

KFK-283

**KERNFORSCHUNGSZENTRUM
KARLSRUHE**

November 1964

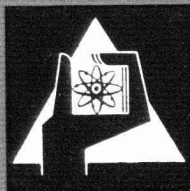
KFK 283

*Gesellschaft für Kernforschung M. B. H.
Karlsruhe*

Institut für Strahlenbiologie

Etude par résonance de spin électronique de la radiorésistance
des acides aminés et mono-peptides

J. Depireux, A. Müller



**GESELLSCHAFT FÜR KERNFORSCHUNG M. B. H.
KARLSRUHE**

ÉTUDE PAR RÉSONANCE DE SPIN ÉLECTRONIQUE DE LA RADIORÉSISTANCE DES ACIDES AMINÉS ET MONOPEPTIDES

J. DEPIREUX

Institut d'Astrophysique de l'Université de Liège, Sart Tilman, Belgique

et

A. MÜLLER

*Institut für Strahlenbiologie des Kernforschungszentrums,
Karlsruhe, Allemagne Fédérale*

Electron spin resonance has been used to determine the free radical yield in X-irradiated amino acids, namely aliphatic glycyl-glycine and aromatic L-tyrosine and L-tryptophane. Molecular mixtures of these compounds prepared by freeze-drying have also been studied. The quantitative results do not support the idea of the occurrence of molecular interactions between the constituents of the mixture. On the contrary, when both components are bound together by a peptide bond to form the simple peptides, glycyl-L-tyrosine and glycyl-L-tryptophane, a marked protection of the aliphatic chain by the aromatic ring system is observed.

On étudie, par résonance de spin électronique, le rendement en radicaux libres produits par irradiation X dans un acide aminé aliphatique, la glycyl-glycine, dans les acides aminés aromatiques L-tyrosine et L-tryptophane, ainsi que dans les mélanges moléculaires, préparés par lyophilisation, de glycyl-glycine et de L-tryptophane; les résultats quantitatifs obtenus dans ce cas permettent de conclure à l'absence d'interactions moléculaires entre les constituants du mélange. Lorsqu'au contraire, les deux molécules sont réunies par une liaison peptidique pour former les peptides simples, glycyl-L-tyrosine et glycyl-L-tryptophane, on observe une protection très marquée de la chaîne aliphatique par le résidu aromatique.

1. Introduction

Bien que l'étude par résonance de spin électronique des dégâts d'irradiation produits dans les acides aminés ait déjà fait l'objet de très nombreuses publications, il nous a paru intéressant de reprendre ce problème sous certains aspects en mettant l'accent notamment sur le côté quantitatif. Un travail récent de l'un de nous¹⁾ a fait apparaître clairement les divergences qui existent entre les valeurs de la radiorésistance publiées jusqu'à présent pour ces substances par divers auteurs. D'autres chercheurs²⁾, par ailleurs, semblent, sur la base de modifications dans l'aspect des spectres,

avoir mis en évidence des interactions à l'état solide entre les constituants de mélanges d'acides aminés soumis à l'irradiation.

2. Echantillons

Nous avons donc choisi, pour cette étude, trois acides aminés caractéristiques: un aliphatique — la glycyl-glycine — et deux aromatiques caractérisés, l'un par le noyau benzénique — la L-tyrosine, et l'autre par le noyau indole — le L-tryptophane. Nous avons tout d'abord étudié chacune de ces substances séparément à l'état de poudre microcristalline en tubes de quartz scellés après évacuation pendant 15 h sous un vide de 10^{-5} mm Hg. Nous avons ensuite examiné dans les mêmes conditions le comportement des mélanges moléculaires, préparés par lyophilisation d'une solution aqueuse commune des deux constituants, de glycyl-glycine et de L-tryptophane d'une part et de glycyl-glycine et de L-tyrosine d'autre part. La glycyl-glycine a été retenue de préférence à la glycine pour la confection de ces mélanges parce que le spectre en doublet présenté par cette substance évite la superposition avec le pic central de l'autre constituant du couple. Dans le premier cas, nous avons réalisé des mélanges contenant 10, 40, 60 et 90 % molaire de glycyl-glycine; dans le second cas, seul un mélange à 50 % a été étudié. Nous avons enfin étendu notre étude aux dipeptides simples glycyl-L-tyrosine et glycyl-L-tryptophane dont l'analogie avec les couples étudiés en mélanges est évidente.

