

УДК 547.787.2 + 535.33/ .34

**ОРТО-ГИДРОКСИПРОИЗВОДНЫЕ 2,5 – ДИФЕНИЛ – 1,3 – ОКСАЗОЛА И
2,5 – ДИФЕНИЛ – 1,3,4 – ОКСАДИАЗОЛА В КАЧЕСТВЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ
ЗОНДОВ ДЛЯ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ
МОДЕЛЬНЫХ БИОМЕМБРАН**

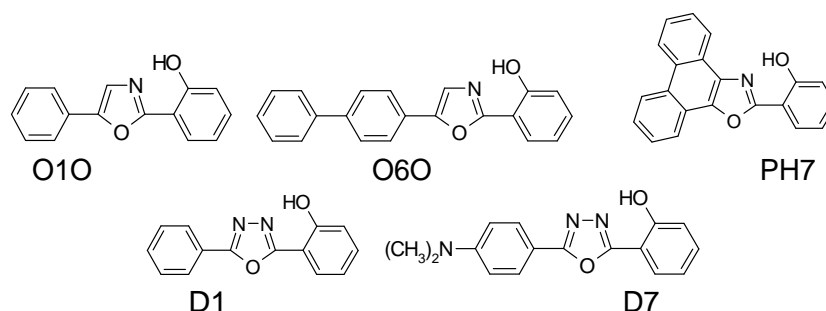
© 2001 Е.А.Посохов, Т.П.Бойко*, Д.А.Бевзюк*

Поиск новых флуоресцентных зондов для наблюдения за изменениями физико-химических свойств биологических мембран обусловлен необходимостью изучения этих изменений при различных патологических состояниях, механизм возникновения и развития которых связан с нарушением структуры и свойств мембран [1].

В последние годы все большее распространение получают токсикомании, вызванные вдыханием летучих органических растворителей и их смесей. Это обусловило проведение данного исследования, целью которого явилось изучение возможности применения орто-гидроксипроизводных 2,5-дифенил-1,3-оксазола и 2,5-дифенил-1,3,4-оксадиазола в качестве флуоресцентных датчиков для исследования изменений в физико-химических свойствах биомембран в результате воздействия на них летучих органических растворителей: ацетона (полярного, способного к образованию водородных связей) и уайт-спирита (неполярного, не образующего водородные связи) [2,3].

Выбор этих соединений в качестве флуоресцентных зондов обусловлен тем фактом, что флуоресцентные характеристики различных орто-гидроксипроизводных оксазола и оксадиазола зависят от протоноакцепторной способности, полярности и вязкости микроокружения [4,5,6].

Ранее нами была показана возможность исследования физико-химических свойств модельных биомембран с помощью орто-гидроксипроизводных 2,5-дифенил-1,3-оксазола и 2,5-дифенил-1,3,4-оксадиазола [7], спектрально-люминесцентные характеристики которых были детально изучены в работах [4,5,6]. Для настоящего исследования были отобраны соединения, значительно различающиеся по своей липофильности [1]. При этом исходили из предположения, что области их локализации в мембране различны и соответствуют липофильности зондов [7].



Экспериментальная часть

В настоящей работе были проведены измерения флуоресценции орто-гидрокси производных 2,5-дифенил-1,3-оксазола и 2,5-дифенил-1,3,4-оксадиазола в водных растворах, содержащих липидные везикулы размером 40-50 нм, с концентрацией липидов 0.5-2 мг/мл, и добавкой 25 мольных % холестерина, а также 5 мкг/л белка (сывороточного альбумина) [1]. В качестве фосфолипида использовался фосфатидилхолин. Светорассеяние суспензии частиц, качественно оцениваемое по поглощению на длине волны 400 нм (D_{400}) находилось в пределах 0.23 – 0.25. Концентрация добавленных зондов – 10^{-6}

* Институт неврологии, психиатрии и наркологии АМН Украины, г. Харьков

моль/ л, таким образом, молярное отношение липид/ зонд составляло 1000:1. Измерение спектров флуоресценции производилось на спектрофлуориметре «Hitachi» – F 4010 через 1 час после прибавления зондов к липидным везикулам.

