

УДК 544.431.7

**АНТИОКСИДАНТНА ДІЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ  
У МОДЕЛЬНИХ СИСТЕМАХ РІЗНОЇ СКЛАДНОСТІ**

О.І.Хижан, О.П.Книга, О.І.Хижан\*, Ю.С.Єфремова,

\*Інститут фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л.М. Литвиненко НАН України

**Вступ.** Лікування антиоксидантами (АО) як метод неспецифічної корекції патологічних станів, що протікають на фоні інтенсифікації процесів пероксидного окиснення, є перспективним напрямом розвитку медицини. Лікарські засоби поліфенольної і аміної природи можуть бути як антиоксидантами, так і прооксидантами. Але в організмі людини позитивна терапевтична дія фіксується тільки при використанні їх в дозах, що призводять до інгібування вільнорадикального окиснення. Систематичні дослідження антиоксидантної активності фармацевтичних препаратів важливі не тільки для визначення механізму їх фармакологічної дії, індивідуального підбору препарату і його дозування з урахуванням антиоксидантного стану організму, але і для створення нових, більш ефективних ліків.

**Постановка завдання.** Дане дослідження присвячено вивченню антиоксидантних властивостей гідроксопохідних бензгетероциклічних сполук – лікарських препаратів арбідолу і фенікаберану і їх похідних у формі основ порівняно з відомим антиоксидантом іонолом (табл.1). Відомо [1,2], що арбідол і фенікаберан гальмують процес пероксидного окислення ліпідів, але механізм антиоксидантної дії не встановлено.

Таблиця 1.

Назви і хімічні формули досліджених сполук

№	Структурна формула	Назва сполуки
1		1-метил-2-фенілтіометил-3-етоксикарбоніл-4-диметиламінометил-5-гідроксо-6-броміндолу гідрохлорид моногідрат (арбідол)
2		2-феніл-3-етоксикарбоніл-4-диметиламінометил-5-гідроксибензофурану гідрохлорид (фенікаберан)
3		1-метил-2-фенілтіометил-3-етоксикарбоніл-4-диметиламінометил-5-гідрокси-6-броміндол (основа арбідолу)
4		2-феніл-3-етоксикарбоніл-4-диметиламінометил-5-гідроксибензофуран (основа фенікаберану)
5		4-метил-2,6-дитретбутилфенол (іонол)

**Експериментальна частина.** Оцінка антиоксидантної дії досліджуваних сполук у гомогенному середовищі проведена на моделях ініційованого азодіазобутиронитрилом окиснення (343К) і автоокиснення (393К) етилбензолу. Методи дослідження кінетики процесів – газоволюмометричний (ГВ), хемілюмінесцентний (ХЛ) та метод відбору проб. У гетерогенному середовищі окиснення водної дисперсії ліпопротеїнів яєчного жовтка (ЯЖ) вивчали газоволюмометричним методом в наступних умовах [3]: 37<sup>0</sup>С, 9% (за масою) дисперсія жовтка у фосфатному буфері (рН=7,4; 0,04М КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub>/К<sub>2</sub>НРО<sub>4</sub>, 0,14М NaCl) у присутності [Fe<sup>2+</sup>]=2,5·10<sup>-3</sup>М. Ініціювання процесу здебільшого відбувається за рахунок реакції розгалуження – взаємодії гідропероксидів із іонами дво-валентного заліза. Вимірювали об'єм поглиненого кисню з часом, порівнюючи кількість О<sub>2</sub>, увібраного за 20 хвилин від початку експерименту в дослідах без інгібітору і в його присутності, розраховували величину відносної зміни об'єму поглиненого кисню, по її залежності від концентрації АО визначали С<sub>50%</sub> – концентрацію інгібітору, що викликає зниження об'єму поглиненого кисню на 50%. Цей параметр використовували для порівняння активності різних антиоксидантів. Чим менше ця величина, тим ефективніше антиоксидант в заданих умовах гальмує процес окиснення.

**Результати та їх обговорення.** Як відомо, антиоксиданти фенольного типу є акцепторами радикалів [4], тому була вивчена активність лікарських засобів, молекули яких мають фенольні фрагменти, у реакції зі стабільним радикалом дифенілпікрилгідразилом (ДФПГ) у бензолі і гексані фотокolorиметричним методом (рис.1). В неполярних розчинниках препарати розчинні у формі основ.