3. Méthodes et appareillages

Les spectres de résonance de spin électronique ont été relevés sur un spectromètre commercial (Microspin) travaillant dans la bande X avec une cavité double (TE_{104}) et une modulation à 100 kHz. Toutes les irradiations ont été effectuées au moyen de rayons X mous provenant d'un tube équipé d'une fenêtre en béryllium de 1,5 mm d'épaisseur et travaillant sous 100 kV et 25 mA; la dosimétrie a été décrite dans la réf. 1. Les concentrations en centres paramagnétiques ont été déterminées par mesure, au moyen d'un planimètre à moment, du premier moment des courbes dérivées obtenues à des puissances microondes inférieures au seuil de saturation mesuré pour chaque type d'échantillon.

4. Résultats et discussion

Les trois acides étudiés isolément donnent des courbes de croissance — concentration en radicaux en fonction de la dose — tout à fait analogues, c'est-à-dire, présentant au début une portion linéaire qui s'incurve progressivement dès 4 à 800 krads pour se terminer par un palier de saturation. La pente de la partie rectiligne permet de déduire des valeurs de G de 7,0 pour la glycyl-glycine, 0,51 pour la L-tyrosine et 0,18 pour le L-tryptophane, soit encore, en prenant pour mesure de la radiorésistance l'énergie absorbée nécessaire pour créer un radical libre stable à température ordinaire, les valeurs respectives de 14,200 et 560 eV/radical. Comme il faut s'y attendre, la résistance au rayonnement croît comme le degré de délocalisation des électrons π selon le point de vue développé par Duchesne et Pullman³). Dans le cas du tryptophane, nous avons également étudié l'isomère dextro ainsi que la forme racémique sans pouvoir observer de variation significative dans la radiorésistance.

En ce qui concerne les mélanges moléculaires, contrairement aux observations rapportées par Norman et Ginoza, nous n'observons aucune variation qualitative dans les spectres de résonance, ceux-ci étant dans chaque cas la reproduction fidèle de celui du composant le plus sensible, la glycyl-glycine. Si, en outre, on tient compte de la dilution de l'acide aminé aliphatique dans le mélange, les résultats quantitatifs obtenus pour la radiorésistance se situent dans la gamme de 15 ± 3 eV/radical pour les divers mélanges étudiés. Ces observations aussi bien qualitatives que quantitatives semblent bien permettre de rejeter l'idée de l'existence d'interactions moléculaires entre les constituants d'un mélange à l'état solide. Il faut noter cependant que, dans les quatre couples décrits qualitativement par les auteurs américains, l'un des composants est toujours une molécule sulfurée et il est très possible que, dans ce cas, des mécanismes particuliers puissent intervenir puisqu'il est bien connu que le soufre élémentaire lui-même est susceptible de donner lieu à des interactions conduisant à une radioprotection⁴).

Dans les peptides simples qui ont fait l'objet de cette étude, au contraire, les spectres obtenus sont nettement différents de ceux des constituants réunis par la liaison peptidique, on n'observe pas de trace du triplet de la chaîne aliphatique (glycine) et la raie se distingue de celle du résidu aromatique par l'apparition d'une structure complexe que nous n'avons pas encore pu

interpréter jusqu'à présent et dont l'observation semble avoir échappé, par suite de saturation de puissance ou de surmodulation, à certains auteurs⁵⁾: il semble donc bien qu'ici il y ait effectivement transfert de l'excitation de la chaîne aliphatique vers le noyau aromatique au travers de la liaison peptidique.

Cette vue trouve d'ailleurs une confirmation remarquable dans l'analyse quantitative de ces systèmes puisqu'en effet la radiorésistance de la glycy-L-tyrosine s'élève à 32 eV/radical et celle du glycy-L-tryptophane à 30 contre 21 pour la glycine.

L'effet de radioprotection est donc très marqué et est d'autant plus important que le noyau aromatique vers lequel s'effectue le transfert d'énergie possède un système électronique π plus délocalisé.

Une étude parallèle à basse température est actuellement en cours pour tenter d'élucider le mécanisme de cette radioprotection; nous poursuivons de même un travail sur les monocristaux des peptides qui font l'objet de la présente note.

Nous tenons à remercier les professeurs Jules Duchesne et K. G. Zimmer pour l'intérêt constant qu'ils ont témoigné à notre recherche.

Références

- 1) W. Köhnlein et A. Müller, *Phys. Med. Biol.* **6** (1962) 599.
 - 2) A. Norman et W. Ginoza, *Rad. Res.* **9** (1958) 77.
 - 3) J. Duchesne, *Arch. Sci. Genève* **10** (1957) 257; B. Pullman, *Acad. Roy. Belg., Mém.* **33** (1961) 174.
 - 4) A. Charlesby, P. G. Garratt et P. M. Kopp, *Nature* **194** (1962) 782; A. Van de Vorst et J. Duchesne, *Int. J. Rad. Biol.* **6** (1963) 191.
 - 5) G. McCormick et W. Gordy, *J. Phys. Chem.* **62** (1958) 783.
-