

Вторушина Анна Николаевна, канд. хим. наук, доцент кафедры экологии и безопасности жизнедеятельности Института неразрушающего контроля ТПУ.

E-mail: anl@tpu.ru

Область научных интересов: анализ объектов окружающей среды, электрохимия.

Никонова Елена Демьяновна, студент кафедры экологии и безопасности жизнедеятельности Института неразрушающего контроля ТПУ.

E-mail: anl@tpu.ru

Область научных интересов: анализ объектов окружающей среды.

УДК 543.552

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ АСКОРБАТОВ МЕТАЛЛОВ И СМЕСЕЙ НА ИХ ОСНОВЕ МЕТОДОМ КАТОДНОЙ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ

А.Н. Вторушина, Е.Д. Никонова

Томский политехнический университет

E-mail: anl@tpu.ru

В статье освещены актуальные вопросы поиска новых препаратов, обладающих антиоксидантной активностью, и эффективности действия на организм человека многокомпонентных систем. Целью данной работы является определение антиоксидантной активности аскорбатов металлов (Ca, Mg, Li, Co, Fe), используемых в практической медицине, а также смесей на их основе в комплексе с широко известными антиоксидантами. В работе рассмотрено влияние аскорбатов металлов на процесс электровосстановления кислорода. Из представленных аскорбатов наибольшую активность по отношению к процессу катодного восстановления кислорода показали аскорбаты магния и лития. Также были рассмотрены смеси исследуемых аскорбатов с известными антиоксидантами (глюкоза, дигидрохверцетин) при разных концентрациях компонентов. Показано, что многокомпонентные смеси проявляют меньшую активность по сравнению с

индивидуальными препаратами. Рекомендовано создание лекарственных препаратов на основе аскорбатов Mg и Li с числом компонентов не более трех.

Ключевые слова:

Электровосстановление кислорода, антиоксиданты, аскорбаты металлов, вольтамперометрия.

Введение

В настоящее время в клинической практике психотропных заболеваний широко используются препараты кальция, лития, железа, магния, такие как хлорид кальция, карбонат лития, хлорид лития и др. [1]. Кальций и магний играют важную роль в различных физиологических процессах организма. Установлено, что ионы кальция необходимы для осуществления процесса передачи нервных импульсов и активности некоторых ферментов [2]. Магний играет ведущую роль в энергетическом, пластическом и электролитном обмене, выступает в качестве регулятора клеточного роста, необходим на всех этапах синтеза белковых молекул. В частности, от наличия достаточного количества магния в организме зависят нормальное функционирование рибосом и связывание с ними информационной РНК – ключевого механизма биосинтеза белка. Кроме того, магний принимает участие в обмене фосфора, синтезе АТФ, регуляции гликолиза, построении костной ткани и т. д. [3, 4]. Железо является неотъемлемой составляющей многих процессов жизнедеятельности. В клетках организма оно расходуется на синтез гемосодержащих ферментов и ферритина – основного белка, содержащего запасы железа. Железо имеет первостепенное значение при синтезе гемоглобина, а также для увеличения продукции эритроцитов. Литий активно влияет на протекающие в мозге нейрхимические процессы, что лежит в основе его терапевтической активности при психических заболеваниях. Установлено, что препараты лития обладают способностью купировать острое маниакальное возбуждение и предупреждать аффективные приступы. Однако известно, что эти препараты оказывают побочное токсическое действие на организм [4].

В связи с этим создание новых форм препаратов на основе солей данных металлов, а также изучение их биоактивности, в том числе и антиоксидантных свойств, представляется ак-

туальным. Целью данной работы было исследование влияния комплексов магния, лития, кобальта, железа, кальция, содержащего в качестве биоактивного лиганда аскорбиновую кислоту, на электрохимическое поведение кислорода в водной среде в условиях линейной полубесконечной диффузии.

Методы и материалы

В работе использовали простой в аппаратном оформлении, экспрессный и высокочувствительный метод вольтамперометрии (ВА).

