

ВЕСТНИ



НАЦЫЯНАЛЬНАЯ
АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ ХІМІЧНЫХ НАВУК

ИЗВЕСТИЯ
НАЦИОНАЛЬНОЙ
АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ
СЕРИЯ ХИМИЧЕСКИХ НАУК

PROCEEDINGS
OF THE NATIONAL ACADEMY
OF SCIENCES OF BELARUS
CHEMICAL SERIES

2

ВЕСЦІ

НАЦЫЯНАЛЬНАЯ АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ ХІМІЧНЫХ НАВУК 2011 № 2

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ ХИМИЧЕСКИХ НАУК 2011 № 2

ЗАСНАВАЛЬНІК – НАЦЫЯНАЛЬНАЯ АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

Часопіс выдаецца са студзеня 1965 г.

Выходзіць чатыры разы ў год

ЗМЕСТ

НЕАРГАНІЧНАЯ ХІМІЯ

Поляченко О. Г., Брановицкая Н. В., Войтенко С. И., Поляченко Л. Д. Потенциометрический анализ кислых фторсодержащих растворов с использованием защищенных электродов..... 5

КАЛОЇДНАЯ ХІМІЯ

Пликус О. А., Опанасенко О. Н., Овсенко Л. В., Островская Е. Ф., Крутько Н. П. Влияние анионного поверхностно-активного вещества на процесс электролитной коагуляции натурального латекса..... 8

Шестак И. В., Воробьева Е. В., Басалыга И. И., Крутько Н. П., Матрунчик Ю. В. Особенности формирования осадков карбонатов кальция и магния в растворах полиэтиленгликоля..... 13

Комаров В. С., Бесараб С. В., Ратько А. И. Синтез би- и трехпористых силикагелей 19

Гриншпан Д. Д., Тельшева Г. М., Невар Т. Н., Дижбит Т. Н., Цыганкова Н. Г., Аршаница А. С., Головки А. С., Солодовник В. П. Нефтесорбент на основе гидролизного лигнина..... 23

Комаров В. С., Бесараб С. В., Ратько А. И. Адсорбционно-структурные характеристики гидроксида магния, полученного в магнитном поле..... 29

АНАЛІТЫЧНАЯ ХІМІЯ

Рахманько Е. М., Глушко Р. А. Определение констант обмена высокогидрофобных анионов с помощью дипикриламины..... 33

ФІЗІЧНАЯ ХІМІЯ

Тихонова Л. А., Зносок Д. В., Полуян А. Ф. Электродные материалы для кислородионпроводящих твердых электролитов на основе манганитов.....	36
Солдатов В. С., Зеленковский В. М., Сосинович З. И., Мосунова Н. В., Сокол В. П. Селективное выделение меди и цинка из модельных растворов шахтных вод волокнистыми ионами	41

АРГАНІЧНАЯ ХІМІЯ

Пашковский Ф. С., Шукина Е. М., Лахвич Ф. А., Кузьмицкий Б. Б., Голубева М. Б., Любин Г. С. Синтез и иммуномодулирующая активность 7-аза-9-оксапростаноидов	46
Жуковская Н. А., Дикусар Е. А., Поткин В. И., Выглазов О. Г., Чуйко В. А. Синтез сложных эфиров оксима 2-октанона и изучение влияния их структуры на запах.....	52
Ковганко Н. В., Чернов Ю. Г., Кашкан Ж. Н., Соколов С. Н., Цветкова Т. М. Синтез новых 1,2-диацил-1-алкилгидразинов, содержащих фрагменты никотиновых кислот	56
Козлов Н. Г., Гусак К. Н., Терешко А. Б. Синтез и пестицидная активность азометинов хинолинового ряда.....	61

