

**ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ
ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ПЕЛОИДОВ**

© 2013 Н.П. Аввакумова, М.Н. Глубокова, Е.Е. Катунина

Самарский государственный медицинский университет

Поступила в редакцию 17.05.2013

В статье рассмотрены результаты изучения антиоксидантных свойств гуминовых кислот пелоидов амперометрическим и манометрическим методом. На основании полученных экспериментальных данных определено, что гуминовые пелоидопрепараты обладают антиоксидантными свойствами. Практическое использование информации об антиоксидантной активности гуминовых кислот позволит использовать их как биологически активную субстанцию для лекарственных препаратов для лечения патологий, обусловленных нарушением окислительно-восстановительного гомеостаза организма.

Ключевые слова: *гуминовые вещества, пелоиды, гуминовые кислоты, гумусовые кислоты, кверцетин*

Одним из интересных и перспективных источников биологически активных веществ (БАВ) с точки зрения экономической и терапевтической эффективности являются пелоиды, в частности, низкоминерализованные иловые сульфидные грязи, представляющие собой сложный комплекс как неорганических, так и органических веществ. Преобладающим компонентом низкоминерализованных иловых сульфидных грязей, ответственным за биологическую активность, являются гуминовые кислоты, которые в настоящее время получили широкое применение в ветеринарии, животноводстве, растениеводстве, как эффективные биостимуляторы и протекторы. Грязелечение применяется как в народной, так и официальной медицине при патологиях опорно-двигательного аппарата, центральной и периферической нервной системы, желудочно-кишечного тракта, ЛОР-органов, в гинекологии, андрологии. Однако нативная пелоидотерапия, являясь нагрузочной процедурой, имеет определенные ограничения в применении и даже противопоказания, обусловленные наличием у пациентов сопутствующих заболеваний. Кроме того, пелоидотерапия связана с пребыванием больных в районе месторождения лечебных грязей, что делает ее малодоступной для многих категорий больных.

В настоящее время существует возможность решения этих вопросов путем преформирования, то есть выделения из лечебных грязей биологически активных компонентов и создания на их основе лекарственных средств с целью их самостоятельного использования. Предпосылками для

такого решения являются многочисленные исследования по составу лечебных грязей и их биологической активности, раскрывающие роль гуминовых кислот как ключевого фактора терапевтического действия низкоминерализованных иловых лечебных грязей. Исследования, выполненные в разных странах в последние десятилетия, подтверждают, что одной из основных причин патологических изменений в человеческом организме, приводящих к преждевременному старению и развитию многих болезней, в том числе самых опасных, таких как сердечно-сосудистые и онкологические заболевания, является избыточное содержание в биологических жидкостях свободных кислородных радикалов (супероксид-анион, гидроксильный радикал, пергидроксильный радикал и др.). Постоянное повышенное содержание в межклеточных и внутриклеточных биологических жидкостях свободных радикалов создает условия для развития оксидантного стресса, выражающегося с биохимической точки зрения в том, что свободные радикалы окисляют стенки сосудов, белки, ДНК, липиды. Радикалы особенно активно взаимодействуют с мембранными липидами, содержащими ненасыщенные связи, и изменяют свойства клеточных мембран. Наиболее активные свободные радикалы способны разрывать связи в молекуле ДНК, повреждать генетический аппарат клеток, регулирующий их рост, что приводит к онкологическим заболеваниям. Липопротеиды низкой плотности после окисления могут откладываться на стенках сосудов, что вызывает развитие атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний. От воздействия свободных радикалов здоровый организм защищает естественная антиоксидантная система, содержащая ферментные и неферментные вещества, способные полностью нейтрализовать вредное воздействие радикальных форм кислорода. Снижение активности естественной антиоксидантной системы человека и, следовательно, возрастание концентрации свободных радикалов в организме

Аввакумова Надежда Петровна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой общей, биоорганической и биоорганической химии. E-mail: navvak@mail.ru

Глубокова Мария Николаевна, кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры общей, биоорганической и биоорганической химии. E-mail: glubokova_mn@mail.ru

Катунина Елена Евгеньевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры общей, биоорганической и биоорганической химии. E-mail: katuninaelena@yandex.ru

связано со многими неблагоприятными факторами: это радиоактивное и ультрафиолетовое облучение, ухудшение экологической обстановки, широкое распространение социальных заболеваний (алкоголизм, курение, наркомания), постоянные стрессы, потребление загрязненной пищи, неконтролируемый прием некоторых лекарственных препаратов. Данные обстоятельства свидетельствуют о том, что исследование антиоксидантных свойств гуминовых кислот является актуальным.

