

И. Е. ЭЛЬПИНЕР и Ц. Б. КАЦ

ДЕЙСТВИЕ УЛЬТРАЗВУКОВЫХ ВОЛН НА ПУРИНОВЫЕ И ПИРИМИДИНОВЫЕ ОСНОВАНИЯ

(Представлено академиком А. Н. Фрумкиным 30 XI 1951)

В одном из предыдущих сообщений было показано, что ультразвуковые волны вызывают деполимеризацию дезоксирибонуклеиновой кислоты. При этом оказалось, что нуклеиновые кислоты отличаются большой чувствительностью к ультразвуковым колебаниям (1). В настоящем сообщении речь идет о действии ультразвуковых волн на отдельные компоненты нуклеиновых кислот — на пуриновые и пиримидиновые основания.

Озвучиванию подвергались водные растворы урацила, аденина и гуанина при одних и тех же условиях функционирования генератора. Частота колебаний 500 000 гц, излучаемая интенсивность 5 вт/см² излучающей поверхности. Озвучивание производилось в стеклянных колбах, которые погружались в так называемый ультразвуковой фонтан. Испытуемые растворы до и после озвучивания исследовались спектрофотометрически (спектрофотометр типа Бекмана).

Как известно, пуриновые и пиримидиновые основания обладают широкой полосой поглощения в ультрафиолетовом спектре (230—290 мμ). Кривая поглощения в данном случае характеризуется наличием одного максимума (258 мμ) и одного минимума (230 мμ).

На рис. 1 даны кривые поглощения растворов аденина в нейтральной среде, урацила в щелочной среде и гуанина в кислой среде (для удобства анализа кривых значения максимумов поглощения неозвученных препаратов приняты за 100 единиц). Как видно на приведенном рисунке, полоса поглощения растворов урацила (щелочная среда) передвинута в сторону более длинных волн (низкие частоты), соответственно передвинут в эту сторону и максимум поглощения. Кроме того, на кривой поглощения гуанина, растворенного в кислой среде, обнаруживается 2 максимума поглощения в диапазоне ультрафиолетовых лучей. Эти наблюдения полностью совпадают с литературными данными (2-4), указывающими на зависимость спектра поглощения названных веществ от pH среды.

Пуриновые и пиримидиновые основания в связи с воздействием ультразвуковых волн, повидимому, подвергаются двоякого рода изменениям. Об этом свидетельствует двойной характер изменений кривых, полученных при спектрометрическом исследовании озвученных растворов аденина, урацила и гуанина (см. рис. 1). Во-первых, с увеличением продолжительности озвучивания минимум поглощения передвигается в сторону более длинных волн, а абсолютное его значение беспорывно увеличивается. Во-вторых, максимум поглощения, наоборот, уменьшается с увеличением времени воздействия ультразвуковыми волнами.

Указанные изменения кривых наблюдались во всех исследованных случаях независимо от pH среды, в которой изученные нами вещества подвергались озвучиванию. Только в количественном отношении эти изменения у различных веществ оказались неодинаковыми. Это означает, что данные соединения отличаются между собой по своей чувствительности к ультразвуку. Более чувствительным к этому физическому агенту оказался урацил, менее чувствительными — аденин и гуанин.

Какие же сдвиги в химическом составе пуриновых и пиримидиновых оснований отражают описанные выше изменения кривых поглощения озвученных растворов? Необходимо подчеркнуть, что точное установление такой связи встречает определенные трудности. С большой уверенностью