Исследования проводили на компьютеризированном вольтамперометрическом анализаторе ТА-2 производства ООО НПП «Томьаналит» (г. Томск) с трехэлектродной ячейкой. В качестве индикаторного электрода использовался ртутно-пленочный электрод (РПЭ), вспомогательным и электродом сравнения служил хлоридсеребряный электрод (ХСЭ).

Использовался постоянно-токовый режим катодной ВА, скорость развертки потенциала (W) составляла 40 мВ/с, рабочий диапазон потенциалов от 0 до –1 В. Раствор перемешивали с помощью вибрации электродов.

В качестве модельной реакции использован процесс электровосстановления кислорода. Регистрировали первую волну катодного восстановления кислорода, растворенного в фоновом электролите, в указанной области потенциалов. Делали добавки приготовленного раствора испытуемого соединения, каждый раз снимая вольтамперограммы первой волны катодного восстановления кислорода.

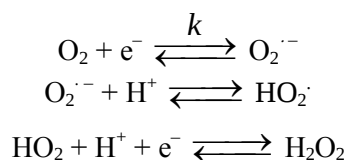
Концентрацию кислорода в растворах электролитов контролировали при помощи потенциометрического кислородного датчика № 5972 производства центра вычислительных систем автоматики и измерений «МЕРА-ЭЛЬВРО» с автоматической компенсацией температуры в диапазоне 0–40 °С.

В работе были использованы реактивы марки «о.с.ч.». Взвешивание навески вещества проводили на лабораторных аналитических весах ВЛ-210 фирмы «Госметр» с погрешностью взвешивания $\pm 0,0002$ г.

Экспериментальная часть

Перечень методов определения антиоксидантной активности (АОА) достаточно широк: хемилюминесцентный метод, хроматография газовой фазы, электрохимический, флуориметрический и другие методы [5–8]. В данной работе для определения АОА аскорбатов металлов использовался метод катодной вольтамперометрии (ВА) [9].

В основе метода лежит процесс ЭВ O_2 , протекающий по механизму, аналогичному восстановлению кислорода в клетках и тканях организма (1–3). При этом на электроде генерируются активные формы кислорода: супероксид анион кислорода $O_2^{\cdot-}$ и гидропероксид $HO_2^{\cdot}$.



Антиоксидантная активность определялась по относительному уменьшению тока ЭВ O_2 в присутствии исследуемых компонентов в растворах.

В данной работе рассмотрено влияние комплексов магния, лития, кальция, кобальта, железа, содержащих в качестве биоактивного лиганда аскорбиновую кислоту (рис. 1), на электрохимическое поведение кислорода в водной среде в условиях линейной полубесконечной диффузии. Проведена сравнительная оценка активности нового комплекса магния с синтезированными ранее комплексами металлов и аскорбиновой кислоты.

Влияние исследуемых веществ на электрохимическое поведение кислорода рассмотрено в фоновом электролите – фосфатном буфере с pH 6,86 (0,025M KH_2PO_4 и 0,025M Na_2HPO_4).

