

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ СИНТЕТИЧЕСКИХ АНТИОКСИДАНТОВ

© 2010 С.Ю. Клепикова¹, Н.О. Карабинцева¹, Т.А. Лебедева¹, А.Е. Просенко²,
О.П. Колесникова³

¹ Новосибирский государственный медицинский университет

² Институт естественных и социально-экономических наук, г. Новосибирск

³ ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск

Поступила в редакцию 21.09.2010

В данной статье рассмотрена взаимосвязь антиоксидантных и иммуотропных свойств новых водорастворимых серосодержащих антиоксидантов.

Ключевые слова: антиоксидантная активность, иммунодепрессанты, фенольные соединения

Водорастворимые фенольные антиоксиданты по сравнению со своими липофильными аналогами характеризуются большей биологической доступностью и скоростью транспорта в организме, что делает их незаменимыми в качестве средств профилактики и терапии патологических состояний, сопровождающихся развитием окислительного стресса [1, 3]. Направленный синтез новых полифункциональных антиоксидантов фенольного типа, превосходящих по эффективности существующие аналоги, представляет особый интерес с учетом особенностей взаимосвязи структуры и антиоксидантной активности. Наряду с изучением эффективности водорастворимых фенольных антиоксидантов в отношении процессов свободнорадикального окисления в реакциях перекисного окисления липидов, большее количество работ посвящено оценке иммуотропных свойств данного класса соединений, изучению их влияния на иммунологическую реактивность организма и улучшения обменных процессов, а также разработке высокоэффективных биостимуляторов и иммуномодуляторов, как средств повышения общей резистентности организма [2, 7, 8].

Клепикова Софья Юрьевна, кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель. E-mail: klepikova.sofya@mail.ru

Карабинцева Наталья Олеговна, доктор фармацевтических наук, доцент, заведующая кафедрой фармацевтической технологии и биотехнологии. E-mail: karnatol@yandex.ru.

Лебедева Татьяна Александровна, преподаватель. E-mail: tal_52@mail.ru

Просенко Александр Евгеньевич, доктор химических наук, профессор, директор. E-mail: kafedraFTVT@mail.ru

Колесникова Ольга Петровна, доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией экспериментальной иммунологии E-mail: iscreen2001@mail.ru

Универсальное значение иммунной и антиоксидантной систем обуславливают необходимость изучения конкретных механизмов их взаимосвязи. Исходя из анализа работ отечественных и зарубежных ученых по изучению антиоксидантной активности и иммуотропности синтетических антиоксидантов, биологическая значимость поиска новых форм водорастворимых фенольных антиоксидантов очевидна и актуальна.

В настоящей работе приведены результаты исследования антиоксидантной и иммуотропной активности новых водорастворимых серосодержащих фенольных соединений, синтезированных на основе производных бромзамещенных алкилфенолов [4].

Учитывая, что фенольные соединения проявляют свойства антиоксидантов и способны тормозить цепное окисление органических соединений [1], антиоксидантную активность определяли манометрическим методом, в основу которого положена модельная реакция инициирования окисления субстрата [5]. В качестве эталона сравнения использовали известный водорастворимый монофункциональный антиоксидант фенозан калия (ФК) [6]. Нами установлено, что активность феноксильных радикалов в реакциях свободнорадикального окисления липидного субстрата в водно-эмульсионной среде увеличивается с уменьшением количества и объема алкильных заместителей фенольного кольца (рис. 1), чем и объясняется снижение антиоксидантной активности в ряду полученных соединений. Соединения, в орто-положениях которых не содержатся алкильные заместители, в условиях инициированного окисления метилолеата

имеют близкие значения периодов индукции с соединениями, в структуре которых присутствует одна *трет*-бутильная группа и существенно уступают по антиоксидантной активности соединениям содержащим две *трет*-бутильные группы в *орто*-положении. Присутствие в ионогенном фрагменте бивалентного атома серы, способствует усилению антиоксидантных свойств полученных соединений, так называемый эффект синергизма, обусловленный анти-

радикальной активностью фенольной ОН-группы и противопероксидной активностью ионогенного тиосульфатного фрагмента. Тиосульфатные производные, имеющее в своей структуре две *мети*- или *трет*-бутильные группы, существенно превосходят по своей способности тормозить окисление метилолеата монофункциональный антиоксидант (ФК).

