

сцинтилляционным методом на счетчике SL-4000 по специально разработанной методике. Раствор АСП точной концентрации вводили в сцинтиллятор на основе диоксана и измеряли скорость счета. Предварительно с помощью эталонов строили зависимость эффективности счета от концентрации введенного в сцинтиллятор нерадиоактивного АСП.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ениколопян Н. С., Матковский П. Е. Неорганические газообразные окислы как сомономеры. М., 1985.
2. Lai T. W., Sen A. // Organometallics. 1984. V. 3. № 6. P. 866.
3. Sen A. // Chemtech. 1986. V. 16. № 1. P. 48.
4. Шат. 3689460 США // Chem. Abstrs. 1972. V. 77. № 152860h.
5. Sterkweather H. W., Jr. // J. Polymer Sci. Phys. Ed. 1977. V. 15. P. 247.
6. Дехант И., Данц Р., Киммер В., Шмольке Р. Инфракрасная спектроскопия полимеров. М., 1976.
7. Беллами Л. Г. Инфракрасные спектры сложных молекул. М., 1963.
8. Colombo P. // J. Polymer Sci. Polymer Chem. 1966. V. 4. № 1. P. 29.
9. Эмсли Д., Финей Д., Сотклиф Л. Спектроскопия ЯМР высокого разрешения, М., 1969.

Институт структурной макрокинетики
АН СССР

Поступила в редакцию
02.11.89

Отделение Института химической
физики им. Н. Н. Семенова АН СССР

Институт физиологии активных
веществ АН СССР

УДК 541(515+64):539.3

© 1990 г. О. К. Гасымов, Р. Б. Асланов, С. Р. Нуриев,
Ш. В. Мамедов, К. М. Львов

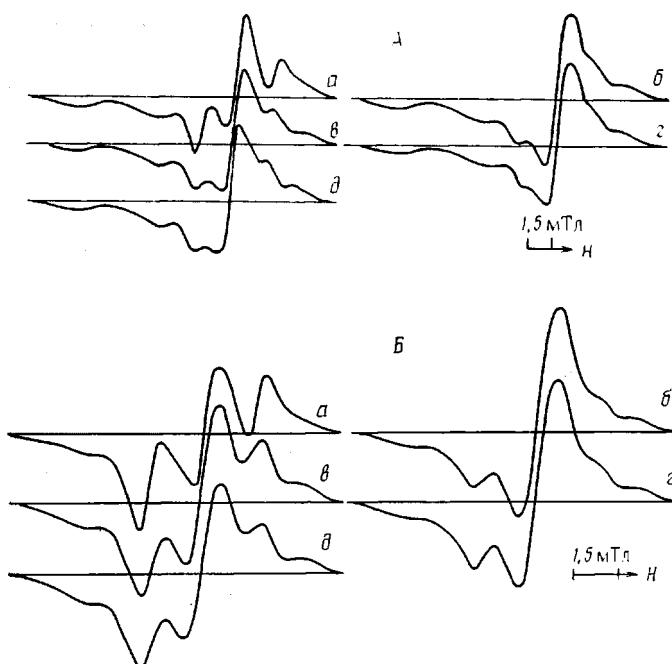
СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ МЕХАНИЧЕСКОЙ ДЕСТРУКЦИИ КЕРАТИНА И КОЛЛАГЕНА

Изучены свободнорадикальные процессы при механической деструкции кератина шерсти и коллагена сухожилий при 77 К. Показано, что первичными являются разрывы связей $C_{\alpha}-C$ и $S-S$ и образование радикалов $-NH-CHR$, $CO-NH-$ и $R\dot{S}$. Рассмотрены фотоприводы первичных радикалов.

Механическая деструкция белков приводит к разрыву остатка пептидных цепей, в результате чего образуются свободные радикалы [1, 2]. Изучение фотоприводов свободных радикалов, образующихся при механической деструкции фиброна шелка, показало, что первичными являются радикалы $-NH-CHR$ и $CO-NH-$, которые возникают в результате разрыва пептидных цепей по связям $C_{\alpha}-C$ [3]. Спектр ЭПР серосодержащих белков, механически деструктированных при 77 К, включает в себя также спектр радикалов $R\dot{S}$ [4, 5].

