

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ ЕМКОСТИ АНТИОКСИДАНТОВ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

**Аннотация.** Современное состояние окружающей среды негативно влияет на здоровье человека. При воздействии токсичных соединений, радиации и др. в организме увеличивается интенсивность свободнорадикального окисления, что приводит к развитию различных заболеваний. Для мониторинга состояния организма необходимо проводить исследования антирадикальной емкости биологических объектов, а также продуктов питания и фармацевтических препаратов. Поэтому основной задачей данной работы стала разработка простого, прямого способа оценки антирадикальной емкости соединений с использованием в качестве модели окислителей радикал-генерирующую систему.

**Ключевые слова:** электрохимия, потенциометрия, антирадикальная емкость, антиоксиданты, радикалы

В настоящее время хозяйственная деятельность человека все чаще становится основным источником загрязнения окружающей среды, в результате чего происходит снижение плодородия почв, деградация и опустынивание земель, гибель растительного и животного мира, ухудшение качества атмосферного воздуха, поверхностных и подземных вод. В совокупности это приводит к исчезновению с лица Земли целых экосистем и биологических видов, а самое важное, к ухудшению здоровья населения и уменьшению продолжительности жизни людей [3, 6].

С неблагоприятными условиями окружающей среды связано около 85 % всех заболеваний современного человека. Многие заболевания возникают в результате поступления в организм токсичных соединений при вдыхании загрязненного воздуха, потреблении химически обработанных продуктов питания и питьевой воды низкого качества, а также повышенного радиационного фона. Все перечисленные факторы могут стать основной причиной повышенного образования активных форм кислорода (АФК) в организме человека [4].

В живом организме человека постоянно протекают реакции с образованием АФК, которые в условиях нормы способны разрушать поврежденные, старые, злокачественные клетки и клетки, пораженные вирусами. Однако, при избыточном образовании АФК протекают реакции окисления макромолекул, что приводит к развитию заболеваний сердечно-сосудистой, нервной систем, легких, глаз, крови, ускоряются процессы старения человека. Ингибиторами свободнорадикальных реакций являются антиоксиданты, которые представлены большим разнообразием соединений эндогенного и экзогенного происхождения.

При мониторинге состояния организма необходимо владеть данными как об антирадикальной емкости (АРЕ) биологических объектов, так и АРЕ продуктов питания, фармацевтических препаратов, предназначенных для лечения заболеваний, связанных с окислительным действием свободных радикалов, а также новых специально синтезированных соединений.

В настоящее время разработано большое количество способов исследования антиоксидантных / антирадикальных свойств объектов, которые имеют некоторые недостатки и ограничения, такие как использование сложного и дорогого оборудования, невозможность, в ряде случаев, исследования мутных и окрашенных объектов, использование сильных окислителей. Поэтому в настоящее время актуальной задачей является разработка более простых, информативных и универсальных способов определения АРЕ соединений.

В данной работе определение АРЕ проводили новым потенциометрическим способом с использованием в качестве модели окислителя радикал-генерирующую систему на примере 2,2'-азобис(2-амидинопропан)дигидрохлорид (ААРН). Способ основан на прямом взаимодействии пероксильных радикалов, генерируемых ААРН, с антиоксидантами образца. Использование радикал-генерирующих систем, в частности ААРН, позволяет моделировать окислительные процессы организма.

Все измерения проводили в термостатируемой ячейке при 37<sup>0</sup>С, рН 7.4.

Установлено закономерное изменение потенциала в реакциях генерирования пероксильных радикалов и ингибирования их антиоксидантами (Рисунок 1) [2]. Основным характеристическим параметром в данном случае является период индукции  $\tau$ , т.е. время ингибирования радикалов антиоксидантом. Период индукции в данной работе предлагается определять по графику производной зависимости потенциала от времени как время от введения антиоксиданта в раствор инициатора до точки, соответствующей максимальной скорости изменения потенциала  $(dE/dt)_{\max}$  (точка  $t_2$  на рис. 2).

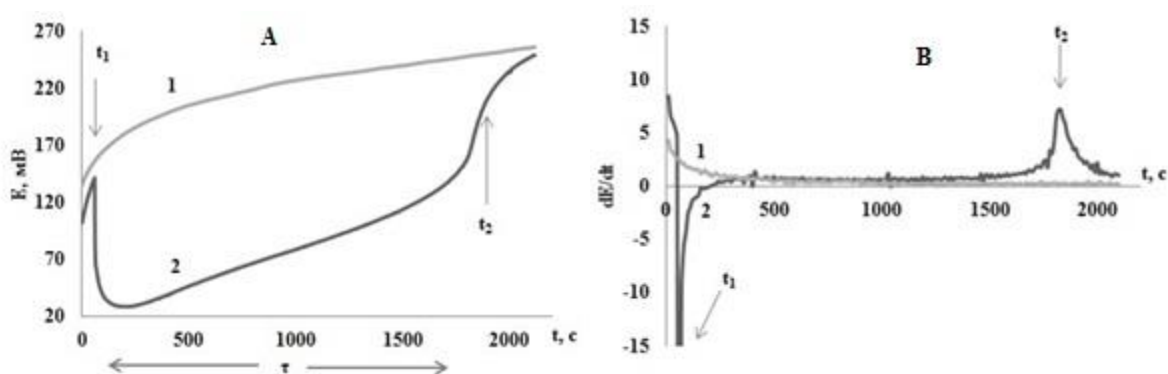


Рис. 1. Кинетическая кривая (А) и производная зависимости (В) изменения потенциала от времени при добавлении к 0.1М ААРН аскорбиновой кислоты ( $C_{AK} = 0.2\text{мМ}$ )

АРЕ рассчитывается как произведение скорости генерирования пероксильных радикалов на период индукции (1):

$$ARE = W_i \cdot \tau \quad (1)$$

В данном случае скорость генерирования составляет значение  $W_i = 2 \cdot 10^{-7} \text{М} \cdot \text{с}^{-1}$  [5].