БІЯАРГАНІЧНАЯ ХІМІЯ

Сыса А. Г., Киселев П. А., Жабинский В. Н., Хрипач В. А. Брассиностероиды – как эффекторы монооксигеназ в клетках аденокарциномы молочной железы	67
Еремин А. Н., Жавнерко Г. К., Агабеков В. Е., Яшин К. Д., Осипович В. С., Новаковский М. Е., Свиридов О. В. Функционализация наночастиц CdSe/ZnS белками и полиэлектролитами в обращенных мицеллах	72
Дубовская Л. В., Вашкевич И. И., Свиридов О. В. Усовершенствованный метод конкурентного лиганд-белкового радиоанализа.....	81

ХІМІЯ ВЫСОКАМАЛЕКУЛЯРНЫХ ЗЛУЧЭННЯЎ

Фенько Л. А., Паплевко И. Г., Семенкевич Н. Г., Жаркевич И. Л. Влияние условий получения на структуру поливинилиденфторидных мембран.....	87
Бильдюкевич А. В., Плиско Т. В., Браницкий Г. А., Чисакова Л. Н. Структура и свойства композиционных мембран полисульфон/диоксид кремния	92

ГЕАХІМІЯ

Соколик Г. А., Овсянникова С. В., Войникова Е. В., Иванова Т. Г., Попеня М. В. Поведение радионуклидов урана и радия в природно-растительных комплексах Беларуси вне зоны чернобыльского загрязнения ...	98
--	----

ТЭХНІЧНАЯ ХІМІЯ І ХІМІЧНАЯ ТЭХНАЛОГІЯ

Александрович Х. М., Шевчук В. В., Дихтиевская Л. В. Модификаторы регулирования физико-химических и механических свойств дисперсий калийных удобрений.....	105
Бамбалов Н. Н., Решетник А. С., Смирнова В. В. Зависимость оптической плотности растворов гуминовых веществ торфа от концентрации гидроксида натрия и температуры	111
Бобкова Н. М., Крутикова Е. А. Получение бессвинцового высококачественного сортового стекла	116

ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ

Лесникович Анатолий Иванович (К 70-летию со дня рождения).....	120
--	-----

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ 2011 № 2

Серия химических наук

на русском и белорусском языках

Компьютерная вёрстка В. А. Тоўстага

Здадзена ў набор 15.04.2011. Падпісана ў друк 19.05.2011. Выхад у свет 26.05.2011. Фармац 60 × 84¹/₈. Папера афсетная. Ум. друк. арк. 14,88. Ул.-выд. арк. 16,4. Тыраж 85 экз. Заказ 129.

Кошт нумару: індывідуальная падпіска – 18850 руб., ведамасная падпіска – 46794 руб.

Рэспубліканскае ўнітарнае прадпрыемства «Выдавецкі дом «Беларуская навука». ЛІ № 02330/0494405 ад 27.03.2009. Вул. Ф. Скарыны, 40. 220141. Мінск. Пасведчанне аб рэгістрацыі № 390 ад 18.05.2009.

Надрукавана ў РУП «Выдавецкі дом «Беларуская навука».

© Выдавецкі дом «Беларуская навука»
Весці НАН Беларусі, серыя хімічных навук, 2011

БИАРГАНІЧНАЯ ХІМІЯ

УДК 577.152.1 547.92

А. Г. СЫСА, П. А. КИСЕЛЕВ, В. Н. ЖАБИНСКИЙ, В. А. ХРИПАЧ

БРАССИНОСТЕРОИДЫ – КАК ЭФФЕКТОРЫ МОНООКСИГЕНАЗ В КЛЕТКАХ АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Институт биоорганической химии НАН Беларуси

(Поступила в редакцию 14.09.2010)

Одним из широко распространенных путей метаболических превращений в организме человека и животных различных по структуре веществ являются окислительные процессы, катализируемые цитохром Р450-содержащей микросомальной системой (монооксигеназной системой), ключевые компоненты которых – ферменты суперсемейства цитохромов Р450. Негативные эффекты большинства канцерогенных химических соединений, находящихся в окружающей среде, связаны с побочной реакцией – их метаболической активацией цитохромами Р450. Доказано, что такие реакционные метаболиты обладают канцерогенным действием в отношении человека и животных, тогда как их соответствующие исходные молекулы химически неактивны [1, 2].

