C. $[DPPH]_0=5\times10^{-5}$ *M*, концентрация антиоксидантов равна 2.5×10^{-5} *M*.

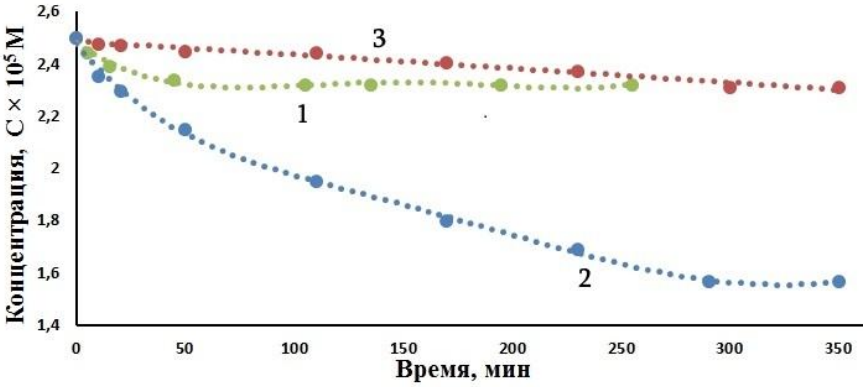


Рис. 3. Кинетические кривые уменьшения концентрации DPPHв результате реакции с антиоксидантами Dse (1), DDSe (2), селено-DL-метионин (3). $[DPPH]_0=5\times10^{-5}$ *M*, концентрация антиоксидантов равна 2.5×10^{-5} *M*. Температура 37°C. Использован метод КВ вольтамперометрии.

Таблица 2

Антипероксирадикальные емкости антиоксидантов

Антиоксидант	$f_{OTH,TE}$	f_{AO}	f_{DPPH}
DSe	0.83	1.66	0.14
DDSe	1.13	2.26	0.74
селено-DL-метионин	1.41	2.82	0.15
BHT	1.29	2.58	–
тролокс	1	2	0.79

где $f_{OTH,TE}$ – антипероксирадикальная емкость относительно тролоксового эквивалента; f_{DPPH} – антипероксирадикальная емкость по отношению к DDPH радикалу; f_{AO} – абсолютное значение антирадикальной емкости при значении $f_{trolox} = 2$.

Эти значения ниже величин антипероксирадикальной емкости соединений **1-3**. Как нам представляется, это связано со сравнительно высокими окислительными способностями пероксильных радикалов по

сравнению с радикалом DDPH. Между тем, имеется корреляция между значениями антипероксирадикальной емкости DSe и DDSe и значениями антирадикальной емкости, определенными в реакциях с DDPH радикалом. Низкие значения f_{DPPH} для селено-DL-метионина также могут быть связаны со спецификой реакционной способности DDPH радикала. В реакции с DDPH радикалом может осуществляться иной химический механизм по сравнению с реакцией селенорганических соединений с пероксильными радикалами. Вольтамперометрические кинетические исследования показывают, что в реакции селенорганических соединений **1-3** с DDPH радикалом последовательно уменьшаются интенсивности и далее исчезают пики окисления с меньшим значением пиков окисления. Это подтверждает тезис о последовательном процессе окисления атомов селена в селенорганических соединениях **1-3** в реакции со свободными радикалами в интервале потенциалов окисления 492÷1096 *мВ*.

ԴԻՖԵՆԻԼՍԵԼԵՆԻԴԻ, ԴԻՖԵՆԻԼԴԻՍԵԼԵՆԻԴԻ ԵՎ ՍԵԼԵՆՕ-DL-ՄԵԹԻՈՆԻՆԻ ՀԱԿԱՊԵՐՕՔՍԻՌԱԴԻԿԱԼԱՅԻՆ ՈՒՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ