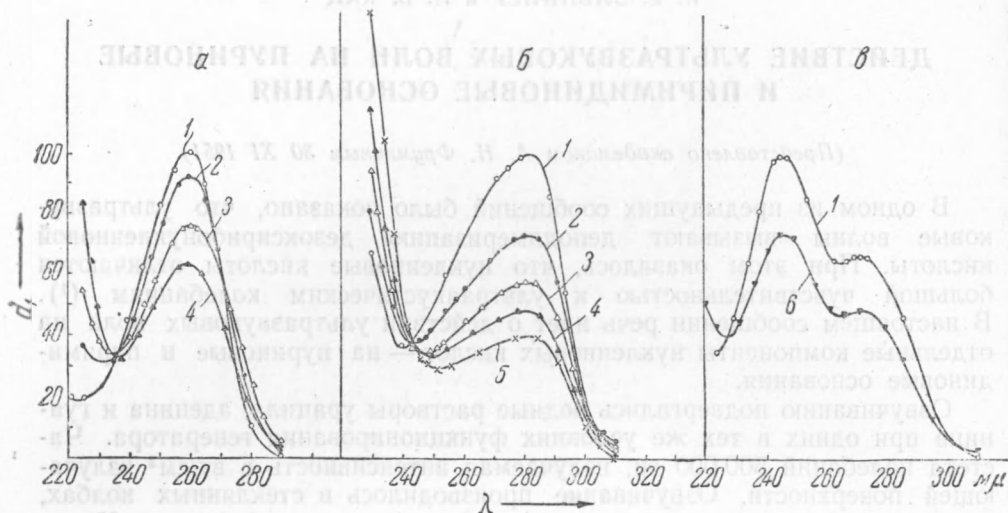


Рис. 1. Спектры поглощения до и после озвучивания при различных экспозициях ультразвука. а — аденин, концентрация $2 \cdot 10^{-2}$ мг в 1 мл дистиллированной воды; б — урацил, концентрация $2 \cdot 10^{-2}$ мг в 1 мл раствора $0,075 N$ NaOH; в — гуанин, концентрация $1,6 \cdot 10^{-2}$ мг в 1 мл $2 \cdot 10^{-4} N$ HCl. 1 — до озвучивания, 2 — озвучивание в течение 30 мин., 3 — 60 мин., 4 — 90 мин., 5 — 120 мин., 6 — 180 мин. d_1 — оптическая плотность относительно соответствующего максимума неозвученного препарата.

Частота ультразвука 500 000 гц; мощность ~ 5 вт/см²

можно говорить лишь о том, что уменьшение максимума поглощения, вероятнее всего, обусловлено глубоким распадом молекул, содержащих пуриновые и пиримидиновые кольца. Такой распад сопровождается потерей способности этих молекул к абсорбции ультрафиолетовых лучей. Более сложна расшифровка сдвига минимума поглощения в сторону длинных волн и объяснение наблюдаемого интенсивного роста величины этого минимума с удлинением времени озвучивания испытуемых растворов. Следует напомнить, что подобные изменения кривых поглощения были обнаружены при облучении пуриновых и пиримидиновых оснований ультрафиолетовыми лучами. Эти изменения авторы пытались объяснить тем, что под влиянием облучения происходят внутримолекулярные перегруппировки, за счет которых образуются менее стабильные кольца, разрушающиеся сравнительно легко при дальнейшем воздействии ультрафиолетовыми лучами (^{5, 6}).

В настоящем сообщении мы не касаемся вопроса природы промежуточных или конечных продуктов распада пуриновых и пиримидиновых ядер, возникающего в поле ультразвуковых волн. Мы ограничиваемся рассмотрением другого вопроса, также важного для понимания механизма биологического действия интересующего нас физического агента. Как уже сообщалось, ряд химических процессов, протекающих под дей-

ствием ультразвука, обусловлен тем, что в кавитационных полостях, повидимому, имеют место ионизация и последующее расщепление молекул воды с образованием свободных, валентно-ненасыщенных радикалов (ОН, HO_2 , Н и др.), обладающих большим окисляющим или восстанавливающим действием (7-9). Процессы окисления в поле ультразвуковых волн, возможно, усиливаются еще тем, что в кавитационных пузырьках также ионизируется молекулярный кислород. Этим объясняется тот факт, что предварительным удалением молекулярного кислорода из озвучиваемого раствора путем насыщения его газообразным водородом удается затормозить процессы окисления. Так, в атмосфере водорода разрушается только 3,5% присутствующего в растворе аденина, если озвучивание продолжалось даже 120 мин. В атмосфере воздуха при этих же экспозициях ультразвука количество озвучиваемого аденина уменьшается на 45—48%.

Далее оказалось, что в присутствии в озвучиваемом растворе урацила других веществ, обладающих большей упругостью паров, чем вода (этиловый эфир, метиловый и этиловый спирты), отмечается резкое угнетение процесса распада этого соединения. Озвучиванию подвергался водный раствор, содержащий 1,5 мг урацила в 1 мл растворителя. Прибавление 0,2—0,3 мл этилового эфира или спирта к 10 мл озвучиваемого

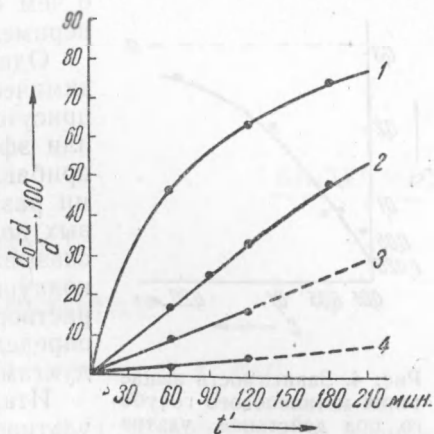


Рис. 2. 1 — урацил, 2 — урацил + метионин, 3 — урацил + лейцин, 4 — урацил + этиловый спирт, t' — продолжительность озвучивания в минутах, d_0 — оптическая плотность ($\lambda_{\text{макс}} = 258 \text{ м}\mu$) до озвучивания, d — оптическая плотность ($\lambda_{\text{макс}} = 258 \text{ м}\mu$) после озвучивания

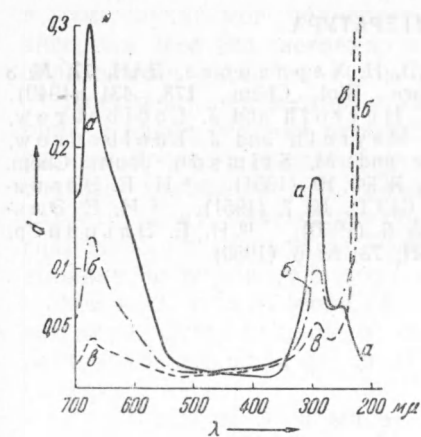


Рис. 3. Спектр поглощения метиленового голубого. а — до озвучивания, б — озвучивание в течение 1 мин., в — в течение 4 мин.