У человека наиболее активно в метаболизме проканцерогенов участвуют несколько изоформ цитохрома Р450. Одной из таких форм, для которой доказано участие в возникновении и развитии канцерогенеза, является цитохром Р450 1А1 (СYP1А1). Наряду с цитохромом Р450 1А1 в тканях злокачественных новообразований широко распространен цитохром Р450 1В1 (СYP1В1) [3–5]. Потенциальная роль СYP1А1 и СYP1В1 в канцерогенезе делает перспективным поиск специфических ингибиторов вышеуказанных ферментов как возможных антиопухолевых агентов [6, 7].

В последнее время появились сведения об антипролиферативных и потенциально антиканцерогенных свойствах ряда стероидов, причем жизнедеятельность нетрансформированных клеток они не затрагивают [8–10]. В связи с вышесказанным весьма перспективным может быть использование в качестве таких ингибиторов брассиностероидов – стероидных гормонов растений [11, 12]. Однако до настоящего момента остаются неясными ни механизм влияния брассиностероидов на опухолевые клетки, ни возможные корреляции между структурой брассиностероидов и их противоопухолевыми свойствами. Поэтому цель настоящей работы – анализ взаимосвязей между структурой брассиностероидов и их влиянием на монооксигеназную активность в эстрогензависимой опухоли молочной железы (МСF-7).

Монослойную клеточную культуру МСF-7 культивировали в среде RPMI-1640, содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 4 мМ L-глутамина, 100 ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина, при 37 °С во влажной атмосфере с 5% СО₂. Клеточная культура поддерживалась на стадии логарифмического роста путем рутинного субкультивирования трижды в неделю.

Для индукции СYP450 в клеточной линии МСF-7 использовали 10 нМ раствор 2,3,7,8-тетрахлородибензо-р-диоксина (TCDD) в диметилсульфоксиде (объем растворителя не превышал 0,1%). Индукцию начинали проводить при 70–80% конфлуентности флакона. Для этого питательную среду меняли на свежую, не содержащую сыворотки КРС, затем во флакон добавляли сыворотку КРС с предварительно растворенным в ней диоксином. Индукцию проводили в течение 72 ч.

Окислительное дезэтилирование 7-этоксирезорифина (ЭРОД) проводили по методу [13] при 37 °С в 200 мкл буферного раствора (50 мМ Трис-НСl, 100 мМ NaCl, 1мМ ЭДТА, рН 7,4), содержа-

