

*На правах рукописи*

**Журавлева Людмила Анатольевна**

**РАЗРАБОТКА И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ  
КИНЕТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ ТЕСТИРОВАНИЯ  
БИОАНТИОКСИДАНТОВ**

02.00.04 – физическая химия

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук

Тюмень – 2006

Работа выполнена в Сургутском государственном университете на кафедре химии

Научный руководитель – д.х.н., профессор  
Ушкалова Валентина Николаевна

Официальные оппоненты – д.т.н., профессор  
Курина Лариса Николаевна

н.с., к.х.н.  
Савинцев Юрий Петрович

Ведущая организация – Омский государственный университет

Защита состоится « 23 » ноября 2006 года в 15.00 часов на заседании диссертационного совета К212.274.04 при Тюменском государственном университете по адресу: 625003, г. Тюмень, ул. Перекопская, 15а, ауд. 118-а.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Тюменского государственного университета.

Отзыв на автореферат высылать по адресу: 625003, г. Тюмень, ул. Семакова, 10, ТюмГУ, химический факультет, ученому секретарю диссертационного совета Котовой Т.П.

Автореферат разослан « 22 » октября 2006 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
кандидат химических наук \_\_\_\_\_ Котова Т.П.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Актуальность исследования обусловлена широким применением антиоксидантов в химической, пищевой технологиях, производстве лекарственных средств, для стабилизации полимерных материалов, автомобильного и авиационного бензинов, смазочных масел. В последнее время в связи с открытием свободнорадикального механизма многих патологий, сформировалась новая область медицины – антиоксидантоterapia. Применение антиоксидантов в медицине связано не только с антиоксидантной активностью, но и растворимостью препаратов в воде, нетоксичностью.

Расширение ассортимента антиоксидантов в технике и медицине, возможно только на основе достоверных, сопоставимых методов их тестирования. При этом особенно актуальной является разработка методов тестирования средств антиоксидантоterapia–биоантиоксидантов. Подбор нетоксичных водорастворимых антиоксидантов актуален также для новых направлений пищевой технологии и фармации, разрабатывающих водно-эмульсионные формы.

Все известные методы тестирования антиоксидантов делятся на кинетические и некинетические.

Некинетические методы отличаются тем, что используются нестандартизированные субстраты, исследование ведут в некинетической области процессов окисления, а в качестве показателей используют концентрацию нестабильных пероксидов или вторичных продуктов. В качестве субстратов используют олеиновую кислоту или различные клеточные, субклеточные компоненты.

Кинетические методы позволяют количественно оценить антирадикальную активность соединений по величине константы скорости обрыва цепей или суммарную антиоксидантную активность по величине периода индукции. Однако в качестве субстратов чаще всего применяют углеводороды: этилбензол, кумол, что мало подходит для тестирования биоантиоксидантов, обладающих сложным механизмом действия. Известное применение в качестве субстратов эфиров высших ненасыщенных жирных кислот относится только к водонерастворимым антиоксидантам.

В целом актуальность настоящей работы обусловлена необходимостью разработки кинетических методов тестирования водонерастворимых и водорастворимых биоантиоксидантов. Представляется актуальным сравнение эффективности разных

кинетических моделей тестирования биоантиоксидантов и разработка практических рекомендаций к их применению.

**Целью работы** является разработка и оценка эффективности кинетических моделей тестирования растворимых и нерастворимых в воде биоантиоксидантов.

В процессе достижения цели в работе решались следующие задачи:

– разработка кинетической модели тестирования липидрастворимых биоантиоксидантов;

– разработка метода внешнего стандарта для оценки эффективности и механизма действия липидрастворимых биоантиоксидантов;

– исследование критериев оценки эффективности и механизма действия липидрастворимых биоантиоксидантов методом математического моделирования;

– разработка кинетической модели тестирования водорастворимых биоантиоксидантов по результатам исследования процессов мицеллообразования и кинетики каталитического окисления водно-липид-ных субстратов; исследование критериев тестирования эффективности и механизма действия водорастворимых биоантиоксидантов;

– тестирование водорастворимых соединений классов фенолов, аминов, тиолов в условиях водно-липидной модели, оценка их эффективности и механизма действия с помощью разработанных критериев;

– сравнение водно-липидной и безводной кинетических моделей по информативности и области применения.

