

УДК 577.19

ДИНИТРОЗИЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ЖЕЛЕЗА С КАРНОЗИНОМ: СИНТЕЗ, СВОЙСТВА, ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ**О.В. Космачевская, К.Б. Шумаев, А.Ф. Топунов***Институт биохимии им. А.Н. Баха, Москва, Россия*

Сердечно-сосудистые заболевания по распространенности занимают первое место. Для их лечения существует целый класс фармакологических препаратов, действие которых основано на выделении газа – оксида азота (NO). Это такие широко используемые препараты как нитроглицерин, нитропруссид и нитрит, образующие NO при восстановлении. К сожалению, эти вещества нестабильны, неспецифичны и токсичны. В настоящее время активно разрабатываются вещества, несущие «готовую к употреблению» молекулу NO – динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) [1]. Эти комплексы включают $[\text{Fe}(\text{NO})_2]$ – фрагмент, связанный с различными лигандами, в качестве которых могут быть природные вещества (глутатион и цистеин) и синтетические. ДНКЖ с глутатионом и цистеином хорошо себя зарекомендовали в лечении таких сердечно-сосудистых заболеваний как гипертония, ишемия, инсульт [1]. ДНКЖ с глутатионовыми лигандами являются основной рабочей формой оксида азота (NO) в организме, позволяющей депонировать NO и переносить его от места образования к биологическим мишеням [1]. Образование этих комплексов зарегистрировано в организме человека, животных, растений и бактерий. За 30-ти летнюю историю изучения ДНКЖ было показано, что они обладают широким спектром биологических активностей, которые обусловлены высвобождающимся при их распаде NO.

Помимо остатков цистеина лигандами ДНКЖ может быть имидазольная группа гистидина [2]. В литературе имеются данные о ДНКЖ, в состав которых входит имидазол и его производные [3, 4]. В организме низкомолекулярным гистидинсодержащим соединением является дипептид карнозин (бета-аланил-L-гистидин), который в высоких концентрациях (более 20 мМ) содержится в нервных и мышечных тканях [5]. Карнозин функционирует как нейротрансмитер, иммуностимулятор, ранозаживляющий агент и может замедлять старение в культивированных клетках человеческих фибробластов [5, 6]. Кроме того, карнозин является внутриклеточным pH-буфером и обладает антиоксидантными свойствами [7, 8]. В связи с этим была поставлена задача изучить возможность образования связанных с карнозином ДНКЖ.

В формировании ДНКЖ участвует пул хелатируемого железа [9]. Однако по данным работы [10] карнозин не связывает ионы железа. Поэтому для получения комплексов использовали ДНКЖ с фосфатными лигандами (ДНКЖ-PO_4^-), которые нестабильны и служат донором $\text{Fe}(\text{NO})$ – группы [11]. В этом случае был зарегистрирован синглетный сигнал ЭПР с g-фактором, равным 2,034, характерный для динитрозильных комплексов железа. Аналогичный сигнал возникал в реакционной смеси, содержащей карнозин и двухвалентное железо и донор нитроксила (HNO/NO-). При использовании в качестве донора NO PAPA/NONOate ДНКЖ образовывались в следовых количествах. Гистидин и имидазол в присутствии PAPA/NONOate также не формировали ЭПР-детектируемые ДНКЖ. Тем не менее, PAPA/NONOate является эффективным источником NO для других динитрозильных комплексов железа, например для ДНКЖ-PO_4^- . Это значит, что карнозиновые ДНКЖ образуются только при участии $\text{Fe}(\text{NO})_2$ группы или HNO/NO- . Скорость формирования комплексов дозозависимо стимулировал метилглиоксаль (MG) – активное карбонильное соединение. Однако MG не влиял на образование комплексов при взаимодействии карнозина с ДНКЖ-PO_4^- . Было показано, что метилглиоксаль не реагирует с имидазолом, но взаимодействует с гистидином и карнозином. Поскольку в этом эксперименте характер спектра ЭПР карнозиновых ДНКЖ не меняется можно предположить, что MG либо не вызывает ковалентную модификацию карнозиновых лигандов, либо реагирует с химической группой удаленной от сайта связывания железа.

Одним из продуктов реакции карнозина с MG являются перекрестно-сшитые основания Шиффа, образующиеся в результате взаимодействия аминогрупп двух молекул карнозина с карбонильными группами MG. Образование последних было зарегистрировано в экспериментальной системе по максимуму поглощения при 334 нм, который характерен для азометиновой группы [12]. На основании полученных данных был сделан вывод, что перекрестно-сшитые основания Шиффа являются более эффективным лигандом при формировании ДНКЖ, чем индивидуальный карнозин (рис. 1).