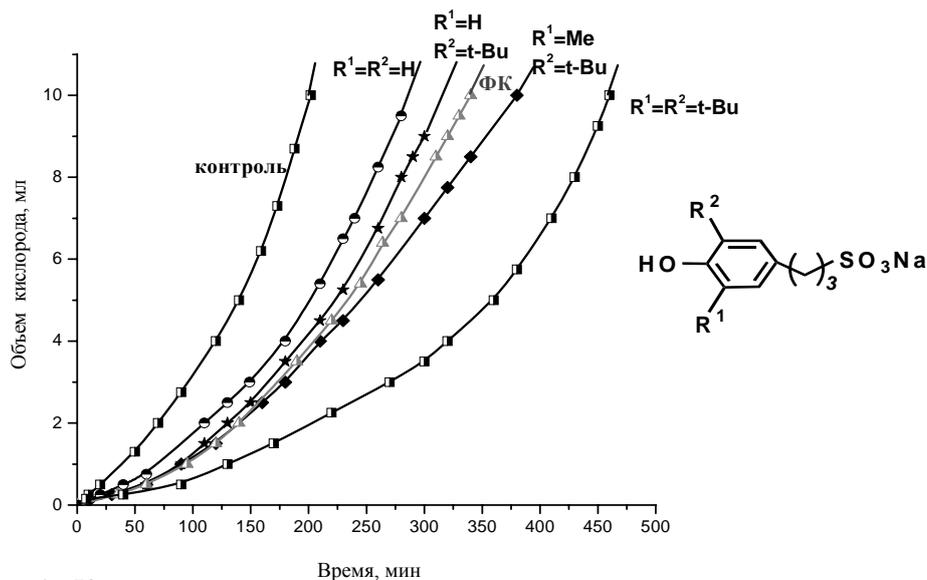
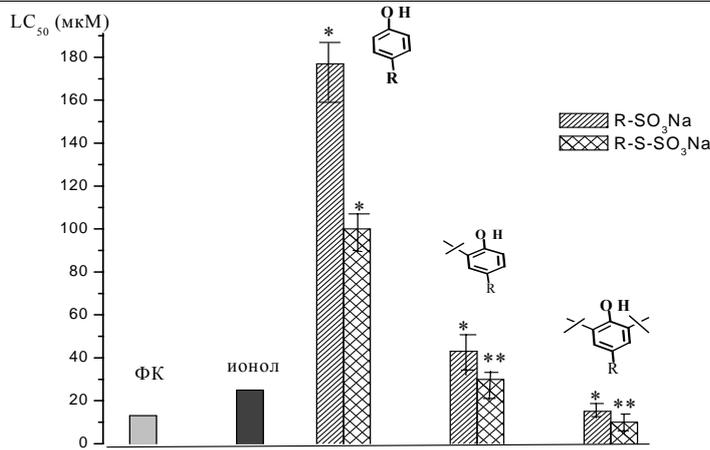


Рис. 1. Кинетические кривые окисления метилолеата в водно-эмульсионной среде в присутствии ряда соединений с разной степенью пространственной затрудненности PhOH (60°C , $[\text{ArOH}] = 2\text{мМ}$, $[\text{Cu}^{2+}] = 5\text{мМ}$)

Тестирование антиоксидантной активности полученных соединений также проводили на модели медь-индуцированного окисления липопротеинов низкой плотности [6]. Об эффективности антиоксидантного действия соединений судили по их концентрации, обуславливающей 50% ингибирование накопления малонового диальдегида (LD_{50}) после 30 мин инкубации с ионами металла. В качестве эталона сравнения использовали структурные аналоги тиосульфатных производных фенолов, ионол и ФК. Было показано (рис. 2), что антиоксидантная активность в ряду полученных соединений также возрастает по мере увеличения степени экранирования фенольной ОН-группы, при этом наличие ионогенном фрагменте бивалентного атома серы способствует усилению антиоксидантных свойств полученных соединений. Как видно из рис. 2, в концентрации 50% ингибирования накопления малонового диальдегида у неэкранированных

фенолов выше 160 мкМ, а для пространственно-затрудненных фенолов LD_{50} составляет всего несколько мкМ. Соединения с двумя *трет*-бутильными группами по антиоксидантной активности близки к ионолу и превосходят соответствующий по строению ФК.

Таким образом, более эффективными ингибиторами инициированного окисления субстрата оказались *орто*-ди-замещенные тиосульфатные производные фенольных соединений. Учитывая данный факт, была проведена оценка иммуотропных свойств по способности соединений подавлять развитие аутоиммунного заболевания – иммунокомплексный гломерулонефрит. С этой целью хроническое воспаление у мышей самок вызывали двукратным введением лимфоидных клеток от самок родительской линии DBA/2 [9]. За появлением протеинурии начинали следить с 6 недели от начала индукции воспаления.



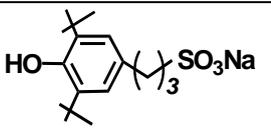
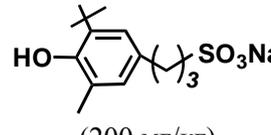
Примечание: достоверно по отношению к контролю *- $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$

Рис. 2. Диаграмма значений ингибирования окисления ЛНП в присутствии водорастворимых фенольных антиоксидантов при 60°C, $[Cu^{2+}] = 5$ мМ

Содержание белка в моче определяли колориметрически с красителем Kumasi brillant blu (Loba Feinchemie) с помощью Titetrik Multiskan, длина волны λ 570 нм. В опытах использовали мышей со стойкой протеинурией (уровень белка в моче 3 мг/мл и более) на 2-3, 6-7 и 9 месяце заболевания. Введение тестируемых соединений на фоне заболевания осуществляли в два этапа. Первый курс составил 5 инъекций внутривенно через день. Дозы подобраны экспериментально и соответствуют

максимально переносимым дозам у мышей на массу тела и клеточность органов. Перерыв между курсами составил 3 дня. После первого и второго курса на следующий день измеряли протеинурию. Как видно из данных, представленных в табл. 1, оба соединения после 1-го курса лечения не оказывали эффекта, а после 2-го курса наблюдается достоверный эффект действия обоих соединений: снижение протеинурии наблюдалось соответственно на 32% и 43%.