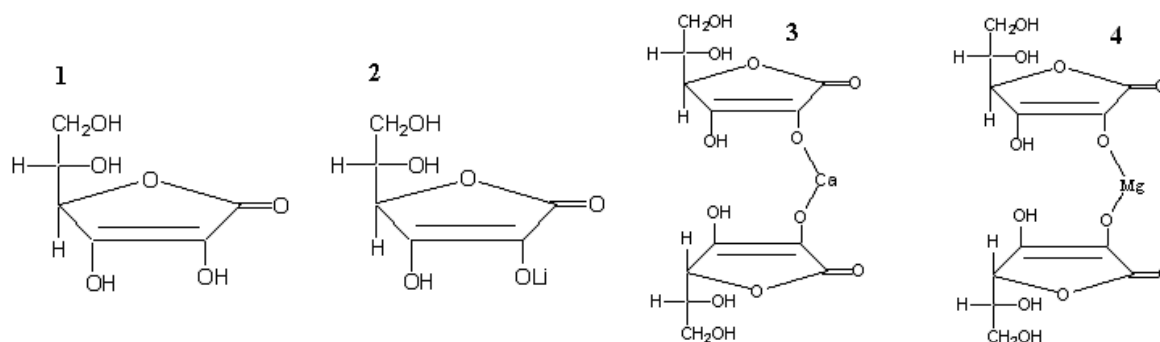


Рис. 1. Структурные формулы исследуемых веществ: аскорбиновая кислота (1); аскорбат лития (2); аскорбат кальция (3); аскорбат магния (4)

Для исследования АОА препаратов регистрировались вольтамперограммы тока первой волны ЭВ O_2 в отсутствии и в присутствии исследуемых аскорбатов. Проведенные исследования показали уменьшение предельного тока ЭВ O_2 в присутствии всех рассматриваемых аскорбатов, за исключением аскорбата железа.

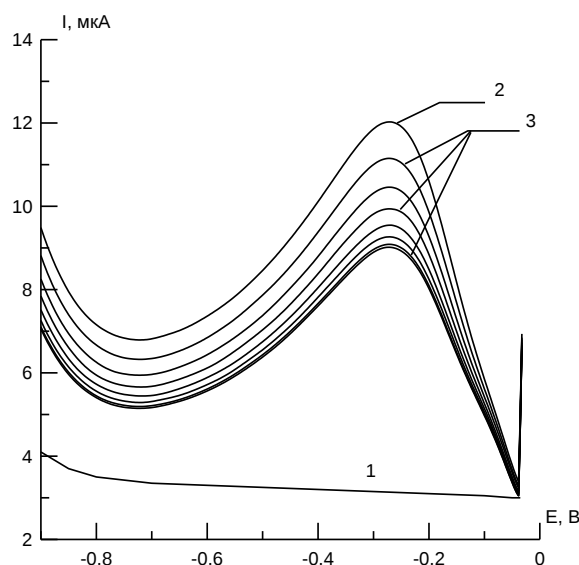


Рис. 2. Вольтамперограмма тока ЭВ O_2 на РПЭ в фосфатном буфере (pH 6,86) в отсутствие (2) и в присутствии 10^{-4} г/мл Asc Mg в растворе (3), остаточный ток фонового электролита в отсутствии O_2 и вещества в растворе (1)

Линии (3) на рис. 2 характеризуют уменьшение тока кислорода в зависимости от времени протекания реакции между активными кислородными формами и аскорбатом магния в растворе. Аналогичные зависимости были получены для всех исследуемых аскорбатов.

По результатам полученных вольтамперограмм строились зависимости относительного уменьшения тока ЭВ O_2 от времени протекания процесса в присутствии исследуемого препарата.

Антиоксидантная активность исследуемых препаратов оценивалась по кинетическому критерию антиоксидантной активности K (мкмоль/л·мин), который отражает эффективность взаимодействия образца с активными кислородными формами [10]:

$$K_{\text{кинет.}} = \left(1 - \frac{I_i}{I_o}\right) \cdot \frac{C_{O_2}^o}{t},$$

где I_i – ток ЭВ O_2 в присутствии АО в растворе, мкА; I_o – ток ЭВ O_2 в отсутствии АО в растворе, мкА; $C_{O_2}^o$ – исходная концентрация кислорода в растворе, мкмоль/л; t – время реакции взаимодействия антиоксиданта с активными кислородными формами, мин.

Обсуждение результатов

Уменьшение тока первой волны ЭВ O_2 связано с взаимодействием исследуемых аскорбатов металлов с продуктами восстановления кислорода. Наиболее активно по отношению к процессу ЭВ O_2 ведет себя аскорбат Mg, тогда как аскорбат Fe совершенно нейтрален и не проявляет антиоксидантных свойств.