#### **Научная новизна:**

1. Разработаны две кинетические модели, которые позволяют производить поиск эффективных биоантиоксидантов не только среди традиционно исследуемых водонерастворимых соединений, но и среди природных и синтетических водорастворимых соединений, оценивать интегральную антиоксидантную активность всей совокупности компонентов биологического материала и биологических сред.

2. Разработана совокупность критериев оценки эффективности, механизма действия биоантиоксидантов с помощью метода внешнего стандарта, а также по величинам параметров аппроксимирующих функций и их производных. Это позволяет оценить периоды полного торможения и выхода на стационарный режим, участие ингибитора в обрыве, продолжении, разветвлении цепей, величины начальной и максимальной скоростей, минимальную критическую концентрацию, при которой биоантиоксидант не влияет на кинетику процесса и

максимальную критическую концентрацию, при которой биоантиоксидант проявляет высокую антиоксидантную активность.

3. Впервые показаны особенности механизма действия некоторых фенолов при каталитическом окислении водно-липидных субстратов, высокая антиоксидантная активность водорастворимых лекарственных препаратов различного фармакологического действия, способных расширить ассортимент средств антиоксидантотерапии.

**На защиту выносятся:**

1. Обоснование метода внешнего стандарта для оценки эффективности и механизма действия водонерастворимых антиоксидантов.

2. Математический метод определения эффективности и механизма действия биоантиоксидантов.

3. Результаты разработки и оценки эффективности водно-липидной кинетической модели тестирования биоантиоксидантов.

4. Результаты тестирования водорастворимых биоантиоксидантов в зависимости от структуры, их обсуждение.

**Практическая значимость работы** заключается прежде всего в том, что предложены две кинетические модели, позволяющие тестировать антиоксидантную активность всей совокупности водо- и липидрастворимых компонентов биологического сырья и тем самым расширять ассортимент нетоксичных биологических добавок и средств антиоксидантотерапии.

В работе экспериментально доказана антиоксидантная активность ряда гипотензивных, адреномиметических, желчегонных препаратов, что дает основание исследовать возможность расширения их фармакологического действия и терапевтического применения.

Водно-липидная кинетическая модель, разработанная соискателем практически применима для тестирования синтетических и природных водорастворимых соединений, а кинетические и математические критерии позволяют всесторонне оценить эффективность и механизм действия антиоксидантов.

**Апробация работы.** Материалы диссертации были представлены на международной, трех всероссийских, региональной, трех окружных, двух межвузовских научных и научно-практических конференциях. По результатам исследования опубликованы статьи в журналах «Вестник ТюмГУ» (Тюмень, 2006), «Вопросы современной науки и практики. Университет им. В.И. Вернадского» (Тамбов, 2006). Приняты в печать статьи в журнал «Кинетика и катализ» и «Химико-фармацевтический журнал», подана заявка на изобретение (дата поступления 24.05.2005, входящий № 017934, регистрационный № 2005115666).

**Структура и объем диссертации** Работа состоит из введения, четырех глав, выводов, списка литературы, приложения, методических рекомендаций. Библиографический список литературы включает 138 наименований, из которых 36 источников иностранной литературы. Материалы изложены на 147 страницах, содержат 54 рисунка и 34 таблицы, 10 приложений.

## КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ

**Во введении** обоснована актуальность темы диссертации, сформулированы цель работы, основные задачи исследования, научная новизна, практическая значимость, основные положения, выносимые на защиту.

