

2. ЕКОЛОГІЯ ДОВКІЛЛЯ

УДК [57.018.6:579.83]:612.176

Проф. О.Ф. Рильський, д-р біол. наук –
Запорізький НУ

АНТИОКСИДАНТНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОПЕРЕДНИКІВ СИНТЕЗУ БАКТЕРІАЛЬНИХ ПІГМЕНТІВ

Встановлено, що при "металевому" стресі попередники синтезу бактеріальних пігментів (пролін, шикімова кислота) здатні виконувати функцію "пасток" вільних радикалів, продовжуючи таким чином життя клітини під дією стресових факторів.

Ключові слова: антиоксидантна активність, вільні радикали, пролін, шикімова кислота.

Аналіз хімічної природи речовин, що беруть участь у синтезі продігіозину (*Serratia*) і пігментів феназинового ряду (*Pseudomonas*), показує, що серед них є речовини, які мають активні центри, здатні реагувати з вільними радикалами. На нашу думку [1], вони стають "пастками" потоку вільних радикалів, що утворюються під дією стресових факторів – "металевого", температурного та інших. Пігменти та їхні попередники приймають на себе функцію захисту клітини.

Мета роботи полягала у дослідженні антиоксидантної активності попередників синтезу бактеріальних пігментів.

Матеріали і методика досліджень. Для аналізу антиоксидантних властивостей таких попередників пігментів, як пролін (попередник продігіозину), шикімова і хоризмова кислоти (попередники піоціаніну, аеругініну та інших пігментів феназинового ряду) ми використали комп'ютерну програму PASS.

Як відомо, останнім часом з метою проведення цілеспрямованого органічного скринінгу використовують прогноз біологічної активності нових синтетичних сполук за допомогою комп'ютерних програм, що дає змогу оптимізувати вибір досліджуваних базових структур і знизити витрати на дослідження та розробки [2-4].

Комп'ютерна система PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) дає змогу здійснити прогноз спектра біологічної активності речовин на базі його структурної формули, включаючи хімічні ефекти і механізми дії. Спектр біологічної активності містить у собі всю сукупність фармакологічних ефектів, біохімічних механізмів дії і видів специфічної токсичності, які речовина може виявити при взаємодії з біологічними об'єктами.

Робота PASS заснована на аналізі залежності "структура-активність" для речовин з вибірки, що містить понад 45000 різноманітних біологічно активних речовин (субстанції відомих лікарських препаратів та фармакологічно активні сполуки). Опис структури хімічних сполук у системі PASS базується на двомірних структурних формулах речовин, введення яких до комп'ютера може бути реалізовано за допомогою редактора структурних формул ISIS/Draw. При цьому стандартним представленням інформації в комп'ютер для однієї молекули є "*.mol" файли.

Результати прогнозу видаються користувачу у вигляді списку назв вірогідних видів з розрахунковими оцінками вірогідності наявності (Pa) і відсутності кожного виду активності (Pi), яка має значення від 0 до 1. Точність прогнозу по системі PASS в середньому за всіма сполуками стандартної вибірки і всіма прогнозованими активностями становить у середньому близько 85 %.

Для експериментального дослідження антиоксидантних властивостей шикімової кислоти і проліну ми використовували також метод вивчення впливу біологічно активних речовин на швидкість реакції аутоокиснення адреналіну, що ґрунтується на інгібуванні активних форм кисню біологічно активними речовинами.

Неферментативна реакція аутоокиснення адреналіну супроводжується нагромадженням вільного аніон-радикала кисню O_2^- та утворенням продукту окиснення, який має поглинання в області 347 нм, що значно випереджає у часі утворення адренохому (поглинання при 480 нм). Встановлено, що поява цього продукту окиснення інгібуються супероксиддисмутазою (СОД) та цистеїном [5].

Результати дослідження. Основні результати комп'ютерного аналізу властивостей зазначених вище попередників пігментів такі:

- а) для хоризмової кислоти прогнозовано антирадикальну активність;
- б) пролін прогнозується як стимулятор супероксиддисмутази, "пастка активних форм кисню" та активний хелатор;
- в) для шикімової кислоти – висока антимікробна активність.

Результати експериментального дослідження антиоксидантної активності попередників пігментів представлено в таблиці. Отож, застосований метод дослідження вказує на невисоку активність цих сполук щодо супероксидрадикалу, але він не заперечує їх здатність до нейтралізації інших вільних радикалів: гідроксид-радикалу, пероксид-радикалу тощо.