Таблица 1. Антиоксидантная активность образцов ($c = 10^{-4}$ г/мл) по отношению к процессу ЭВ O_2 ($p = 0,95$, $n = 5$)

Название	K , мкмоль/л мин
Asc Mg	$2,125 \pm 0,053$
Asc Li	$1,714 \pm 0,024$
Asc Ca	$1,550 \pm 0,042$
Asc Co	$0,879 \pm 0,027$
Asc Fe	—
Аскорбиновая к-та	$1,165 \pm 0,053$
Глюкоза	$0,169 \pm 0,037$
Дигидрокверцетин	$0,650 \pm 0,040$

Большинство комплексов металлов и аскорбиновой кислоты проявили большую активность, чем сама аскорбиновая кислота, считающаяся несомненным антиоксидантом и синергетиком в процессах прерывания цепных радикальных реакций.

Поскольку АОА зависит как от времени взаимодействия АО с активными кислородными формами, так и от концентрации АО, было рассмотрено влияние концентрации Asc Mg на процесс ЭВ O_2 (рис. 3). Показано, что при увеличении концентрации Asc Mg в растворе относительное изменение предельного тока ЭВ O_2 возрастает, т. е. исследуемое вещество в большей степени реагирует с кислородными радикалами.

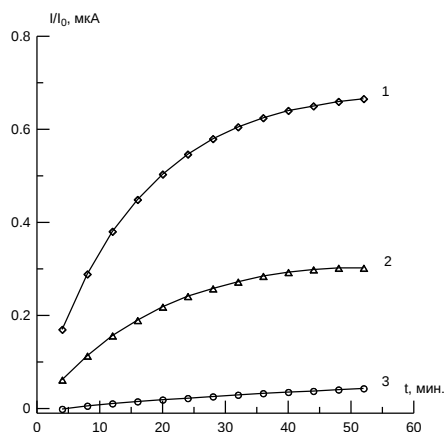


Рис. 3. Зависимость относительного изменения тока ЭВ O_2 от времени протекания процесса в присутствии $2 \cdot 10^{-4}$ (1), $1 \cdot 10^{-4}$ (2), $1 \cdot 10^{-5}$ г/мл (3) Asc Mg в растворе

Таблица 2. Антиоксидантная активность образцов по отношению к процессу ЭВ O_2 в зависимости от концентрации ($p = 0,95$, $n = 5$)

Концентрация Asc Mg, г/мл	K , мкмоль/л мин	Время хранения Asc Mg
$2 \cdot 10^{-4}$	$5,374 \pm 0,082$	свежеприготовленный
$2 \cdot 10^{-4}$	$2,711 \pm 0,023$	через 2 месяца
$1 \cdot 10^{-4}$	$2,125 \pm 0,053$	свежеприготовленный
$1 \cdot 10^{-5}$	$0,251 \pm 0,004$	свежеприготовленный

Как видно из представленных данных, при увеличении срока хранения Asc Mg он становится менее активен по отношению к процессу ЭВ O₂.

Для установления наличия эффекта синергии была определена активность смесей известных антиоксидантов и рассматриваемых аскорбатов. Результаты представлены в табл. 3.

Таблица 3. Антиоксидантная активность образцов по отношению к процессу ЭВ O₂ в зависимости от концентрации ($p = 0,95$, $n = 5$)

Смесь антиоксидантов	K , мкмоль/л мин	Смесь антиоксидантов	K , мкмоль/л мин
Asc Mg, дигидрокверцетин (1:1)	2,727 ± 0,131	Asc Li, глюкоза (1:1)	0,338 ± 0,094
Asc Mg, дигидрокверцетин (1:3)	1,111 ± 0,128	Asc Li, глюкоза, дигидрокверцетин (1:1:1)	0,453 ± 0,023
Asc Mg, глюкоза (1:1)	0,383 ± 0,019	Asc Li, глюкоза, дигидрокверцетин (1:2:1)	0,642 ± 0,068