**В первой главе** приведен литературный обзор, в котором изложены основы теории цепных радикальных процессов окисления углеводов и их производных. Рассмотрены механизмы антиоксидантного действия различных классов соединений, критически оценены методы и результаты тестирования антиоксидантов, рассмотрен состав и биологические функции липидов, особенности их свободнорадикального окисления, представлена теория мицеллообразования, основы и особенности межфазного и мицеллярного катализа.

**Во второй главе** изложены методики получения этилолеата, метиллинолеата, методики инициированного и каталитического их окисления, очистки растворителей и ингибиторов, физико-химические характеристики исследованных соединений, методики исследования процессов мицеллообразования.

**В третьей главе** приведены результаты всесторонней кинетической оценки эффективности модельной реакции тестирования липидрастворимых биоантиоксидантов в гомогенной среде. Обсуждены результаты тестирования антиоксидантной активности соединений и механизма их действия. Приведено обсуждение результатов тестирования эффективности и механизма действия двух биоантиоксидантов с учетом литературных данных.

**В четвертой главе** приведены результаты разработки водно-липидной кинетической модели и исследование ее эффективности для тестирования водорастворимых биоантиоксидантов. Приведены результаты исследования мицеллообразования в системах «вода – этиллинолеат», «вода – метиллинолеат», «вода – цетилтриметиламмоний бромид», «вода – додоцелсульфонат натрия» и соответствующих трехкомпонентных систем.

Приведены результаты исследования кинетики окисления водно-липидных субстратов в зависимости от природы и концентрации катализатора. Приведены результаты выбора кинетических критериев оценки эффективности и механизма действия антиоксидантов в водно-липидной среде с помощью математической модели. Приведены результаты тестирования 10 соединений класса фенолов, аминов,

тиолов, из которых 8 лекарственных препаратов. Дано обсуждение результатов в сравнении с литературными данными.

Приведены выводы.

### **МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Тестирование липидрастворимых биоантиоксидантов проводят в пробе этилолеата или метиллинолеата объемом 0,5–2 мл растворенной в равном объеме хлорбензола, добавляют  $(2-60) \cdot 10^{-3}$  моль/л (по отношению к объему пробы) 2, 2'-динитрилазобисизомасляной кислоты (инициатор). Окисление проводят в термостатируемой при  $60,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$  ячейке при непрерывном перемешивании. Волунометрически фиксируют объем поглощенного кислорода во времени, строят кинетические кривые (КК). В указанных условиях проводят окисление в пробах с добавками тестируемых биоантиоксидантов.

Тестирование водорастворимых биоантиоксидантов проводят в пробе метиллинолеата или этилолеата и воды в соотношении 1 : 3 по объему в присутствии  $(1-5) \cdot 10^{-3}$  моль/л цетилтриметиламмония бромид и  $(1-2) \cdot 10^{-3}$  моль/л хлорида меди. Пробу насыщают молекулярным кислородом. Окисление проводят в термостатированной при  $60,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$  ячейке манометрической установки при непрерывном перемешивании. Волунометрически фиксируют объем поглощенного кислорода во времени, строят кинетические кривые (КК). В указанных условиях проводят окисление в пробах с добавками тестируемых биоантиоксидантов.

Для оценки эффективности, механизма действия липидрастворимых антиоксидантов предложено два подхода: метод внешнего стандарта и метод математического моделирования. Для оценки эффективности и механизма действия водорастворимых антиоксидантов использован метод математического моделирования. С этой целью в программе Microsoft Excel методом наименьших квадратов подбирают линии тренда и аппроксимирующие функции кинетических кривых, с последующим дифференцированием последних. В результате получают график в виде линейных участков, по которым выбраны критерии эффективности и механизма действия биоантиоксидантов.