раствора вызывало почти полную задержку распада урацила (см. рис. 2). Аналогичные наблюдения были нами сделаны и при изучении процессов выцветания раствора метиленового голубого, возникающих под действием ультразвуковых волн.

На рис. 3 отражены результаты спектрофотометрического исследования раствора метиленового голубого до и после озвучивания. Как видно, растворы этой краски крайне чувствительны к действию ультразвуковых волн. В течение 5 мин. озвучиваемый раствор (16 μM) становится почти полностью бесцветным. Выцветание краски носит необратимый характер.

На рис. 4 показано, что прибавление даже незначительных количеств эфира и спирта к водному раствору метиленового голубого почти полно-

стью задерживает процесс выцветания этой краски, вызываемый ультразвуком.

Выбор веществ с большей упругостью паров, чем вода, не случаен. Эти вещества, возможно, в состоянии быстрее проникнуть в возникающую кавитационную полость, чем молекулы воды, что должно привести к уменьшению количеств образующихся под влиянием ультра-

звука активных в химическом отношении продуктов расщепления водных молекул. Иными словами, прибавление названных веществ должно вызвать угнетение химических процессов в поле ультразвуковых волн, о чем свидетельствуют изложенные выше экспериментальные данные.

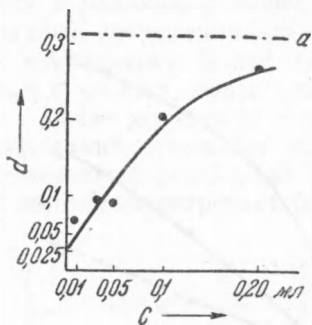


Рис. 4. Зависимость выцветания метиленового голубого под действием ультразвуковых волн одной и той же экспозиции от количества присутствующего этилового эфира. d — оптическая плотность ($\lambda = 665 \text{ м}\mu$); C — количество этилового эфира в 5 мл ($6 \text{ м}\mu$) метиленового голубого; a — неозвученный раствор ($6 \text{ м}\mu$) метиленового голубого

Однако, как показано на рис. 2, угнетение химических процессов вызывает не только присутствие в озвучиваемом растворе спирта или эфира. Такой эффект наблюдается и при прибавлении таких аминокислот, которые сами разрушаются под действием ультразвуковых волн (лейцин, метионин и др.)⁽¹⁰⁾. Здесь сказывается, повидимому, так называемое конкурирующее действие присутствующих в растворе посторонних веществ, обладающих определенным химическим сродством к продуктам расщепления молекул воды*.

Итак, полученные данные выявили, что ультразвуковые волны вызывают распад пуриновых и пиримидиновых оснований. Наряду с этим было установлено, что вызываемый ими распад этих и ряда других соединений может быть предотвращен путем прибавления к озвучиваемому раствору посторонних химических веществ, отличающихся определенными свойствами.

Изложенные экспериментальные данные могут служить подтверждением непрямого химического действия ультразвуковых волн.

Лаборатория биохимии рака
Академии медицинских наук СССР

Поступило
27 XI 1951

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ И. Б. Збарский, И. Е. Эльпинер и В. Н. Харламова, ДАН, 77, № 3 (1951). ² J. Ploeser and H. Loring, Journ. Biol. Chem., 178, 431 (1949). ³ R. Hotchkiss, *ibid.*, 175, 1, 315 (1948). ⁴ F. Heyroth and J. Loofbougrow, Journ. Am. Chem. Soc., 56, 1728 (1934). ⁵ F. Heyroth and J. Loofbougrow, *ibid.*, 53, 9, 3441 (1931). ⁶ J. Loofbougrow and M. Stimson, Journ. Chem. Soc. London, 844 (1940). ⁷ И. Е. Эльпинер, ЖТФ, 10 (1951). ⁸ И. Е. Эльпинер и Ц. Б. Кац, Тр. Ком. по акустике АН СССР, № 7 (1951). ⁹ И. Е. Эльпинер и М. Ф. Колесников, ДАН, 75, № 6 (1950). ¹⁰ И. Е. Эльпинер, И. Б. Збарский и В. Н. Харламова, ДАН, 73, № 6 (1950).

* Необходимо отметить, что и в случаях прибавления спирта и эфира также возможно конкурирующее действие названных веществ. В этом направлении проводятся дальнейшие исследования.