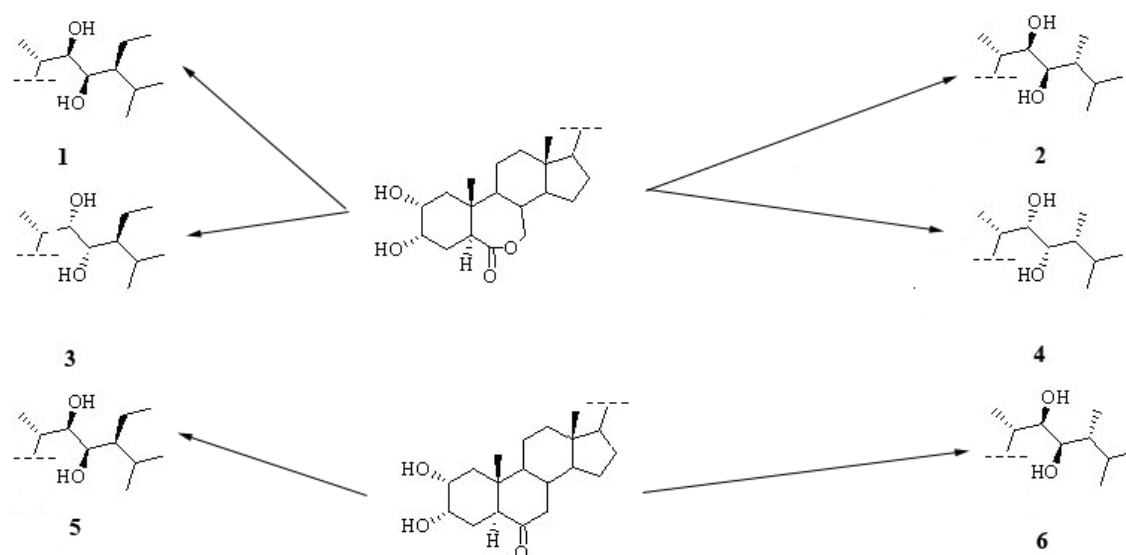


Рис. 1. Структура использованных в работе брассиностероидов: 1 – 28-гомобрассинолид, 2 – 24-эпибрассинолид, 3 – (22S, 23S)-28-гомобрассинолид, 4 – (22S,23S)-24-эпибрассинолид, 5 – 28-гомокастастерон, 6 – 24-эпикастастерон

щего клеточный лизат. Реакцию начинали добавлением НАДФН⁺, проводили в течение 10 мин и останавливали добавлением 200 мкл метанола, охлажденного до 4 °С. Концентрацию продукта определяли спектрофлуориметрически при длине волны возбуждения 530 нм и длине волны испускания 590 нм.

В работе использовали брассиностероиды, полученные в соответствии с [14, 15]. Все соединения охарактеризованы ИК спектрами, полученными на приборе IR-20 в таблетках КВг и пленках, а также спектрами ЯМР, записанными на спектрометре AVANCE-500 (Германия) (500 МГц для ядер ¹H и 125 МГц для ¹³C) в растворах CDCl₃ в 5 мм стандартных ампулах.

Использованные соединения (1–4) содержали 6-оксо-7-оксалактонную структуру в кольце В стероидного скелета, а соединения (5, 6) – 6-кетофункцию (рис. 1). Кроме того, брассиностероиды отличались строением боковой цепи. Так, природный 24-эпибрассинолид и 24-эпикастастерон содержат в положении С24 метильную группу, в то время как у 28-гомобрассинолида и 28-гомокастастерона в этом положении находится этильный заместитель.

Отличительная особенность синтетических производных 28-гомобрассинолида (3) и 24-эпибрассинолида (4) заключалась в S-конфигурации 22 и 23 атомов углерода, содержащих гидроксильные группы.

Для характеристики влияния на организм человека и животных брассиностероидов и, в частности, для выявления возможной значимости в этом процессе структурных особенностей фитогормонов, использована биохимическая модель – монооксигеназная система клеточной линии MCF-7. Известно, что культивирование клеток MCF-7 в присутствии TCDD приводит к индукции цитохромов CYP1A1 и CYP1B1. Широко используемым субстратом, надежно характеризующим каталитическую активность данных изоформ цитохрома P450, считается 7-этоксирезорифин [16], поэтому в качестве тестовой была использована реакция окислительного деалкилирования 7-этоксирезорифина. Для количественной оценки эффективности брассиностероидов применяли величину IC₅₀, которая представляет собой концентрацию ингибитора, при которой регистрируется двухкратное уменьшение скорости реакции. Отметим, что для корректного определения параметра IC₅₀ необходимо использовать концентрации субстрата, равные или близкие к величине константы Михаэлиса (*K_m*). Определенное в условиях наших опытов значение *K_m* в случае окислительного деэтилирования 7-этоксирезорифина клеточным лизатом составило 2,6±0,4 мкМ.

Оценка влияния брассиностероидов на реакцию окисления 7-этоксирезорифина монооксигеназной системой клеточной линии MCF-7 показана на рис. 2.