Этилолеат получали этерификацией олеиновой кислоты этанолом в щелочной среде с последующей очисткой и вакуумной перегонкой по стандартной методике. Метиллинолеат марки «х.ч.» использовали без дополнительной очистки. Ингибиторы и растворители подвергались очистке по стандартным методикам. Исследование мицеллообразования

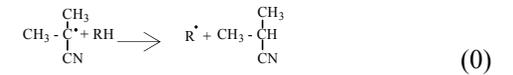
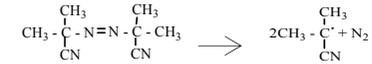
двух и трехкомпонентных систем проводят по методу Ребиндера и рефрактометрически.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

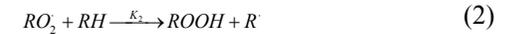
### 1. Обоснование метода внешнего стандарта для оценки эффективности и механизма действия водонерастворимых антиоксидантов.

В соответствии с известной схемой механизма инициированного окисления скорость окисления определяется выражением (1):

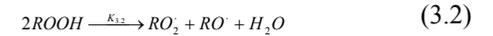
Инициирование цепей:



Продолжение цепей:



Разветвление цепей:



Обрыв цепей:



$$W_{\text{O}_2} = \frac{K_2}{\sqrt{2K_6}} \cdot [\text{RH}] \cdot \sqrt{W_i} \quad (1)$$

При известных  $K_2$  и  $K_6$  для метиллинолеата и экспериментальных значениях  $W_{\text{O}_2}$  и  $[\text{RH}]$  вычислены  $W_i$  для добавок инициатора  $6 \cdot 10^{-2}$ ,  $6 \cdot 10^{-3}$ ,  $2 \cdot 10^{-3}$  моль/л, равные  $3 \cdot 10^{-8}$ ,  $3 \cdot 10^{-9}$  и  $1,7 \cdot 10^{-9}$  моль  $\text{л}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$  соответственно. Результаты подтверждены вычислением  $W_i$  по известному для метиллинолеата выражению

$$W_i = l \cdot K_i [I], \quad (2)$$

где  $[I]$  – концентрация инициатора,

$l = 1,2$  – эффективность выхода радикалов из "клетки" в растворах хлорбензола,

$K_i$  – константа скорости инициирования ( $\text{л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ ).

Константу скорости распада 2,2'-азобисизобутиронитрила вычислили по известному для метиллинолеата выражению  $K_1 = 3,14 \cdot 10^{13} e^{-\frac{30000+500}{RT}}$ .

В соответствии с известной схемой механизма действия сильных ингибиторов, скорость окисления определяется выражением

$$W_{O_2} = \frac{K_2}{K_7} [RH] \frac{W_i}{f[InH]} \quad (3)$$

При известных скоростях инициирования, экспериментально определенных скоростях окисления метиллинолеата в присутствии различных концентраций добавок 2, 6-дитрет.бутил-4-метилфенола (ионола), известного в качестве сильного ингибитора вычислен параметр  $fK_7$ , а в предположении  $f=2$ , вычислены значения константы скорости обрыва цепей  $K_7$ . Очевидно, что при соответствии схемы механизма экспериментальным данным,  $K_7$  не должна зависеть от концентрации ионола и скорости инициирования. Расчеты показали, что  $K_7$  во всех исследованных пробах остается постоянной, равной  $(2,6 \pm 0,3) \cdot 10^4$  л·моль<sup>-1</sup>·с<sup>-1</sup> и соответствует известным для ионола  $K_7$  в этилбензоле. Получена линейная зависимость периодов индукции от концентрации ионола, которая подтверждает простой механизм действия ионола в метиллинолеате.

Для оценки эффективности и механизма действия любых тестируемых ингибиторов выбран метод сравнения с кинетическими параметрами ионола, названный нами методом внешнего стандарта.

Далее этим методом исследована кинетика окисления метиллинолеата в зависимости от концентрации  $\alpha$ -токоферола при разных скоростях инициирования. Путем сравнения кинетических кривых окисления метиллинолеата при одинаковых концентрациях ионола и  $\alpha$ -токоферола (рис. 1), показана меньшая эффективности последнего. Показано, что параметр  $fK_7$  (табл. 1) зависит от скорости инициирования и концентрации  $\alpha$ -токоферола. При увеличении концентрации  $\alpha$ -токоферола в 10–100 раз параметр  $fK_7$  падает также примерно в 10–100 раз. Очевидно, что механизм действия  $\alpha$ -токоферола более сложен по сравнению с ионолом. Более слабое торможение по сравнению с ионолом, вероятно, связано с участием  $\alpha$ -токоферола в реакциях продолжения цепей, что сказывается и на эффективных значениях  $fK_7$ :



Зависимость периодов индукции от концентрации  $\alpha$ -токоферола имеет сложный характер (рис. 2).