В настоящей работе рассмотрена природа и фотоприводы свободных радикалов, образующихся при механической деструкции таких фибропротеиновых белков, как кератин шерсти и коллаген сухожилий.

Изучен кератин белой овечьей шерсти. Для удаления жиров шерсть тщательно промывали в смеси метиловый спирт – хлороформ (1 : 2) и высушивали при 293 К. Коллаген изучали в волокнах сухожилий, извлеченных из хвоста крысы. Эти сухожилия на 80% состоят из коллагена. Волокна промывали в воде, а затем в смеси метиловый спирт : хлороформ = 1 : 2 и высушивали при 293 К. Механическую деструкцию



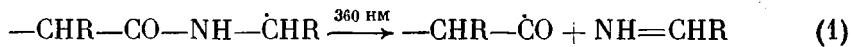
Спектры ЭПР-радикалов механически деструктурированного кератина шерсти (*A*) и коллагена сухожилий (*B*) при 77 К до облучения (*a*), после облучения светом с $\lambda \approx 360$ нм в течение 28 мин (*b*), после дальнейшего облучения светом с $\lambda > 520$ нм в течение 24 мин (*c*), с $\lambda \approx 360$ нм в течение 28 мин (*д*) и с $\lambda > 520$ нм в течение 24 мин (*е*)

кератина и коллагена при 77 К и облучение светом разного спектрального состава проводили по методике, описанной в работе [3]. Спектры ЭПР регистрировали при 77 К на спектрометре РЭ-1306.

На рисунке приведен спектр ЭПР механически деструктированного при 77 К кератина шерсти. Он представляет собой наложение характерного анизотропного спектра ЭПР радикалов R_S и спектра ЭПР триплетной формы. Расщепление между первой и третьей компонентами триплета $\Delta H_{p1,3}$ равно $\sim 4,4$ мТл, ширина компонент ΔH_{k1} , ΔH_{k2} , ΔH_{k3} равна соответственно $1,02 \pm 0,05$; $1,16 \pm 0,05$ и $0,88 \pm 0,03$ мТл. Облучение образца светом в области 360 нм приводит к уменьшению интенсивности триплетного спектра ЭПР и появлению синглетного спектра ЭПР с $\Delta H = -1,6$ мТл (рисунок, *A*, спектр *б*). Последующее облучение образца светом с $\lambda > 520$ нм приводит к уменьшению интенсивности синглетного и появлению многокомпонентного спектра ЭПР (рисунок, *A*, спектр *в*). Повторное облучение образца сначала светом с λ в области 360 нм, а затем светом с $\lambda > 520$ нм приводит к превращению многокомпонентного спектра в синглетный, а затем синглетного в многокомпонентный (рисунок, *A*, спектры *г*, *д*). При протекании этих фотопроцессов общая концентрация радикалов существенно не меняется. Радикалы R_S в фотопреакциях при 77 К не участвуют (рисунок, *A*, спектры *а*–*д*). Подобный триплетный спектр ЭПР ($\Delta H_{p1,2} = 2,38$ мТл; $\Delta H_{p2,3} = 2,11$ мТл; $\Delta H_{k1} = -0,99$ мТл; $\Delta H_{k2} = 1,05$ мТл; $\Delta H_{k3} = 0,88$ мТл) и его изменения в ходе фотопреакций наблюдаются и при механической деструкции коллагена в составе сухожилий (рисунок, *B*, спектры *а*–*д*).