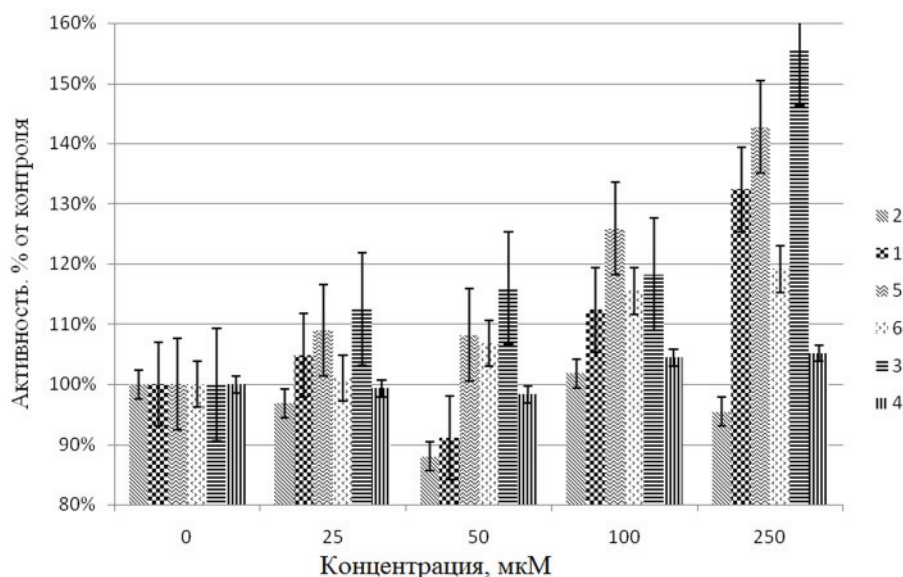


Рис. 2. Зависимость скорости окисления 7-этоксирезорфурина монооксигеназной системой клеточной линии MCF-7 в присутствии brassinosterоидов. Начальная концентрация 7-этоксирезорфурина – 2,0 мкМ. Обозначения те же, что и на рис. 1

Из рис. 2 видно, что brassinosterоиды повышают уровень микросомального окисления в трансформированных клетках. Причем, как и в экспериментах по антипролиферативной активности, более активными являются соединения с 6-кетофункцией в кольце В. Так, в присутствии 250 мкМ концентрации 28-гомокастастерона (5 на рис. 2) скорость окисления 7-этоксирезорфурина увеличивается более чем в 1,5 раза. Также следует отметить более высокую эффективность SS-изомеров. Так, добавление (22S,23S)-24-эпибрассинолида (4 на рис. 2) и (22S,23S)-28-гомо-брассинолида (3 на рис. 2) в концентрации 100 мкМ приводит к увеличению скорости окисления 7-этоксирезорфурина в 1,2–1,3 раза.

В работе проведена оценка влияния brassinosterоидов на индукцию ферментов CYP450 (в основном CYP4501A1 и CYP4501B1) в опухолевых клетках (на примере аденокарциномы молочной железы). Результаты приведены в таблице.

Как видно из таблицы, brassinosterоиды существенно влияют на эффективность индукции монооксигеназ диоксином в клеточной линии MCF-7. Анализ каталитического профиля реакции окисления 7-этоксирезорфурина монооксигеназной системой клеточной линии MCF-7 после культивирования в присутствии индуктора микросомальных ферментов без добавления brassinosterоидов и при добавлении показывает, что brassinosterоиды существенно снижают как максимальную скорость реакции, так и K_m .

Кинетические параметры реакции окисления 7-этоксирезорфурина монооксигеназной системой клеточной линии MCF-7 после индукции TCDD

Кинетические константы реакции окисления 7-этоксирезорфурина монооксигеназной системой клеточной линии MCF-7 после индукции диоксином в присутствии	K_m , мкМ	V_{max} , пмоль/мин×мг белка
24-эпибрассинолида	0,36±0,09	148,5±7,7
28-гомокастастерона	0,27±0,02	230,5±3,6
(22S,23S)-24-эпибрассинолида	0,52±0,09	96,7±3,7
без brassinosterоидов	2,86±1,38	1420,3±199,9

Причем наиболее эффективными в данном отношении показали себя соединения с 6-окси-7-оксолактонной структурой: 24-эпибрассинолид и его (22S,23S)-стереоизомер. Brassinosterоид 28-гомокастастерон также снижал скорость микросомального окисления, но в меньшей степени. Подобные изменения каталитического профиля реакции можно отнести на влияние brassinosterоидов на индукцию монооксигеназ TCDD в клеточной линии MCF-7.