Табл. Антиоксидантна активність (АОА) попередників пігментів у дослідях in vitro за інгібуванням супероксидрадикалу

Досліджувані сполуки	АОА, % порівняно з контролем
Шикімова кислота	9
Пролін	5

Побічним підтвердженням здатності шикімової кислоти виконувати роль "пастки" широкого спектра вільних радикалів є те, що її використовують як основний матеріал для виробництва активного противірусного препарату "Таміфлу". У роботах деяких дослідників підкреслюється висока антиоксидантна активність 3-дегідрошикімової кислоти (ДГШК) в маслах та помірна активність у водно-масляній емульсії. Два продукти окиснення ДГШК – галова та протокатехінова кислоти – також є ефективними антиоксидантами [6]. Але також відомо, що ДГШК є безпосереднім попередником самої шикімової кислоти [7]. Також ми провели ЕПР-дослідження вільно радикального наповнення клітин *S. marcescens* та *Rhodotorula rubra* під впливом важких металів.

Метою цього дослідження було встановлення найменшої стійкої концентрації вільних радикалів у процесі культивування бактерій та дріжджів на поживних середовищах з металом Zn^{2+} методом електронного парамагнітного резонансу (ЕПР) [8, 9].

Для реєстрації сигналів ЕПР виконували такі умови проведення експерименту: діелектрична проникність (ϵ) в об'ємі циліндричного резонатору повинна вносити мінімальний вплив на добротність резонатору. Для цього використовували тонкий капіляр, який розміщували по осі резонатору (в районі, де напруженість поля $E \rightarrow 0$). Виходячи з уявлення про хімічну кінетику вільно радикальних процесів, у зразка вибирали період культивування 22-28 годин.

Як опорний сигнал по g ($g=2$ для електрону) використовували зразок дифенілпікрилгідрозилу (ДФПГ) із вмістом вільних радикалів 10^{-11} гмоль. Реєстрація спектра проходила у 3 см НВЧ-полі. Приклади сигналів зразків та опорного сигналу ДФПГ наведено на рис. 1-3.

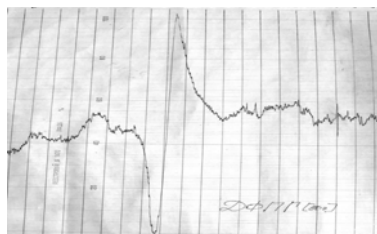


Рис. 1. ЕПР-спектр стандарт (ДФПГ)

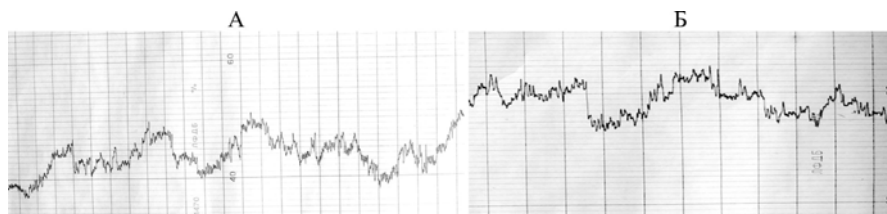


Рис. 2. ЕПР-спектр *Rh. rubra* (А – контроль, Б – дослід)

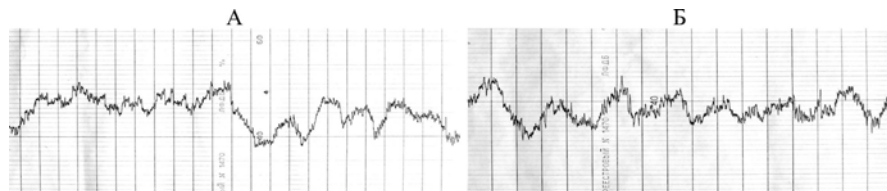


Рис. 3. ЕПР-спектр *S. marcescens* (А – контроль, Б – дослід)

Встановлено, що для досліджених зразків не спостерігаються будь-які біохімічні вільно радикальні процеси з радикалами, що мають достатній характерний час життя, та в концентраціях, які перевищують чутливість порядку 10^{-10} гмоль (нижче чутливості ЕПР-спектрометра). Такий результат можна пояснити також тим, що швидкість реакції набагато вища від характерного часу реєстрації ЕПР-сигналу, яка визначається частотою модуляції 1 МГц.