Для оценки степени воздействия паров растворителя использовались биомембраны, предварительно помещенные на 1 час в насыщенные пары ацетона и уайт-спирита в герметичном стеклянном сосуде (2 мл растворителя испаряли в 1 л объема из чашки Петри диаметром 90 мм в течение 15-20 мин). Суспензия модельных мембран подвергалась воздействию насыщенных паров ацетона и уайт-спирита в течение одного часа.

В качестве контрольного образца использовали мембраны, не подвергавшиеся действию паров растворителей.

Обсуждение результатов

Как видно из данных табл.1, в случае воздействия уайт-спирита интенсивность флуоресценции всех использованных зондов не изменялась по сравнению с контролем. В случае воздействия ацетона наблюдалось заметное увеличение интенсивности коротковолновой ($\lambda = 410$ нм) полосы флуоресценции зонда O1O (рис.1), сопровождавшееся также незначительным уменьшением интенсивности его длинноволновой полосы флуоресценции ($\lambda = 490$ нм).

Таблица 1. Флуоресцентные характеристики исследуемых зондов в растворах модельных мембран в присутствии насыщенных паров ацетона и уайт-спирита

| Зонд | λ , нм | Интенсивность флуоресценции, у.е. | | |
|------|----------------|-----------------------------------|--------|-------------|
| | | контроль | ацетон | уайт-спирит |
| D7 | 435 | 154.4 | 148.7 | 154.5 |
| D1 | 410 | 11.4 | 12.6 | 11.1 |
| | 500 | 69.2 | 67.4 | 65.53 |
| O1O | 410 | 44.3 | 155.2 | 42.2 |
| | 490 | 1890.4 | 1834.7 | 1925.1 |
| O6O | 410 | 57.8 | 59.9 | 54.3 |
| | 490 | 879.0 | 882.5 | 928.7 |
| PH7 | 390 | 51.8 | 52.2 | 52.7 |
| | 500 | 436.4 | 421.1 | 421.0 |

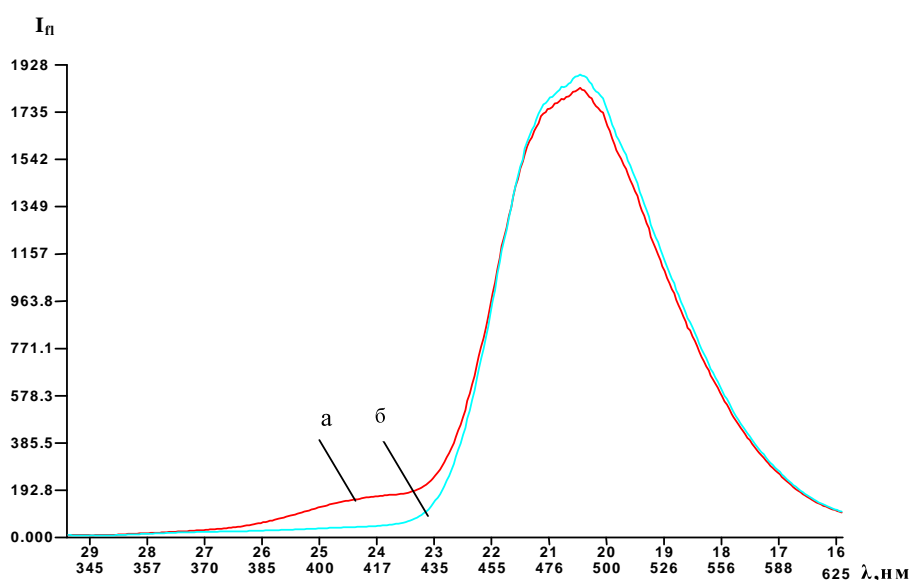


Рис.1. Спектры флуоресценции зонда O1O в растворах липидных везикул, подвергшихся воздействию ацетона (а), контрольных (б).

В отличие от **O10**, при воздействии ацетона интенсивность полос флуоресценции зондов **D7**, **D1**, **O6O**, **PH7** не изменялась по сравнению с контролем.