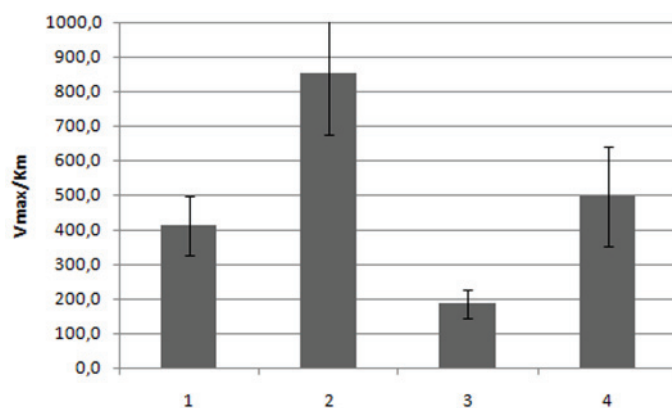


Рис. 3. Эффективность окисления 7-этоксирезорифина монооксигеназной системой клеточной линии MCF-7 после индукции диоксином в присутствии: **1** – 24-эпибрассинолида, **2** – 28-гомокастастерона, **3** – (22S,23S)-24-эпибрассинолида, **4** – без брассиностероидов

Для количественной оценки эффективности ферментативного процесса окисления 7-этоксирезорифина монооксигеназной системой клеточной линии MCF-7 после культивирования в присутствии индуктора микросомальных ферментов без добавления брассиностероидов был рассчитан коэффициент эффективности катализа, равный отношению максимальной скорости реакции к константе Михаэлиса (рис. 3). Откуда видно (рис. 3), что разница между эффективностью окисления 7-этоксирезорифина монооксигеназной системой клеточной линии MCF-7 после индукции диоксином без добавления брассиностероидов и в присутствии 24-эпибрассинолида и 28-гомокастастерона статистически незначима. Отметим значительное снижение (более 60%) эффективности каталитической реакции окисления 7-этоксирезорифина монооксигеназной системой клеточной линии MCF-7 после индукции диоксином в присутствии (22S,23S)-изомера природного 24-эпибрассинолида.

В последние годы показано, что многие химиотерапевтические препараты реализуют свои антипролиферативные эффекты, останавливая клеточный цикл при прохождении делящейся клеткой контрольных точек [15, 17–19]. Некоторые авторы считают, что индукция апоптоза может быть зависима от клеточного цикла [20–23]. Кроме того, регуляция AhR-связанной индукции CYP1A1 также может зависеть от фазы клеточного цикла, что предполагает участие CYP1A1 в регуляции апоптоза [24, 25].

Для брассиностероидов показано, что они блокируют фазу G₁ клеточного цикла, что приводит к дальнейшему сокращению числа клеток в S-фазе цикла и увеличению соотношения клеток в фазах G₀/G₁ (первый шаг к апоптозу) [12]. В свете молекулярных исследований человеческих новообразований, показавших, что гены регуляторов клеточного цикла часто видоизменяются в сторону малигнизации [26, 27] и что трансформация связана в том числе с активностью ферментов CYP450, представляется весьма вероятной возможность апоптоза по вышеописанному пути под влиянием брассиностероидов.

