

СИНТЕЗ N-ПИРИДОКСХИТОЗАНОВ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ

А.Н. Левов, А.М. Голубков, А.В. Ильина,
С.А. Лопатин, В.П. Варламов

Центр «Биоинженерия» РАН, Москва, E-mail:enzyme@biengi.ac.ru

SYNTHESIS OF N-PYRIDOXCHITOSANS AND STUDY THEIR ANTIOXIDATIVE PROPERTIES

A.N. Levov, A.M. Golubkov, A.V. Ilyina,
S.A. Lopatin, V.P. Varlamov

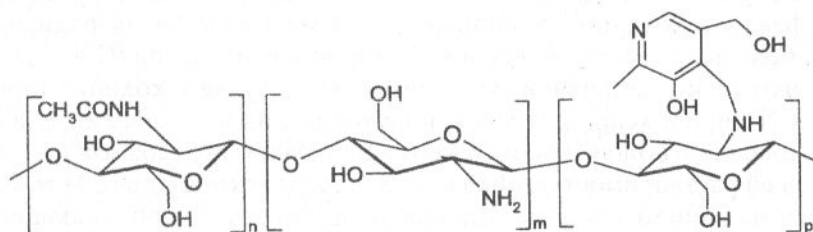
Bioengineering Center, Russian Academy of Sciences, Moscow, E-mail:enzyme@biengi.ac.ru

ABSTRACT

Chitosan derivatives containing a fragment of vitamin B6 were synthesized with the use of reductive amination (condensation with pyridoxal hydrochloride and further reduction with sodium borohydride). Antioxidative properties of these derivatives were studied.

Для усиления антиоксидантных свойств хитозана [1] необходимо наличие в молекуле полисахарида дополнительных групп атомов или фрагментов молекул, способных участвовать в окислительно-восстановительных процессах вместе со свободными радикалами. С этой целью нами осуществлено введение в молекулу хитозана фрагмента витамина В₆ (пиридоксамина), основой которого является 3-гидроксипиридин, антиоксидантные свойства которого уже воплощены в лекарственных препаратах «эмоксипин» и «мексидол» [2].

N-пиридоксхитозаны были синтезированы взаимодействием хитозанов с различной молекулярной массой (М.м.) и степенью дезацетилирования (СД) с пиридоксальгидрохлоридом (рис.), с последующим восстановлением основания Шиффа боргидридом натрия. Степень замещения (СЗ) полученных производных была определена на основании ПМР-спектров, по соотношению сигналов б-протона пиридинового цикла (7,83 м.д.) и протонов ацетильной группы (2,05 м.д.). Исходные низкомолекулярные хитозаны были получены кислотным гидролизом высокомолекулярного хитозана (700 kDa) в соляной кислоте и охарактеризованы с помощью высокоэффективной гельпроникающей хроматографии. Образцы хитозана с М.м. 60, 200 и 500 кДа предоставлены ЗАО «Биопрогресс» (г. Щёлково).



Структура N-пиридоксхитозана

Антиоксидантные свойства N-пиридоксхитозанов изучали с помощью хемилюминесцентной модельной системы окисления, состоящей из гемоглобина, пероксида водорода и люминола [3]. В качестве измеряемых параметров служили максимальная интенсивность свечения (амплитуда хемилюминесценции) и время от момента введения инициатора (H₂O₂) до начала развития свечения (латентный период). Концентрация исследуемых соединений составляла 10⁻³ моль/л в воде. Для количественной оценки спо-

способности производных хитозана взаимодействовать с радикалами, локализованными в водной фазе данной модельной системы, результаты тушения хемилюминесценции пересчитывали в координатах уравнения Штерна-Фольмера: $A_0 / A_i = 1 + K_i C$, где A_0 и A_i — амплитуда хемилюминесценции модельной системы без и в присутствии ингибитора; K_i — константа тушения хемилюминесценции, условно равная степени перехвата ингибитором радикалов, образующихся в модельной системе; C — молярная концентрация ингибитора. В таблице приведены величины констант, характеризующие антиоксидантные свойства исходных хитозанов и их производных — N-пиридоксхитозанов.

Антиоксидантные свойства исходных хитозанов и N-пиридоксхитозанов

Северная широта	Глубина, м	Доля неполовозрелых особей, %	Доля от числа половозрелых особей, %			Самки среди половозрелых, (%)	Самки IV-V СЗГ, % от преднерестовых самок	Средняя скорость
			преднерестовые	нерестящиеся	отнерестившиеся			
55°54'–56°23'	162–235	28.8	97.5	2.2	0.3	46.7	16.8	40
54°57'	110	0.0	60.6	38.9	0.5	26.6	66.0	40
54°40'	167	0.8	59.9	37.3	2.8	9.9	37.5	30
54°08'–54°34'	165–215	34.0	95.3	0.8	3.9	67.2	6.8	40
53°53'	235	13.5	85.1	1.5	13.4	81.0	3.4	50
53°41'	200	27.0	75.8	0.9	23.3	74.1	8.1	50
53°24'	90	0.0	71.5	28.5	0.0	61.1	74.4	40
53°12'	123	0.9	84.7	12.4	2.9	53.3	52.3	30
52°49'	220	19.0	63.3	2.3	34.4	76.6	1.9	40
52°39'	157	0.0	76.0	23.0	1.0	38.0	35.3	40

Анализ полученных данных позволяет сделать вывод, что антиоксидантные свойства исходных хитозанов с СД 85 и 95 с увеличением молекулярной массы практически не изменяются. Введение в молекулы хитозанов с СД 95 фрагмента пиридоксамина (при одинаковой степени замещения) увеличивает антиоксидантную активность на порядок по сравнению с исходными полисахаридами. Это связано с появлением в молекулах полимера оксиметильных и фенольных групп, способных участвовать в свободно-радикальных реакциях. Однако небольшая степень замещения N-пиридоксхитозанов (СЗ – 0,3) приводит к меньшим значениям антиоксидантной активности, чем в случае исходного пиридоксальгидрохлорида. Для N-пиридокспроизводных, полученных из исходных хитозанов с СД 85, корреляция антиоксидантной активности не такая явная, и это, возможно, связано с недостаточно хорошей растворимостью образцов N-пиридоксхитозанов с М.м. 200 и 500 кДа.

Таким образом, пиридоксальные производные хитозана, проявляющие антиоксидантные свойства, могут служить основой для создания таких соединений, в которых будут совмещаться несколько видов активностей при общей малой токсичности биоматериала.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kyung W. Kim, R.L. Thomas // Antioxidative activity of chitosans with varying molecular weights // Food Chemistry. 2007. V. 101. N. 1. P. 308–313.
2. Клебанов Г.И., Любичкий О.Б., Васильева О.В., Климов Ю.В. и др. // Антиоксидантные свойства 3-оксипиридина: мексидола, эмоксипина и проксипина // Вопр. мед. химии. 2001. N. 3. С. 25–27.
3. Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В., Любичкий О.Б., Клебанов Г.И., Владимиров Ю.А. // Вопр. мед. химии. 1997. Т. 43. N. 1. С. 87–92.