При низких концентрациях наблюдается линейный участок, который быстро искажается и имеет при более высоких концентрациях S-об-разный характер. Это согласуется с литературными данными о том, что в биомембранах  $\alpha$ -токоферол может выполнять регулируемую роль в процессах свободнорадикального окисления. В нашем эксперименте искажение линейной зависимости наблюдалось при концентрациях  $\alpha$ -токоферола близких к его содержанию в животных тканях ( $1 \cdot 10^{-4}$  моль/л).

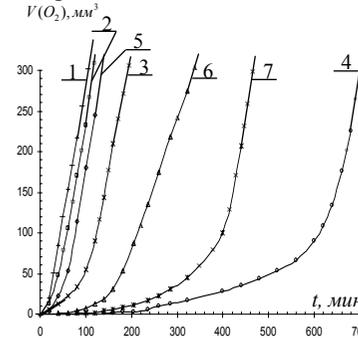


Рис. 1. Кинетические кривые инициированного окисления метиллинолеата: 1 – контроль;  $\alpha$ -токоферол: 2 –  $1 \cdot 10^{-4}$ ; 3 –  $4 \cdot 10^{-4}$ ; 7 –  $8 \cdot 10^{-4}$ ; ионол: 5 –  $1 \cdot 10^{-4}$ ; 6 –  $4 \cdot 10^{-4}$ ; 4 –  $8 \cdot 10^{-4}$  моль/л

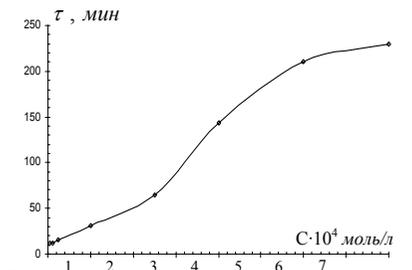


Рис. 2. График зависимости периода индукции  $\tau$  от концентрации  $\alpha$ -токоферола при  $W_i = 1,7 \cdot 10^{-9}$  моль·л<sup>-1</sup>·с<sup>-1</sup>

Таблица 1

**Кинетические параметры окисления растворов метиллинолеата в зависимости от концентраций инициатора и ингибитора**

Концентрация $\alpha$ -токоферола, моль/л	$W_{O_2}^{экс}$ , моль·л <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup>	$\nu = \frac{W_{O_2}^{экс}}{W_i}$	$fK_7$ , л·моль <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup>
1. $[I] = 2 \cdot 10^{-3}$ моль/л, $W_i = (1,7 \pm 0,3) \cdot 10^{-9}$ моль·л <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup> , $[\alpha\text{-ТФ}]_{кр} = 2,3 \cdot 10^{-6}$ моль/л			
$5,0 \cdot 10^{-6}$	$1,7 \cdot 10^{-7}$	100,0	$2,4 \cdot 10^5$
$1,0 \cdot 10^{-5}$	$1,1 \cdot 10^{-7}$	64,7	$1,9 \cdot 10^5$
$2,5 \cdot 10^{-5}$	$8,5 \cdot 10^{-8}$	50,0	$9,8 \cdot 10^4$
$1,0 \cdot 10^{-4}$	$6,8 \cdot 10^{-8}$	40,0	$3,1 \cdot 10^4$
$2,5 \cdot 10^{-4}$	$1,3 \cdot 10^{-8}$	7,6	$6,4 \cdot 10^4$
$4,0 \cdot 10^{-4}$	$1,3 \cdot 10^{-8}$	7,6	$4,0 \cdot 10^4$
$8,0 \cdot 10^{-4}$	$9,0 \cdot 10^{-9}$	5,2	$2,9 \cdot 10^4$
2. $[I] = 6 \cdot 10^{-3}$ моль/л, $W_i = (3,0 \pm 0,2) \cdot 10^{-9}$ моль·л <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup> , $[\alpha\text{-ТФ}]_{кр} = 2,7 \cdot 10^{-6}$ моль/л			
$1 \cdot 10^{-6}$	$9,7 \cdot 10^{-8}$	32,6	$3,8 \cdot 10^6$
$1 \cdot 10^{-5}$	$8,5 \cdot 10^{-8}$	28,5	$4,3 \cdot 10^5$
$1 \cdot 10^{-4}$	$4,9 \cdot 10^{-8}$	16,3	$7,5 \cdot 10^4$
$5 \cdot 10^{-4}$	$2,6 \cdot 10^{-8}$	8,8	$2,8 \cdot 10^4$