Цель исследования: изучение антиоксидантных свойств гуминовых веществ пелоидов амперометрическим и манометрическим методом.

Объект исследования: фракции гуминовых кислот низкоминерализованных иловых сульфидных грязей (пелоидов) различной концентрации.

В основе методов определения антиоксидантной активности лежат принципы прямого или косвенного измерения скорости или полноты реакции антиоксидантов с соответствующими

реагентами, среди которых наибольший интерес представляет амперометрия и манометрия. Для количественного определения антиоксидантов наиболее надежным представляется амперометрический метод, так как он позволяет непосредственно измерить содержание всех антиоксидантов в пробе. Он основан на измерении электрического тока, возникающего при электрохимическом окислении исследуемого вещества (или смеси веществ) на поверхности рабочего электрода при определенном его потенциале. В условиях амперометрического детектирования хорошо окисляются соединения, содержащие гидроксильные группы, предел их обнаружения лежит в интервале 10^{-9} - 10^{-12} г, а в благоприятных условиях некоторые соединения определяются на уровне 10^{-15} г. Нами была измерена антиоксидантная активность растворов гуминовых кислот различных концентраций 1%, 0,1%, 0,01%, 0,001%. В качестве стандарта использовали кверцетин.

Таблица 1. Значения величин суммарного содержания антиоксидантов

Название	Концентрация	Значение сигнала (площадь), нАс	ССА, мг/мл (стандарт кверцетин)
гуминовые кислоты	0,001%	516	менее 0,0001
гуминовые кислоты	0,01%	3602	0,00058
гуминовые кислоты	0,1%	14571	0,00387
гуминовые кислоты	1%	44177	0,043

Значения сигнала гуминовых кислот 0,001% концентрации 516 нАс свидетельствует о том, что суммарное содержание антиоксидантов составляет менее 0,0001 мг/мл. С увеличением концентрации гуминовых кислот значения цифровых сигналов, а следовательно суммарное содержание антиоксидантов увеличивается. При концентрации гуминовых кислот 0,01% суммарное содержание антиоксидантов 0,00058 мг/мл, при концентрации 0,1% – 0,00387 мг/мл, а при концентрации гуминовых кислот 1% значение суммарного содержания антиоксидантов достигает 0,043 мг/мл. Полученная информация свидетельствует о том, что гуминовые кислоты обладают антиоксидантной активностью, величина которой возрастает с увеличением концентрации.

Изучение антиоксидантных свойств гуминовых кислот манометрическим методом проводилось на модельной реакции радикально-цепного инициированного окисления 1,4-диоксана в стандартных условиях при температуре 348 К и скорости инициирования $V_i = 1 \cdot 10^{-7}$ моль/л·с в кинетическом режиме окисления, в качестве инициатора окислительных процессов выбран азодиизобутиронитрил (АИБН). Кинетические опыты проводили в стеклянном реакторе, в который загружали раствор инициатора в 1,4-диоксане, термостатировали при температуре 75°C несколько минут, затем следили за поглощением кислорода с помощью универсальной манометрической дифференциальной установки. Скорость окисления V_0 определяли

по тангенсу угла наклона кинетической кривой поглощения кислорода. Ингибированное окисление 1,4-диоксана проводили в присутствии ионола или образцов гуминовых кислот. В этом случае скорость V_{in}^0 определяли по начальному участку кинетической кривой. Скорость инициирования рассчитывали по уравнению $V_i = k_i \cdot [АИБН]$, где k_i – константа скорости инициирования, c^{-1} . При расчете скорости инициирования полагали, что $k_i = 2ek_p$, где k_p – константа скорости распада АИБН, e – вероятность выхода радикалов в объем. При этом для k_p принимали значение, измеренное в циклогексаноле: $\lg k_p = 17,70 - 35/\theta$ ($\theta = 4,575 \cdot T \cdot 10^{-3}$, $e = 0,5$). Таким образом, $V_i = 1 \cdot 10^{-7}$ моль/л·с.