В качестве исследуемых образцов были выбраны модельные растворы известных низкомолекулярных антиоксидантов (Таблица 1). Исследуемые антиоксиданты имеют разное строение и набор функциональных групп, отвечающих за ингибирующие свойства: тиольные соединения (цистеин, глутатион); соединения, содержащие гидроксильные группы в фурановом гетероцикле (аскорбиновая кислота); производные пурина (мочевая кислота), фенольные соединения с разным числом и положением гидроксильных групп (пирокатехин, флороглюцин, пирогаллол).

Таблица 1 – АРЕ модельных растворов антиоксидантов

| Антиоксидант         | $\tau$ ,<br>мин | f   | АРЕ, $10^4$ М-экв | $S_r$ |
|----------------------|-----------------|-----|-------------------|-------|
| Аскорбиновая кислота | 18.2            | 2.2 | 2.20±0.01         | 0.05  |
| Цистеин              | 11.5            | 1.3 | 1.27±0.01         | 0.01  |
| Мочевая кислота      | 26.2            | 3.1 | 3.07±0.39         | 0.05  |
| Глутатион            | 10.8            | 1.3 | 1.31±0.34         | 0.02  |
| Флороглюцин          | 17.7            | 2.1 | 2.07±0.83         | 0.07  |
| Пирогаллол           | 27.8            | 3.2 | 3.23±0.37         | 0.05  |
| Катехин              | 35.6            | 4.2 | 4.23±0.05         | 0.02  |
| Кверцетин            | 24.2            | 2.9 | 2.85±0.06         | 0.02  |
| Галловая кислота     | 13.0            | 4.1 | 4.12±0.21         | 0.05  |
| Гидрохинон           | 31.8            | 3.8 | 3.75±0.04         | 0.01  |
| Оксигидрохинон       | 7.2             | 0.9 | 0.85±0.03         | 0.03  |

Коэффициенты ингибирования изученных антиоксидантов принимают значения от 1 до 4, что связано как с их строением, т. е. с количеством активных групп в молекуле антиоксиданта, так и с механизмом обрыва цепей на молекуле антиоксиданта.

В качестве сложных многокомпонентных объектов выбраны этанольные настойки лекарственного растительного сырья (Таблица 2).

Таблица 2 – АРЕ настоек лекарственного растительного сырья (P=0.95; n=5)

| №<br>п/п | Наименование препарата | АРЕ, $10^2$<br>М-экв | $S_r$ |
|----------|------------------------|----------------------|-------|
|----------|------------------------|----------------------|-------|

|   |  |            |      |
|---|--|------------|------|
| 1 | Календула ( <i>Caléndula</i> )             | 1.08±0.03  | 0.03 |
| 2 | Пустырник ( <i>Leonúrus</i> )              | 1.65±0.02  | 0.01 |
| 3 | Боярышник ( <i>Crataégus</i> )             | 0.23±0.01  | 0.01 |
| 4 | Женьшень ( <i>Pánax</i> )                  | 0.26±0.01  | 0.01 |
| 5 | Родиола ( <i>Rhodiola</i> )                | 13.44±0.81 | 0.06 |
| 6 | Пион ( <i>Paeónia</i> )                    | 3.33±0.03  | 0.01 |
| 7 | Элеутерококк<br>( <i>Eleutherococcus</i> ) | 3.67±0.04  | 0.01 |

В качестве метода сравнения выбран спектрофотометрический метод определения противорадикальной активности с использованием стабильного радикала DPPH [1]. Степень корреляции двух способов составила 0.97.

Таким образом, новый потенциометрический способ оценки антирадикальной емкости является достаточно простым, информативным, позволяющим моделировать радикальные процессы, протекающие в организме человека.

#### **Список литературы:**

1. Floegel, A. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods / A. Floegel, D.-O. Kim, S-J. Chung, S. I. Koo, O. K. Chun // *Journal of Food Composition and Analysis*. – 2011. – Vol. 24, № 7. – P. 1043–1048.
2. Ivanova, A. V. New antiradical capacity assay with the use potentiometric method / A.V. Ivanova, E. L. Gerasimova, E. R. Gazizullina // *Analytica Chimica Acta*. – 2018. – Vol. 1046. – P. 69–76.
3. Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среды Свердловской области в 2017 году» [Текст]. – Екатеринбург, 2018. – 328 с.
4. Зенков, Н. К. Окислительный стресс: Биохимический и патофизиологический аспекты / Н. К. Зенков, В. З. Ланкин, Е. Б. Меньщикова. – Москва : МАИК «Наука/Интерпериодика», 2001. – 343 с.
5. Иванова, А. В. Исследование кинетики термического распада 2,2'-азобис(2-метилпропионамидин)дигидрохлорида потенциометрическим методом с использованием комплексов металлов [Текст] / А. В. Иванова, Е. Л.

Герасимова, Е. Р. Газизуллина, А. Н. Козицина, А. И. Матерн // Известия АН. Серия химическая. – 2016. – № 2. – С. 419–424.

6. Статистическая информация Минздрава России на 2017 год [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.rosminzdrav.ru>.