Литература

1. Conney A.H. // *Cancer Res.* 1982. Vol. 4. P. 4875–4917.
2. Guengerich F.P., Shimada T. // *Chem Res Toxicol.* 1991. Vol. 4. P. 391–407.
3. McFadyen M.C., Melvin W.T., Murray G.I. // *Mol Cancer Ther.* 2004. Vol. 3. P. 363–371.
4. Murray G.I. // *J Pathol.* 2000. Vol. 192. P. 419–426.
5. McFadyen M.C., Cruickshank M.E., Miller I.D., McLeod H.L., Melvin W.T., Haites N.E., Parkin D., Murray G.I. // *Br J Cancer.* 2001. Vol. 85. P. 242–246.
6. Chun Y.J., Kim S., Kim D., Lee S.K., Guengerich F.P. // *Cancer Res.* 2001. Vol. 61. P. 8164–8170.
7. Ciolino H.P., MacDonald C.J., Yeh G.C. // *Cancer Res.* 2002. Vol. 62. P. 3685–3690.
8. Tang D.G., Porter A.T. // *Prostate.* 1997. Vol. 32. P. 284–293.
9. Конева И.И., Войтович А.М., Наджарян Л.А., Афонин В.Ю., Котеленец А.И., Квитко О.В. // *Новости медико-биологических наук (News of Biomedical Sciences).* 2005. № 2. С. 112–117.

10. Franek R., Eckschlagner T., Kohout L. // Collect. Czech Chem. Commun. 2003. Vol. 68. P. 2190–2200.
11. Сыса А. Г., Киселев П. А., Жабинский В. Н., Хрипач В. А. // Докл. НАН Беларуси. 2007. Т. 51. № 6. С. 59–62.
12. Malikova J., Swaczynova J., Kolar Z., Strnad M. // Phytochemistry. 2008. Vol. 69 I. 2. P. 418–426.
13. Omura T., Sato R. // J. Biol. Chem. 1964. Vol. 239. N 6. P. 2379–2385.
14. Хрипач В. А., Жабинский В. Н., Иванова Г. В., Ольховик В. К. // Весці Акадэміі навук Беларусі. Сер. хім. навук. 1992. № 1. С. 70–72.
15. Ахрем А. А., Лахвич Ф. А., Хрипач В. А., Ковганко Н. В., Жабинский В. Н. // Докл. Академии наук СССР. 1985. Т. 283. С. 130–133.
16. Ляхович В. В., Цырлов И. Б. Индукция ферментов метаболизма ксенобиотиков. Новосибирск: Наука, 1981.
17. Weerasinghe P., Hallock S., Liepins A. // Exp. Mol. Pathol. 2001. Vol. 71. P. 89–98.
18. Weerasinghe P., Hallock S., Tang S. C., Liepins A. // Cell Biol. Toxicol. 2001. Vol. 17. P. 371–381.
19. Weerasinghe P., Hallock S., Tang S. C., Liepins A. // Pathol. Res. Pract. 2001. Vol. 197. P. 717–726.
20. Hartwell L. H., Kastan M. B. // Science. 1994. Vol. 226. P. 1821–1828.
21. King K. L., Cidlowski J. A. // Annu. Rev. Physiol. 1998. Vol. 60. P. 601–617.
22. Morgan S. E., Kastan M. B. // Adv. Cancer Res. 1997. Vol. 71. P. 1–25.
23. Vermeulen K., Berneman Z. N., VanBockstaele D. R. // Cell Prolif. 2003. Vol. 36. P. 165–175.
24. Santini R. P., Myrand S., Elferink C., Reiners J. J. Jr. // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2001. Vol. 299. P. 718–728.
25. Levine–Fridman A., Chen L., Elferink C. J. // Mol. Pharmacol. 2004. Vol. 65. P. 461–469.
26. Molinari M. // Cell Prolif. 2000. Vol. 33. P. 261–274.
27. McDonald E. R., El-Diery W. S. // Int. J. Oncol. 2000. Vol. 16. P. 871–886.

A. G. SYSA, P. A. KISELEV, V. N. ZHABINSKII, V. A. KHRIPACH

BRASSINOSTEROIDS AS MONOOXYGENASE EFFECTORS IN MAMMAL ADENOCARCINOMA

Summary

A number of the natural phytohormones and their synthetic stereoisomers has been studied. It has been found for the first time that brassinosteroids could act as regulators of monooxygenase activity in tumor cells, and the relationship between inhibitor efficiency and structure of phytohormones has been demonstrated. Some modified brassinosteroid synthetic analogues could have antitumor activity.