Таблица 1. Влияние курсового введения соединений протеинурию у мышей В6D2F1 с иммунокомплексным гломерулонефритом

Водорастворимые фенольные антиоксиданты	Белок в моче (мг/мл)					
	до лечения	%	после 5-кратного введения	%	после 10-кратного введения	%
 (35 мг/кг)	6,32±0,30	100	6,47±0,44	102	4,31±0,35**	68
 (200 мг/кг)	6,65±0,75	100	5,53±0,27*	83	3,82±0,82**	57

Примечание: достоверно по отношению к контролю *- $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

Выводы: тиосульфатные производные, представляющие собой новые формы класса пространственно-затрудненных фенолов, обладающие гидрофильными свойствами и выраженной антиоксидантной активностью, по сравнению со своими структурными аналогами и известным антиоксидантом – фенозаном калия в отношении окисления эфиров

олеиновой кислоты в водно-эмульсионной среде, а также Cu^{2+} -индуцированном окислении ЛНП, проявившие противовоспалительное действие на модели иммунокомплексного гломерулонефрита, являются перспективными веществами для дальнейшего изучения иммуноотропных свойств.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Зенков, Н.К.* Окислительный стресс / *Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньщикова.* – М.: Наука, 2001. С. 15-93.
2. *Утешев, Б.С.* Иммуномодулирующее и антиоксидантное действие витаминов А и Е при воздушном и иммерсионном охлаждении / *Б.С. Утешев, Н.А. Быстрова, И.Л. Бровкина* и др. // Эксперим. и клинич. фармакол. 2001. Т.64, № 1. С. 60-63.
3. *Ланкин, В.З.* Свободнорадикальные процессы в норме и при заболеваниях сердечно-сосудистой системы / *В.З. Ланкин, А.К. Тихазе, Ю.Н. Беленков* // Антиоксиданты в комплексной терапии атеросклероза: pro et contra. – М.: Наука, 2003. С. 25-53.
4. *Кандалицева, Н.В.* Направленный синтез водорастворимых антиоксидантов с бифункциональным механизмом противooksидительного действия: Матер. VI Междунар. конф. «Биоантиоксидант» / *Н.В. Кандалицева, О.И. Дюбченко, С.Ю. Клепикова* и др. – М., 2002. С. 232-234.
5. *Цепалов, В.Ф.* Определение констант скорости и коэффициентов ингибирования фенолов антиоксидантов с помощью модельной цепной реакции / *В.Ф. Цепалов, А.А. Харитонов, Г.П. Гладышев* и др. // Кинетика и катализ. 1977. Т. 18. С. 1261-1267.
6. *Орехович, В.Н.* Современные методы в биохимии / *В.Н. Орехович.* – М.: Мир, 1997. С. 533-537.
7. *Пенков, М.П.* Иммунотропная активность бета-каротина и аскорбиновой кислоты / *М.П. Пенков* – Автореф. дис.. канд. мед. наук. – М., 2001. 22 с.
8. *Delta Fuente, M.* Antioxidants of immunomodulatory activity / *M. Delta Fuente, V. M. Victor* // Immunol. and Cell-Biol. 2000. Vol. 78, № 1. P. 49-54.
9. *Gao, X.* Immunomodulatory activity of resveratrol: discrepant in vitro and in vivo immunological effects / *X. Gao et al.* // Biochem Pharmacol. 2003. Vol. 15, № 12. P. 2427-2435.

BIOLOGICAL EFFICIENCY OF SYNTHETIC ANTIOXIDANTS

© 2010 S.Yu. Klepikova¹, N.O. Karabintseva¹, T.A. Lebedeva¹, A.E. Prosenko², O.P. Kolesnikova³

¹Novosibirsk State Medical University

²Institute of Natural and Social-economic Sciences, Novosibirsk

³Scientific Research Institute of Clinical Immunology SB RAMS, Novosibirsk

In given article the interrelation between antioxidatic and immunotropic properties of new water-soluble sulphur-containing antioxidants is surveyed.

Key words: *antioxidatic activity, immunodepressants, phenolic bonds*

Sofia Klepikova, Candidate of Pharmacy, Senior Lecturer. E-mail: klepikova.sofya@mail.ru

Nataliya Karabintseva, Doctor of Pharmacy, Associate Professor, Head of the Department of Pharmasutical Technology and Biotechnology. E-mail: karnatol@yandex.ru.

Tatiana Lebedeva, Teacher. E-mail: tal_52@mail.ru

Alexander Prosenko, Doctor of Chemistry, Professor, Director. E-mail: kafedraFTBT@mail.ru

Olga Kolesnikova, Doctor of Biology, Professor, Chief of the Experimental Immunology Laboratory. E-mail: iscreen2001@mail.ru