Триплетный спектр ЭПР деструктированных при 77 К кератина и коллагена по основным параметрам и по картине фотопревращений идентичен спектру ЭПР, наблюдавшемуся в фиброне шелка. При механической деструкции фиброна из трех типов связей остатка пептидных цепей происходит разрыв только связей C_α–C и образуются радикалы –NH–

$-\dot{\text{C}}\text{HR}$ (I) и $\dot{\text{C}}\text{O}-\text{NH}-$ (II) [3, 6]. Для радикалов типа I характерен много компонентный спектр ЭПР. Количество компонент зависит от типа аминокислотного остатка, в котором происходит разрыв связи $\text{C}_\alpha-\text{C}$. При последовательном действии света с λ в области 360 нм и с $\lambda>520$ нм радикалы типа I вступают в следующие основные реакции [7]:



Радикал $-\text{CHR—}\dot{\text{C}}\text{O}$ имеет синглетный спектр ЭПР с $\Delta H=1,3\pm0,2$ мТл и $g=2,001$. Этот радикал чувствителен к действию света с $\lambda>520$ нм. Образовавшиеся в реакции (2) радикалы типа I при последующем действии света опять могут участвовать в фотопреакциях (1) и (2). Радикал II имеет триплетный спектр ЭПР ($1:1:1 \Delta H_p=2,2$ мТл, $\Delta H_k=-0,75$ мТл), вид которого не зависит от типа соседних аминокислотных остатков [3]. Этот радикал под действием света с λ в области 360 нм превращается в радикал, имеющий синглетный спектр ЭПР с $\Delta H=1,7$ мТл. Образовавшийся радикал в последующих фотопреакциях не участвует [3, 6].

В работе [3] был проведен подробный анализ природы радикалов, которые должны были бы возникнуть при разрыве связей C—N и $\text{C}_\alpha-\text{N}$ остава пептидной цепи. Спектры ЭПР этих радикалов не наблюдаются при механической деструкции кератина и коллагена.

Итак, анализ спектров ЭПР радикалов и их фотопреакций позволяет сделать вывод о том, что при механической деструкции кератина и коллагена остав пептидной цепи рвется в основном по связям $\text{C}_\alpha-\text{C}$ с образованием радикалов $-\text{NH—}\dot{\text{C}}\text{HR}$ и $\dot{\text{C}}\text{O—NH—}$, которые при действии света участвуют в характерных реакциях.

В отличие от фибриона шелка и коллагена, которые не имеют серо-содержащих аминокислотных остатков, молекулы кератина шерсти содержат большое количество поперечных дисульфидных связей. При механической деструкции происходит разрыв этих связей с образованием радикалов $\text{R}\ddot{\text{S}}$ (рисунок, А, спектры $a-d$). В работах [8, 9] было показано, что при механической деструкции белков кроме свободнорадикальных процессов протекает и механоденатурация. Образование радикалов $\text{R}\ddot{\text{S}}$ при механической деструкции кератина показывает, что при этом происходит не только разрыв пептидных цепей, но и их разрыхление вследствие разрыва поперечных связей S—S . По соотношению интегральных интенсивностей спектров ЭПР радикалов $\text{R}\ddot{\text{S}}$ (60%) и суммы радикалов I и II (40%) можно судить об относительном вкладе механической деструкции, протекающей по тому или иному пути в различных условиях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Барамбайм Н. К. Механохимия высокомолекулярных соединений. М., 1971. 364 с.
- Бутягин П. Ю. // Докл. АН СССР. 1961. Т. 140. № 1. С. 145.
- Львов К. М., Гасымов О. К., Мамедов Ш. В. // Высокомолек. соед. А. 1984. Т. 26. № 9. С. 1903.
- Ульберг К., Бутягин П. Ю. // Докл. АН СССР. 1963. Т. 149. № 5. С. 1194.
- Абагян Г. В., Бутягин П. Ю. // Докл. АН СССР. 1964. Т. 154. № 6. С. 1444.
- Львов К. М., Гасымов О. К., Мамедов Ш. В. // Высокомолек. соед. А. 1984. Т. 26. № 10. С. 2155.
- Каюшин Л. П., Грибова З. П., Азизова О. А. ЭПР фотопроцессов биологических соединений. М., 1973. 304 с.
- Дубинская А. М., Сегалов Н. Е., Белавцева Е. М., Кабанова Т. А., Истронов Л. П. // Биофизика. 1980. Т. 25. № 4. С. 610.
- Якутева Л. Д., Дубинская А. М. // Биофизика. 1984. Т. 29. № 3. С. 365.

Институт физики АН АзССР

Поступила в редакцию

Институт химической физики АН СССР
им. Н. Н. Семенова

13.11.89