ХИМИЯ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ. — 1998. — № 3. — С. 355—357

Г. Тирзитис, Е. Казуш, Г. Дубурс

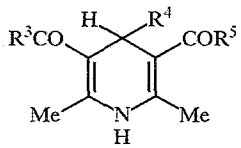
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-ДИГИДРОПИРИДИНА С ПЕРОКСИНИТРИТ-АНИОНОМ

Взаимодействие производных 1,4-дигидропиридина (1,4-ДГП) с пероксинитрит-анионом является реакцией окисления; продукты нитрования не были обнаружены. Установлено, что некоторые 1,4-ДГП увеличивают продолжительность времени жизни пероксинитрит-аниона, а также выход гидроксильного радикала при разложении пероксинитрит-аниона.

Пероксинитрит-анион ($ONOO^-$) является сильным окислителем и образуется из супероксида и окиси азота как в модельных системах, так и в организме [1, 2]. При протонировании пероксинитрит-анион образует нестабильную пероксиазотистую кислоту (ONOOH), спонтанно разлагающуюся с образованием гидроксильного радикала ($HO^{\bullet}$) и ($NO_2^{\bullet}$) [3]. Физиологическая роль пероксинитрит-аниона пока не ясна, однако известно, что это сильное бактерицидное соединение, усиленное образование которого повреждает окружающие ткани в области фагоцитоза. Обсуждается роль пероксинитрит-аниона как участника вторичной сигнальной системы в клетке [4].

1,4-ДГП кроме широко известной кардиоваскулярной обладают радиопротекторной, антиагрегационной и другимы видами физиологической активности [5, 6]. Не замещенные в положении 4 производные 1,4-ДГП являются антиоксидантами [7] и обладают высокой реакционной способностью в отношении свободных радикалов [8].

С целью изучения реакционной способности физиологически активных производных 1,4-ДГП с биологическими окислителями было проведено изучение реакции некоторых водорастворимых производных 1,4-ДГП (I), в том числе производных 1,4-дигидроизоникотиновой кислоты с пероксинитрит-анионом, а также продуктов этой реакции и влияние производных I на время жизни пероксинитрит-аниона и образование из последнего гидроксильного радикала.



Iа–ж

Анализ продуктов реакции 1,4-ДГП с пероксинитрит-анионом (таблица) показал, что в примененных условиях (фосфатный буфер, pH 7,4; температура 20 ± 2 °C) происходит главным образом окисление или деструкция 1,4-ДГП. Для 1,4-ДГП Iа имеет место также окислительный гидролиз сложноэфирного заместителя в положениях 3 и 5. Для соединения Iб, содержащего фенильный заместитель в положении 4, ни гидроксилирование, ни нитрование фенильного кольца не было обнаружено. Производные 1,4-дигидроизоникотиновой кислоты Iв и Iг, содержащие в положении 4 карбоксильную группу, претерпевают окислительное декарбоксилирование, отмеченное ранее при действии на эти соединения другого окислителя — нитрита натрия в уксусной кислоте [9]. Неожиданно было обнаружено, что

производные Iа и Iб увеличивают время жизни пероксинитрит-аниона, а Iб — также выход гидроксильного радикала (интенсифицируется гидроксилирование бензойной кислоты). Это свойство увеличения времени жизни (стабильности) пероксинитрит-аниона характерно для структуры 1,4-ДГП, так как соответствущее Iа производное пиридина — динатриевая соль 2,6-диметилпиридин-3,5-дикарбоксиметилкарбоновой кислоты — таким свойством не обладает. Возможно, что пероксинитрит-анион образует аддукт с соединением Iа, который более стабилен, чем сам пероксинитрит-анион. Максимум увеличения времени жизни пероксинитрит-аниона в упомянутом аддукте наблюдается при молярном соотношении пероксинитрит-аниона — Iа 1:1. Образование подобного аддукта пероксинитрит-аниона с аскорбиновой кислотой отмечено в работе [10]. 1,4-ДГП, содержащие электроноакцепторные заместители в положении 4 (Iб, д, з), и пиридиновое производное — динатриевая соль 2,6-диметилпиридин-3,5-дикарбоксиметилкарбоновой кислоты не реагируют с пероксинитрит-анионом ни с образующимся из него гидроксильным радикалом. Так как гидроксильный радикал энергично реагирует практически со всеми органическими соединениями, то можно предположить, что в данном случае из пероксинитрит-аниона образуется другой, более мягкий окислитель — криптогидроксильный радикал. Возможность существования криптогидроксильных радикалов отмечалась неоднократно (см., например, [11]). По всей вероятности, криптогидроксильный радикал образуется при распаде ONOOH, поскольку при pH > 11 окисление идет очень медленно или вообще не происходит.

Влияние производных 1,4-ДГП на время жизни (τ/τ_0)* пероксинитрит-аниона ($ONOO^-$) и образование гидроксильного радикала (F/F_0)*2

Соединение	$R_3 = R_5$	R_4	τ/τ_0	F/F_0	Продукты реакции (данные ВЭЖХ)
Iа	OCH_2COONa	H	1,45	0,89	Динатриевая соль 2,6-диметилпиридин-3,5-дикарбоксиметилкарбоновой кислоты (85%); динатриевая соль 2,6-диметилпиридин-3,5-дикарбоновой кислоты (15%)
Iб	OCH_2COONa	C_6H_5	1,15	1,57	Iб 100%
Iв	CH_3	COONa	0,34	0,69	2,6-Диметил-3,5-диацетилпиридин (100%)
Iг	OC_2H_5	COONa	0,25	0,34	2,6-Диметил-3,5-диэтоксикарбонилпиридин (100%)
Iд	OC_2H_5	$CONH(CH_2)_2SO_3Na$	0,95	1,00	Iд (95%) и два неидентифицированных продукта
Iж	OC_2H_5	$CONHCHCOONa$ $\vert$ $(CH_2)_2COONa$	0,77	1,00	Iж (95%) и четыре неидентифицированных продукта
Динатриевая соль 2,6-диметилпиридин-3,5-дикарбоксиметилкарбоновой кислоты			1,0	1,0	Исходное вещество (100%)

* τ — время жизни (с) пероксинитрит-аниона в присутствии исследуемого вещества, τ_0 — в отсутствие вещества.