Исходя из полученных данных, можно сказать, что многокомпонентные смеси менее активны по отношению к процессу катодного восстановления O₂, чем смеси, содержащие два компонента. Следует отметить, что в случае двухкомпонентных смесей наблюдается эффект синергии, т. е. усиление активного действия каждого компонента в присутствии другого. Аналогичного поведения компонентов смесей на основе аскорбатов Mg и Li с большим числом составляющих не наблюдалось. В смесях с числом компонентов, превышающих 3, суммарная активность по отношению к процессу ЭВ O₂ уменьшалась в арифметической прогрессии. Возможно, это объясняется сферическими затруднениями органических остатков, мешающих катодному восстановлению O₂ на РПЭ. Таким образом, для более эффективного воздействия необходимо создание лекарственных препаратов на основе аскорбатов Mg и Li с числом компонентов не более трех.

Также проводились исследования токсичности композиций на основе аскорбатов Mg и Li на 25 мышах линии BALB/c при внутрибрюшном введении водного раствора препарата в широком спектре доз (от 100 до 1000 мг/кг веса). Наблюдения велись в течение 30 суток. При этом не обнаружено побочного токсического действия и гибели животных. Возможно, уменьшение токсического действия металлов связано с их связыванием с аскорбиновой кислотой и созданием смесей с такими широко известными антиоксидантами, как дигидрокверцетин, глюкоза и др.

Заключение

Проведенные исследования антиоксидантных свойств аскорбатов металлов показали значительную активность Asc Mg и Asc Li. Показано, что при увеличении концентрации Asc Mg его активность по отношению к процессу ЭВ O₂ возрастает. Также было отмечено, что в смесях Asc Mg с дигидрокверцетином с количеством компонентов не более двух наблюдается эффект синергизма. На основании полученных данных можно рекомендовать создание фармакологических препаратов на основе аскорбатов магния, лития в смесях с небольшим количеством компонентов для более активного воздействия на организм.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства: в 2 т. – 14-е изд. – Т. 1. – М.: Медицина, 2000. – 540 с.
2. Rasmussen L., Husted S.E., Johnsen S.P. Severe intoxication after an intentional overdose of amlodipine // Acta Anaesthesiologica Scandinavica – 2003. – V. 47. – № 8. – P. 1038–1040.
3. Чекман И.С., Горчакова Н.А., Николай С.Л. Магний в медицине. – Кишинев, 1992. – 101 с.
4. Ebel H., Gunther T. Magnesium metabolism: a review // J. Clin. Chem. & Clin. Biochem. – 1998. – V. 18. – P. 257–270.

5. Денисов Е.Т. Циклические механизмы обрыва цепей в реакциях окисления органических соединений // Успехи химии. – 1996. – Т. 65. – № 6. – С. 547–563.
6. Moyer R.A., Hummer K.E., Finn C.E., Frei B., Wrolstad R.E. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: vaccinium, rubus, and ribes // Journal Agricultural and Food Chemistry. – 2002. – V. 50. – № 3. – P. 519–525.
7. Campanella L., Bonanni A., Bellantoni D. et al. Comparison of fluorimetric, voltammetric and biosensor methods for the determination of total antioxidant capacity of drug products containing acetylsalicylic acid // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2004. – V. 36. – № 1. – P. 91–99.
8. Blasco A.J., Rogerio M.C., Gonzalez M.C. et al. «Electrochemical Index» as a screening method to determine «total polyphenolics» in foods: A proposal // Anal. Chim. Acta. – 2005. – V. 539. – P. 237–244.
9. Вторушина А.Н., Короткова Е.И., Катаев С.Г. Физико-химические закономерности процесса электровосстановления кислорода в присутствии природных антиоксидантов // Аналитика и контроль. – 2013. – Т. 17. – № 4. – С. 423–428.
10. Вторушина А.Н. Метод вольтамперометрии в определении антиоксидантных свойств некоторых биологически активных соединений: дис. ... канд. хим. наук. – Томск, 2008. – 200 с.

Поступила 29.01.2015 г.