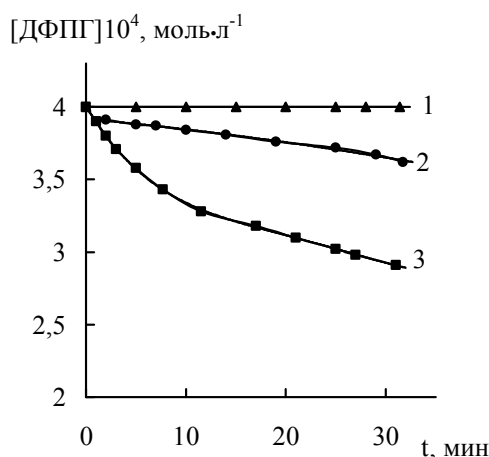


Рис. 1. Кінетичні криві розходування ДФПГ без домішок (1) і в реакції з основами фенікаберану (2) і арбідолу (3) в гексані. Т = 296 К

Отримано, що незалежно від структури реакція має перший порядок як по ДФПГ, так і по досліджуваній сполуці в обох розчинниках. Рівняння для швидкості реакції:

$$W = k[\text{ДФПГ}][\text{Речовина}]$$

Константи, розраховані за цим рівнянням, наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Кінетичні параметри реакції ДФПГ з гідроксопохідними бензгетероциклічних сполук. Т=296К

Сполука	k, л·моль <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup>	
	гексан	бензол
Іюнол	1.50±0.06	(2.7±0.1)·10 <sup>-1</sup>
Основа арбідолу	1.00±0.04	(4.2±0.2)·10 <sup>-1</sup>
Основа фенікаберану	(8.3±0.3)·10 <sup>-2</sup>	(4.4±0.2)·10 <sup>-2</sup>

Кінетичні параметри реакції ДФПГ з основами арбидолу і фенікаберану більш низькі в порівнянні з іонолом. Це пояснюється наявністю електроноакцепторних замісників як у гетероциклі, так і в конденсованому з ним бензольному кільці, що знижує реакційну здатність гідроксогрупи.

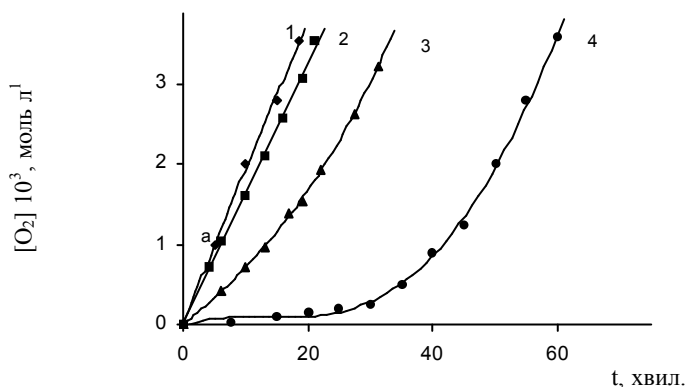


Рис.2. Кінетичні криві поглинання кисню в процесі ініційованого окиснення ЕТБ: без домішок інгібітору (1) і в присутності:  $1 \cdot 10^{-3}$  моль·л<sup>-1</sup> арбидолу (2),  $5 \cdot 10^{-4}$  моль·л<sup>-1</sup> основи арбидолу (3),  $5 \cdot 10^{-4}$  моль·л<sup>-1</sup> іонолу (4);  $W_i = 2 \cdot 10^{-7}$  моль·л<sup>-1</sup>·с<sup>-1</sup>;  $T = 343$ К.

Аналіз впливу розчинника на швидкість цієї реакції показав, що при переході від гексану до бензолу спостерігається зниження констант швидкостей реакції, що, ймовірно, пов'язане з відомою здатністю ДФПГ до створення  $\pi$ -комплексів із ароматичними вуглеводнями.

Антирадикальна активність (АРА) досліджуваних сполук зумовила наявність у них антиоксидантних властивостей в процесі окиснення етилбензолу (ЕТБ). Встановлено, що введення в ЕТБ, що окиснюється, основи арбидолу на відміну від гідрохлориду призводить до гальмування процесу ініційованого окиснення (рис.2), що свідчить про обрив ланцюгів окиснення по реакції з пероксирадикалами субстрату.

При високотемпературному окисненні ЕТБ антиоксидантна дія досліджуваних речовин аналогічно їх дії в ініційованому процесі: спостерігаються періоди індукції окиснення, а швидкість процесу після виходу з періоду не залежить від наявності інгібітору. Це пов'язано з відсутністю розкладу гідропероксидів лікарськими засобами по молекулярному механізму.