*2 F — относительная интенсивность флуоресценции оксибензойных кислот (продуктов гидроксилирования бензойной кислоты) в присутствии исследуемого вещества, F_0 — в отсутствие вещества .

Таким образом, производные 1,4-ДГП, содержащие в молекуле электронодонорные группы, окисляются пероксинитрит-анионом (или продуктами его превращения) с образованием в основном соответствующих производных пиридина, а в случае производных 1,4-дигидроизоникотиновой кислоты происходит окислительное декарбоксилирование.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Производные 1,4-ДГП, 1,4-дигидроизоникотиновой кислоты и пиридина синтезированы в Латвийском институте органического синтеза (содержание основного вещества не менее 98%), остальные реагенты фирмы Aldrich.

Пероксинитрит-анион генерировали согласно методике [1] из растворов $NaNO_2$, HCl и H_2O_2. Эквимолярные количества пероксинитрит-аниона и исследуемых соединений в 0,1 моль фосфатном буфере (pH 7,4) смешивали в установке остановленной струи спектрофотометра Hitachi 557. За концентрацией пероксинитрит-аниона следили по абсорбции при 302 нм. Концентрацию веществ (~0,25 ммоль) выбирали в зависимости от концентрации пероксинитрит-аниона, которую определяли непосредственно перед опытом. Время жизни пероксинитрит-аниона в контрольном опыте 1,52 с.

Образование гидроксильного радикала определяли флуориметрически по гидроксилированию бензойной кислоты согласно [12]. В трехгранной кювете флуориметра Hitachi 850, расположенной под углом 45° к возбуждающему лучу, быстро смешивают 5 ммоль раствор бензойной кислоты и 0,1 ммоль раствор исследуемого соединения в 0,1 моль фосфатном буфере (pH 7,4) с раствором пероксинитрит-аниона (концентрация ~0,25 ммоль) при 20 ± 2 °C и через 5 мин измеряют относительную флуоресценцию при 430 нм (возбуждение 300 нм). В таблице приведены средние данные (τ/τ_0) и (F/F_0) 5....8 измерений; среднеквадратичная ошибка не превышает ±10%.

Анализ продуктов реакции с пероксинитрит-анионом проведен методом ВЭЖХ на приборе Gilson 302 (УФ детектор) с использованием колонки 4,6×250 мм со стационарной фазой Zorbax C_8. Подвижная фаза 20...40% ацетонитрила в 0,1 моль фосфатном буфере.

За предоставление производных 1,4-ДГП, 1,4-дигидроизоникотиновой кислоты и пиридина авторы приносят благодарность Я. Улдрикису и Я. Пойкансу. ВЭЖХ выполнена В. Г. Мишневой.

Исследования выполнены в рамках гранта 718 Латвийского совета по науке и благодаря существенному гранту The Wellcome Trust.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Beckman J. S., Beckman T. W., Chen Jun, Marshall P. A., Freeman B. E.* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA — 1990. — Vol. 87. — P. 1620.
2. *Koppenol W. H., Moreno J. J., Pryor W. A.* // Chem. Res. Toxicol. — 1992. — Vol. 5. — P. 834.
3. *Guang Yang, Candy T. E. G., Boaro M., Wilkin H. E., Jones P., Nazhat N. B., Saadalla-Nazhat R. A., Blake D. R.* // Free Radic. Biol. Med. — 1992. — Vol. 12. — P. 327.
4. *Muijesers R. B. R., Folkerts G., Henricks P. A. J., Sadeghi-Hashjin G., Nijkamp F.* // Life Sci. — 1997. — Vol. 60. — P. 1833.
5. *Ivanov E. V., Ponomarjova T. V., Merkušev G. N., Dubur G. Ja., Bisenieks E. A., Dauvarte A. Z., Pilščik E. M.* // Radiobiol. Radiother. — 1990. — Vol. 31. — P. 69.
6. *Poikans J., Tirzitis G., Bisenieks E., Uldrikis J., Gurevich V. S., Mikhailova I. A., Dubur G.* //Eur. J. Med. Chem. — 1994. — Vol. 29. — P. 325.
7. *Tirzitis G., Kirule I., Dubur G.* // Fat Sci. Technol. — 1988. — Vol. 90. — P. 411.
8. *Рубене Д. Я., Тирзит Г. Д., Дубур Г. Я.* // Изв. АН ЛатвССР. Сер. хим. — 1982. — № 2. — С. 212.
9. *Дубур Г. Я., Улдрикис Я. Р.* // ХГС. — 1972. — № 3. — С. 354.
10. *Bartlett D., Church D. F., Bounds P. L., Koppenol W. H.* // Free Radic. Biol. Med. — 1995. — Vol. 18. — P. 85.
11. *Moorhouse C. P., Halliwell B., Grootveld M., Gutteridge J. M. C.* // Biochim. Biophys. Acta — 1985. — Vol. 834. — P. 261.
12. *Gutteridge J. M. C.* // Biochem. J. — 1987. — Vol. 243. — P. 709.

Латвийский институт
органического синтеза,
Рига LV-1006
e-mail: tirzitis@osi.lanet.lv

Поступило в редакцию 30.01.98