Լ. Ա. ԹԱՎԱԴՅԱՆ, Ջ.Հ. ՄԱՆՈՒԿՅԱՆ, Ա.Դ. ՍԱՀԱԿՅԱՆ, Լ. Հ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ և Գ. Գ. ՄԿՐՅԱՆ

Թթվածնային ռադիկալների նկատմամբ կլանման տարողության որոշման եղանակով բացահայտվել է սելենօրգանական միացությունների՝ կենսածին սելենօրգանական միացություն սելենո-DL-մեթիոնինի, սելենդլուտաթիոն-պերօքսիդազա նմանակ միացությունների՝ դիֆենիլսելենիդի և դիֆենիլդիսելենիդի, հակապերօքսիռադիկալային ունակությունը:

Սելենօրգանական միացությունների վերօքս բնութագրերը որոշվել են ցիկլիկ, դիֆերենցիալ իմպուլսային և քառակուսաալիքային վոլտամպերաչափական եղանակներով: Հետազոտվող միացությունների հակառադիկալային ակտիվությունը և տարողությունը չափվել են նաև օգտագործելով 2,2′-դիֆենիլ-1-պիկրիլհիդրազիլ կայուն ռադիկալը:

Դուրս է բերվել հակապերօքսիռադիկալային ունակության շարք, որը կորելացվում է սելենօրգանական միացությունների վերօքս բնութագրերի հետ՝

սելենո-DL-մեթիոնին>դիֆենիլսելենիդ>դիֆենիլդիսելենիդ:

ANTIPEROXYRADICAL ABILITY OF DIPHENYLSELENIDE, DIPHENYLDISELENIDE AND SELENO-DL-METHIONINE

L. A. TAVADYAN, Z. H. MANUKYAN, A. D. SAHAKYAN, L. H. HARUTYUNYAN and G. G. MKRYAN

[1]A.B. Nalbandyan Institute of Chemical Physics NAS RA
5/2, P. Sevak Str., Yerevan, 0014, Armenia
[2]The Scientific Technological Centre
of Organic and Pharmaceutical Chemistry NAS RA
A. L. Mnjoyan Institute of Thin Organic Chemistry
26, Azatutyan Str., Yerevan, 0014, Armenia
E-mail: tavadyan@ichph.sci.am

Oxygen radical absorbance capacity method was used to reveal the antiperoxyradical capacity of selenium-organic compounds – biogenic selenium-organic compound seleno-DL-methionine, selenium-glutathione peroxidase of mimetic compounds – diphenylselenide and diphenyldiselenide.

Cyclic voltammetry, differential pulse voltammetry and squarewave voltammetry were used to determine the redox characteristics of selenium-organic compounds. The antiradical capacity and activity of the studied selenium-organic compounds were also measured using stable free radical – 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

A series of antiperoxyradical capacities correlating with redox characteristics of selenium-organic compounds have been observed:

seleno-DL- methionine > diphenylselenide > diphenyldiselenide.

A chemical mechanism of antiradical action of the studied selenium-organic compounds has been offered. This mechanism includes consecutive one-electron and simultaneous two-electron oxidation of selenium-organic compounds with peroxy radicals.

ЛИТЕРАТУРА

[1] *Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M.* // Chem. Biol. Interact., 2006, v. 160, p. 1.
[2] *Cadet J., Sage E., Douki T.* // Mutation Research, 2005, v. 571, p. 3.
[3] *Lloyd D.R., Philips D.H., Carmichael P.L.* // Chem. Research in Toxicology, 1997, v.10, p.393.
[4] *De Flora S., Izzoti A.* // Mutation Research, 2007, v. 621, p. 5.
[5] *Brewer G.J.* // Exp. Biology and Medicine, 2007, v. 232, p. 323.
[6] *Battin E.E., Brumaghim J.L.* // Cell Biochem. Biophys., 2009, v. 55, p. 1.
[7] *Mugesh G., Du Mont W.W., Sies H.* // Chem. Rev., 2001, v. 101, p. 2125.
[8] *Mugesh G., Singh H.B.* // Chem. Soc. Review, 2000, v. 29, p. 347.
[9] *Mukherjee A.J., Zade S.S., Singh H.B., Sunoj R.B.* // Chem. Rev., 2010, v. 110, p. 4357.
[10] *Gerhard N.S.* // J. Nutr., The American Society for Nutritional Sciences, 2000, v. 130, p. 1653.
[11] *Gordon A., Ford R.* The satellite of chemist. M., The world, 1976, p. 541.