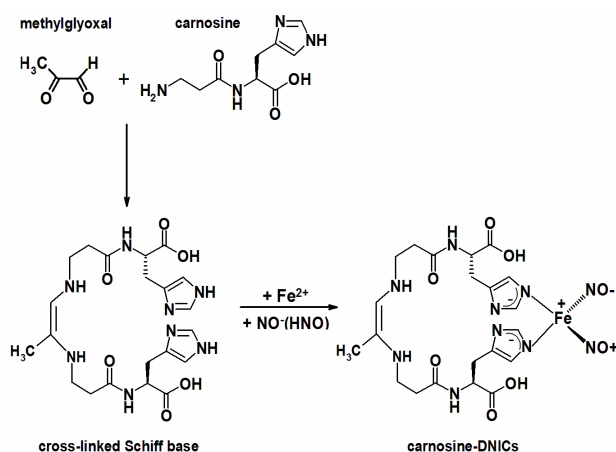


Рис. 1. Схема образования ДНКЖ, связанных с продуктами взаимодействия карнозина и метилглиоксала (перекрестно-сшитые основания Шиффа)

Полученные динитрозильные комплексы железа с карнозином можно рассматривать как новый класс фармакологических препаратов с синергетическим терапевтическим действием, которые позволяют корректировать метаболизм оксида азота и защищать клетки при окислительном и нитрозативном стрессах.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант № 19-29-12052).

ЛИТЕРАТУРА

1. Vanin A.F. Dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands as a «working form» of endogenous nitric oxide. // Nitric Oxide. 2016. 54. 15–29.
2. Boese M., Mordvintsev P.I., Vanin A.F., Busse R., Malsch A.J. S-nitrosation of serum albumin by dinitrosyl-iron complex. // J. Biol. Chem. 1995. 270. 29244–29249.
3. Wang X., Sunderberg E.B., Li L., Kantardjieff K.A., Herron S.R., Lim M., Ford P.C. A cyclic tetra-nuclear dinitrosyl iron complex [Fe(NO)₂(imidazolate)₄]: synthesis, structure and stability. // Chem. Commun. 2005. 4. 477–479.
4. Tsai M.C., Tsai F.T., Lu T.T., Tsai M.L., Wei Y.C., Hsu I.J., Lee J.F., Liaw W.F. Relative binding affinity of thiolate, imidazolate, phenoxide, and nitrite toward the {Fe(NO)₂} motif of dinitrosyl iron complexes (DNICs): The characteristic pre-edge energy of {Fe(NO)₂}₉ DNICs. // Inorg. Chem. 2009. 48. 9579–9591.
5. Reddy V.P., Garrett M.R., Perry G., Smith M.A. Carnosine: A versatile antioxidant and antiglycating agent. // Sci. Aging Knowl. Environ. 2005. 2005(18). 12.
6. Hipkiss A.R., Brownson C. Carnosine reacts with protein carbonyl groups: another possible role for the anti-ageing peptide? // Biogerontology. 2000. 1. 217–223.
7. Decker E.A., Livisay S.A., Zhou S.A. Re-evaluation of the antioxidant activity of purified carnosine. // Biochemistry (Moscow). 2000. 65. 766–770.
8. Boldyrev A., Bulygina E., Leinsoo T., Petrushanko I., Tsubone S., Abe H. Protection of neuronal cells against reactive oxygen species by carnosine and related compounds. // Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol. 2004. 137. 81–88.
9. Vanin A.F. Dinitrosyl iron complexes with thiolate ligands: Physico-chemistry, biochemistry and physiology. // Nitric Oxide. 2009. 21. 1–13.
10. Decker E.A., Crum A.D., Calvert J.T. Differences in the antioxidant mechanism of carnosine in the presence of copper and iron. // J. Agric. Food Chem. 1992. 40. 756–759.
11. Vanin A.F., van Faassen E. // Radicals for life: The various forms of nitric oxide. (van Faassen E., Vanin A.F., eds.) / Amsterdam: Elsevier, 2007. P. 19–74.
12. Yim H.-S., Kang S.-O., Hah Y.-Ch., Chock P.B., Yim M.B. Free radicals generated during the glycation reaction of amino acids by methylglyoxal. A model study of protein-cross-linked free radicals. // J. Biol. Chem. 1995. 270. 28228–28233.
13. Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Timoshin A.A., Vanin A.F., Topunov A.F. Dinitrosyl iron complexes bound with haemoglobin as markers of oxidative stress. // Methods in Enzymology. 2008. 436. 445–461.
14. Shumaev K.B., Dudylyina A.L., Ivanova M.V., Pugachenko I.S., Ruuge E.K. Dinitrosyl iron complexes: Formation and antiradical action in heart mitochondria // Biofactors. 2018. 44. 3. 237–244.
15. Shumaev K.B., et al. Protective effect of dinitrosyl iron complexes with glutathione in red blood cell lysis induced by hypochlorous acid. // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2019. 2019, Article ID 2798154, 12 pages.