Висновки. Попередники синтезу бактеріальних пігментів (пролін, шикімова та хоризмова кислоти) здатні виконувати функцію "пасток" вільних радикалів, продовжуючи таким чином життя клітини під дією стресових факторів. Під час ЕПР-досліджень зразків не спостерігають вільно радикальні процеси, що мають характерний час життя. Цим обумовлено, що не були зареєстровані стійкі, явно виражені сигнали ЕПР (швидкість процесів $V=10^{-6}$).

Література

1. Рильський О.Ф. Вірогідні механізми блокування синтезу пігментів бактерій при дії тривалого стресу / О.Ф. Рильський // Вісник Харківського національного університету. – Сер.: Біологічні науки. – 2010. – Вип. 11, № 905. – С. 149-155.
2. Поройков В.В. Компьютерное предсказание биологической активности химических веществ: виртуальная хемогеометрия / В.В. Поройков, Д.А. Филимонов, Т.А. Глоризова, А.А. Лагунин и др. // Вестник ВОГиС. – 2009. – Т. 13, № 1. – С. 137-143.
3. Поройков В.В. Прогноз спектра биологической активности органических соединений / В.В. Поройков, Д.А. Филимонов // Российский химический журнал (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). – 2006. – Т. 1, № 2. – С. 66-75.
4. Anzali S. Discriminating between drugs and nondrugs by Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS) / S. Anzali, G. Barnickel, B. Cezanne et al. // J. Med. Chem. – 2001. – Vol. 15, № 4. – Pp. 2432-2437.
5. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы / Т.В. Сирота // Вопросы медицинской химии. – 1999. – № 31. – С. 3-14.
6. Chang Y.C. Antioxidant activity of 3-dehydroshikimic acid in liposomes, emulsions, and bulk oil / Y.C. Chang, E.A. Almy, G.A. Blamer, J.I. Gray, J.W. Frost, G.M. Strasburg // J. Agric Food Chem. – 2003. – Vol. 23, 51(9). – Pp. 2753-2757.
7. Поронник О.А. Биосинтез нафтохиноновых пигментов в растениях семейства *Boraginaceae* в природе и в культуре *in vitro* / О.А. Поронник, В.А. Кунах // Український біохімічний журнал. – 2005. – Т. 77, № 6. – С. 24-36.
8. Weil J.A. Electron Paramagnetic Resonance: Elementary Theory and Practical Applications / J.A. Weil, J.R. Bolton, [2nd Edition, J. Wiley], 2007. – 547 p.
9. Тихонов А.Н. Электронный парамагнитный резонанс в биологии / А.Н. Тихонов // Соросовский Образовательный Журнал. – 1997. – № 11. – С. 8-15.

Рильський А.Ф. Антиоксидантні властивості предшественників синтезу бактеріальних пігментів

Установлено, що при "металічному" стресі предшественники синтезу бактеріальних пігментів (пролін, шикімова кислота) здатні виконувати функцію "ловушок" свободних радикалів, продовжуючи, таким образом, життя клітки під впливом стресових факторів.

Ключові слова: антиоксидантна активність, свободні радикали, пролін, шикімова кислота.

Rylsky A.F. Antioxidant properties of synthesis predecessors of bacterial pigments

It was established that at a "metal" stress predecessors of synthesis of bacterial pigments (a proline, shikimic acid) are capable to carry out function of "traps" of free radicals, prolonging, thus, cage life under the influence of stressful factors.

Keywords: antioxidant activity, free radicals, proline, shikimic acid.

УДК 628.12 Доц. Л.В. Савчук, канд. техн. наук – НУ "Львівська політехніка"

ТЕХНОГЕННИЙ ВПЛИВ КОМУНАЛЬНИХ СТОКІВ НА ДОВКІЛЛЯ

Проведено аналіз стану і роботи комунальних очисних споруд, запропоновано впровадити нові технології для покращення їх функціонування і зменшення негативно-го впливу на довкілля. Для усунення сполук Нітрогену і Фосфору біологічне очищення має охоплювати аноксидну, анаеробну й аеробну стадії, розміщення яких залежить від складу стічних вод.

Ключові слова: стічні води, біологічне очищення, денітрифікація, дефосфатація.