Пряме підтвердження антирадикальної дії досліджуваних речовин отримано хемілюмінісцентним методом. При введенні інгібіторів відносна інтенсивність хемілюмінісценції ( $I/I_0$ ) знижується, оскільки обрив пероксирадикалів ЕТБ на інгібіторі конкурує з квадратичним обривом, відповідальним за світіння [5]. Отримані кінетичні закономірності інгібованого окиснення свідчать про лінійний обрив ланцюгів на молекулі антиоксиданту [4]. Кількісно антиоксидантну активність (АОА) характеризували періодом індукції ( $\tau$ ), стехіометричним коефіцієнтом інгібування ( $f$ ), константою швидкості взаємодії речовини з  $RO_2^{\cdot}$ :

$$W_{O_2} = -\frac{d[O_2]}{dt} = \frac{k_2[RH]W_i}{f \cdot k_7[InH]} + W_i, \quad f = \frac{\tau \cdot W_i}{[InH]_0}, \quad \left[ \frac{d(I/I_0)}{dt} \right]_{\max} = 0,22 \frac{k_7}{\sqrt{k_6}} \sqrt{W_i}$$

де  $InH$  – інгібітор;

$W_{O_2}$  – швидкість окислення, моль·л<sup>-1</sup>·с<sup>-1</sup>;

$k_7$  – константа швидкості реакції досліджуваної речовини з пероксирадикалами ЕТБ;

$f$  – стехіометричний коефіцієнт інгібування – число радикалів, що гинуть на одній молекулі антиоксиданту і продуктах його перетворення;

$\tau$  – період індукції;

$I$  – інтенсивність хемілюмінісценції;

$RH$  – субстрат окиснення;

$W_i$  – швидкість ініціювання, моль·л<sup>-1</sup>·с<sup>-1</sup>;

$k_2$  – константа швидкості продовження ланцюга;

$k_6$  – константа швидкості квадратичного обриву ланцюга.

Визначені двома методами константи швидкості реакції (табл.3) мають кількісні відмінності. Більш точним необхідно рахувати хемілюмінісцентний метод, оскільки він менш ускладнений можливіми побічними реакціями за участю антиоксиданту.

Слід відмітити, що основа фенікаберану, що має дуже низьку АРА в реакції з ДФПГ, не впливає на процес окиснення етилбензолу. Звертає на себе увагу факт низького стехіометричного коефіцієнту інгібування

основи арбидолу при достатньо високому значенні  $k_7$ , що може бути пояснено високою реакційною здатністю радикала інгібітору в реакціях продовження ланцюга. Арбідол у формі гідрохлориду лише знижує швидкість окиснення ЕТБ, тобто він менш ефективний порівняно з відповідною основою. Це обумовлено сильною електрооакцепторною дією четвертого атома азоту на активність ОН-групи.

Таблиця 3

Параметри антиоксидантної дії гідроксопохідних бензгетероциклічних сполук при ініційованому окисненні етилбензолу.  $W_i = 5,4 \cdot 10^{-7}$  моль  $\cdot$  л $^{-1} \cdot$  с $^{-1}$ ;  $T = 343K$

Речовина	f		$k_7$ , л $\cdot$ моль $^{-1} \cdot$ с $^{-1}$	
	ГВ	ХЛ	ГВ	ХЛ
Арбідол	Знижує швидкість окислення			
Основа арбидолу	0.3	0.2	$(6.6 \pm 0.3) \cdot 10^4$	$(4.0 \pm 0.1) \cdot 10^4$
Фенікаберан	Не впливає на швидкість окислення			
Основа фенікаберану				
Іонол	2.0	2.0	$(3.1 \pm 0.1) \cdot 10^4$	$(3.1 \pm 0.1) \cdot 10^4$

Моделі дослідження АОА у гомогенних радикально-ланцюгових процесах далеко не завжди відтворюють умови окиснення в біологічних системах. Ідентифікація природних компонентів клітин, відповідальних за протікання хімічних реакцій при участі радикалів, показала, що основна кількість радикалів утворюється у фракції фосфоліпідів. Це стосується перш за все фосфатидилхоліну і фосфатидилетаноламіну – найважливіших фосфоліпідів клітинних мембран [6]. З цієї точки зору однією з найбільш вдалим тестових моделей для вивчення АОА препаратів є водна дисперсія ЯЖ – гетерогенна система, що містить мембранні структури клітин (при розведенні у фосфатному буфері фосфоліпіді ЯЖ за рахунок гідрофобних взаємодій мимовільно агрегуються в бішарових міцелах – ліпосомах) і відповідає по ліпідно-білковому складу липопротейнам низької густини плазми крові [7].

Відомо, що у гетерогенній системі на ефективність антиоксидантної дії, окрім швидкості взаємодії інгібіторів із пероксильними радикалами субстрату, істотно впливає їх гідрофобність, яка визначає як міжфазний розподіл, так і адсорбцію АО на міжфазній поверхні [9,10], тобто його локальну концентрацію у дисперсійній фазі, а значить, і рівень інгібування процесу перекисного окиснення ліпідів. У використаній тестовій системі окиснення відбувається на поверхні ліпосом [8], яка складається з полярних головок фосфоліпідів, що містять заряд. На зарядженій поверхні, мабуть, краще адсорбуються молекули лікарських препаратів у формі солі за рахунок електростатичних взаємодій, чим і пояснюється виражена АОА лікарських засобів арбидолу і фенікаберану (табл. 4), незважаючи на відсутність такої при окисненні гомогенної системи.