На основании результатов работы [4], в которой были изучены флуоресцентные характеристики **2-(2'-ОН-фенил)-5-фенил-1,3-оксазола** (зонд **O1O**) в растворителях различной природы, наблюдаемое увеличение интенсивности коротковолновой полосы ($\lambda=410$ нм) в спектре флуоресценции зонда **O1O** может быть объяснено увеличением протоноакцепторной способности и/или полярности его микроокружения в мембране.

Можно сделать предположение, что одной из вероятных причин отмеченного повышения интенсивности коротковолновой полосы флуоресценции **O1O** может являться накопление ацетона в зоне предполагаемой локализации зонда **O1O** в мембране – области глицериновых остатков фосфолипида [1,4,7]. Вместе с тем, для окончательного доказательства этого предположения необходимо проведение специального исследования.

Таким образом, из всех исследованных соединений-зондов только один – **2-(2'-ОН-фенил)-5-фенил-1,3-оксазол** (зонд **O1O**) является чувствительным к изменениям, происходящим в модельных мембранах в результате воздействия ацетона. В случае воздействия на биологическую мембрану насыщенных паров уайт-спирита изменений в спектрах флуоресценции использованных зондов не наблюдалось, что и следовало ожидать ввиду отсутствия специфического взаимодействия между молекулами насыщенных углеводов, составляющих основу уайт-спирита и молекулами исследуемых зондов.

Литература

1. Владимиров Ю.А., Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. М.: Наука, 1980. 320 с.
2. Дринберг С.А., Ицко Э.Ф. Растворители для лакокрасочных материалов: Справочное пособие. 2-е изд., перераб. и доп. Л.: Химия, 1986. 208 с.
3. Winget P., Dolney D.M., Giesen D.J., Cramer C.J., Truhlar D.G. Minnesota Solvent Descriptor Database. 1999.
4. Дорошенко А.О., Посохов Е.А., Шершуков В.М., Митина В.Г., Пономарев О.А. Реакция внутримолекулярного переноса протона в возбужденном состоянии в ряду орто-гидроксипроизводных **2,5-диарилноксазола**. Химия высоких энергий. 1997. Т.31. №6. С.395-402.
5. Дорошенко А.О., Посохов Е.А. Реакция фотопереноса протона в ряду орто-гидроксипроизводных **2,5-диарил-1,3-оксазола** и **2,5-диарил-1,3,4-оксадиазола** в полистирольных пленках. Теоретическая и экспериментальная химия. 1999. Т.35. №6. С.357-361.
6. Doroshenko A.O., Posokhov E.A., Verezubova A.A., Ptyagina L.M. Excited State Intramolecular Proton Transfer Reaction and Luminescent Properties of the Ortho-Hydroxy Derivatives of **2,5-Diphenyl-1,3,4-oxadiazole**. Journal of Physical Organic Chemistry. 2000. V.13. 3.253-265.
7. Посохов Е.А., Абманова Н.А., Бойко Т.П., Дорошенко А.О. Орто-гидроксипроизводные **2,5-дифенил-1,3-оксазола** и **2,5-дифенил-1,3,4-оксадиазола** в качестве флуоресцентных зондов для медико-биологических исследований. Вестник Харьковского университета. Химия. 1999. Вып.4(27). №454. С.188–189.

Поступила в редакцию 11 октября 2001 г.

Kharkov University Bulletin. 2001. №532. Chemical Series. Issue 7(30). E.A.Posokhov, T.P.Boyko, D.A.Bevziuk. Ortho-hydroxy derivatives of **2,5-diphenyl-1,3-oxazole** and **2,5-diphenyl-1,3,4-oxadiazole** as fluorescent probes for toxicological investigations of model biomembranes.

The possibility to use ortho-hydroxy **2,5-diphenyl-1,3-oxazole** and **2,5-diphenyl-1,3,4-oxadiazole** as fluorescent probes for detecting changes of biomembrane physico-chemical properties under the action of volatile organic solvents has been studied. It has been shown, on the base of spectral-luminescent measurements, that the only probe which gives an indication of changes in membranes under acetone action is **2-(2'-OH-phenyl)-5-phenyl-1,3-oxazole**. No changes have been observed in fluorescence spectra of all the probes used when biomembrane was exposed to action of white-spirit.