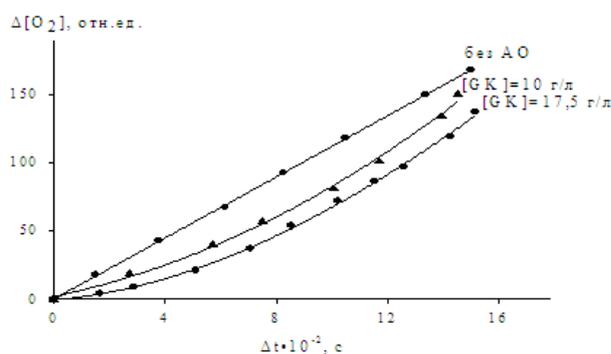


Рис. 1. Типичные кинетические кривые в зависимости от концентрации гуминовых кислот

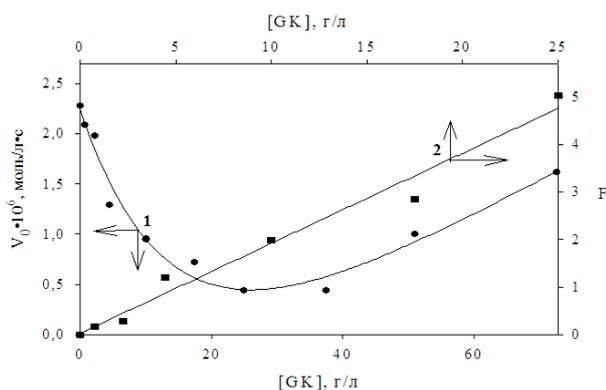


Рис. 2. Зависимость скорости поглощения кислорода (1) и параметра ингибирования (2) от концентрации ГК в координатах уравнения (1)

Введение в реакционную смесь антиоксидантов приводит к снижению скорости окисления модельного субстрата вследствие обрыва цепи на молекулах ингибирующей примеси. Из представленных графиков следует, что в области концентраций 1-30 г/л с увеличением концентрации раствора гуминовых кислот происходит закономерное снижение скорости окисления 1,4-диоксана, что служит очевидным доказательством антиоксидантного действия пелоидопрепарата.

Выводы: результаты амперометрического и манометрического определения антиоксидантных свойств гуминовых кислот, низкоминерализованных иловых сульфидных грязей свидетельствуют о том, что они обладают антиоксидантной

активностью. Практическое использование информации об антиоксидантной активности гуминовых кислот позволит использовать их как биологически активную субстанцию для лекарственных препаратов для лечения патологий, обусловленных нарушением окислительно-восстановительного гомеостаза организма, что обеспечит снижение заболеваемости, предупреждение преждевременного старения, что позволит увеличить продолжительность и повысить качество жизни.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Аввакумова, Н.П.* Про- и антиоксидантные свойства гуминовых кислот пелоидов / *Н.П. Аввакумова, М.Н. Глубокова, М.А. Кривопалова, А.В. Жданова* // Экология и жизнь: сб. ст. 16 Междунар. научн.-практ. конф. – Пенза, 2007. С. 6-9.
2. *Глубокова, М.Н.* Химико-фармацевтические свойства гуминовых кислот пелоидов как биологически активной субстанции для суппозиторий. Автореферат дис. ... канд. фарм. наук. – Пенза, 2009. 23 с.
3. *Аввакумова, Н.П.* Рациональное использование отработанной лечебной грязи / *Н.П. Аввакумова, Е.Е. Катунина, М.Н. Глубокова* // Процессы, технологии, оборудование и опыт переработки отходов и вторичного сырья: материалы 3 Всерос. научн.-практ. конф. – Самара, 2008. С. 84-87.
4. *Катунина, Е.Е.* Экологическая и биохимическая активность гиматомелановых кислот пелоидов. Автореферат дис. ... канд. биол. наук. – Самара, 2007. 20 с.

RESEARCH THE ANTIOXIDANT PROPERTIES OF PELOIDS HUMIC ACIDS

© 2013 N.P. Avvakumova, M.N. Glubokova, E.E. Katunina

Samara State Medical University

In article results of studying the antioxidant properties of peloids humic acids by amperometrical and manometrical methods are considered. On the basis of the obtained experimental data it is defined that humic peloid preparations possess antioxidant properties. Practical use of information on antioxidant activity of humic acids will allow to use them as medicines biologically active substance for treatment the pathologies caused by violation of oxidation-reduction homeostasis of an organism.

Key words: *humic substances, peloids, humic acids, humus acids, quercetin*

Nadezhda Avvakumova, Doctor of Biology, Professor, Head of the Department of Common, Bionorganic and Bioorganic Chemistry. E-mail: navvak@mail.ru; Maria Glubokova, Candidate of Pharmacy, Senior Lecturer at the Department of Common, Bionorganic and Bioorganic Chemistry. E-mail: glubokova_mn@mail.ru; Elena Katunina, Candidate of Biology, Associate Professor at the Department of Common, Bionorganic and Bioorganic Chemistry. E-mail: katuninaelena@yandex.ru