Таблиця 4

Антиоксидантні властивості препаратів в моделі пероксидного окиснення ліпідів

Назва		Основа арбидолу	Арбідол	Іонол
$C_{50\%}$ , моль/л	$2,5 \cdot 10^{-4}$	$4,5 \cdot 10^{-5}$	$1,1 \cdot 10^{-5}$	$3,3 \cdot 10^{-6}$

**Висновки.** Таким чином, була вивчена АОА лікарських засобів арбидолу і фенікаберану і їх похідних у формі основ як у гомогенній, так і в гетерогенній системах. У гомогенних системах інгібуюча дія лікарських засобів у формі солі відсутня, тоді як у гетерогенних системах антиоксидантна активність висока для обох форм і сумірна з іонолом – одним із найефективніших інгібіторів пероксидного окиснення ліпідів.

## РЕЗЮМЕ

Данная работа посвящена изучению в сравнении с ионолом антиоксидантных свойств лекарственных препаратов (арбидола и феникаберана) – производных бензгетероциклических соединений – в процессе гомогенного радикально-цепного окисления этилбензола, инициированного азодиизобутиронитрилом, и при окислении водной дисперсии липопroteинов яичного желтка в присутствии соли двухвалентного железа. АРА и АОА соединений исследовали хемиллюминесцентным, газовольюмометрическим и фотоколориметрическим методами. Установлено, что соединения проявляют высокую антиоксидантную активность в гетерогенной системе. Показано, что эффективность ингибирующего действия исследованных лекарственных препаратов в форме соли и основания неодинакова и зависит от типа модельной системы.

## SUMMARY

The given work deals with the study in comparison with ionol antioxidant properties of mediccations (Arbidolum and Phenikaberanum) – benzheterocyclic compounds derivatives – in the homogeneous radical-chain oxidization of ethylbenzene process, initiated azodiizobutironitrile, and at oxidization of egg yolk lipoproteins water dispersion in the presence of bivalent iron salt. Compounds ARA and AOA are investigated by chemiluminescence, gas-volume and photocolometric methods. It is set, that compounds posses the high antioxidant activity in heterogeneous system. It is shown, that efficiency of inhibition action of the researched medications in the form of salt and base is different and depends on the type of the model system.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Лебедев А.В. Антиоксидантные свойства бензофуурокаина, феникаберана и ортофена /А.В.Лебедев, А.В.Кузьмин, Д.О.Левицкий, Г.И.Степанюк // Фармакол. и токсикол. – 1989. – Т. 52, №3. – С.59-62.
2. Глушков Р.Г. Изучение антиокислительных свойств арбидола / Р.Г.Глушков, Т.А.Гуськова, П.П.Голиков и др. // Хим. фарм. журнал. – 1996. – Т.30, №1. – С.3-5.
3. Николаевский А.Н. Определение антиоксидантной активности веществ при окислении липопротеинов яичного желтка газоволюмометрическим методом / А.Н.Николаевский, Т.А.Филиппенко, О.П.Книга, В.В.Левкина // Биомедицинская химия. – 2006. – Т.52, №2. – С.211-218.
4. Denisov E. Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology / E.Denisov, I.Afanas'ev; New York: CRC Press, 2005. – 992 p.
5. Шляпинтох В.Я. Хемилюминесцентные методы исследования медленных химических процессов / В.Я.Шляпинтох, О.Н.Карпунин, Л.М.Постников и др. – М.: Наука, 1966. – 300 с.
6. Козлов Ю.П. Свободнорадикальное окисление липидов в биомембранах в норме и при патологии / Ю.П.Козлов // Биоантиокислители: научн.-техн. сб. – М.: Наука, 1975. – С.5-14.
7. Владимиров Ю.А. Свобнорадикальное окисление липидов и физические основы липидного слоя биологических мембран / Ю.А.Владимиров // Биофизика. – 1987. – Т.32, №5. – С.830-844.
8. Владимиров Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А.Владимиров, А.И.Арчаков. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
9. Герчиков А.Я. Влияние некоторых средств, используемых в анестезиологии, на перекисное окисление липидов плазмы крови / А.Я.Герчиков, Г.Г.Гарифуллина, А.Н.Ахметшина // Хим.-фарм. ж. – 2000. – Т.34, №12. – С.3-4.
10. Gadow A. Effect of extraction and addition heating on the antioxidant activity of rooibos tea extracts / Gadow A., Joubert E. and Hansmann G.F. // J. Arg. and Food Chem. – 1997. – V. 45. – P.1370-1374.

*Надійшла до редакції 27.04.2009 р.*