$7 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-8}$	4,5	$3,9 \cdot 10^4$
$1 \cdot 10^{-3}$	$1,2 \cdot 10^{-8}$	4,1	$3,0 \cdot 10^4$
3. $[I]=6 \cdot 10^{-2}$ моль/л, $W_i=(3,0 \pm 0,3) \cdot 10^{-8}$ моль·л <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup> , $[\alpha\text{-ТФ}]_{\text{вп}}=1,1 \cdot 10^{-5}$ моль/л			
$4 \cdot 10^{-4}$	$4,9 \cdot 10^{-8}$	1,6	$1,9 \cdot 10^5$
$6 \cdot 10^{-4}$	$4,0 \cdot 10^{-8}$	1,3	$1,6 \cdot 10^5$
$8 \cdot 10^{-4}$	$3,4 \cdot 10^{-8}$	1,1	$1,4 \cdot 10^5$
$1 \cdot 10^{-3}$	$3,3 \cdot 10^{-8}$	1,05	$1,2 \cdot 10^5$
$3 \cdot 10^{-3}$	$4,0 \cdot 10^{-8}$	1,2	$3,2 \cdot 10^4$
$6 \cdot 10^{-3}$	$4,5 \cdot 10^{-8}$	1,5	$1,4 \cdot 10^4$

Таким образом, метод внешнего стандарта позволяет оценить суммарную эффективность антиоксиданта путем сравнения кинетических кривых, прогнозировать схему механизма его действия по величине параметра  $fK_7$  и исследования его зависимости от концентрации ингибитора.

Методом внешнего стандарта оценена эффективность гипотензивного лекарственного препарата капотена (1-[(2S)-3-метилпропионил]-L-пролина)-тиола по своей природе. По кинетическим кривым установлено, что капотен менее эффективен, чем ионол (рис. 3).

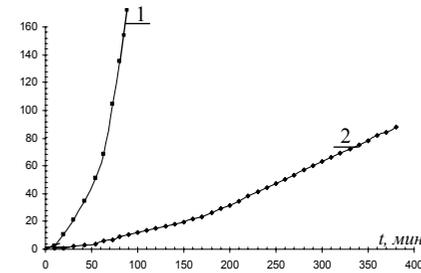


Рис. 3. Кинетические кривые окисления метиллинолеата в присутствии  $1 \cdot 10^{-3}$  моль/л: 1 – капотен, 2 – ионол при  $W_i=3,0 \cdot 10^{-9}$  моль·л<sup>-1</sup>·с<sup>-1</sup>

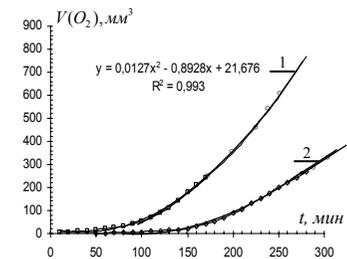


Рис. 4а. Кинетические кривые окисления метиллинолеата в присутствии: 1 –  $\alpha$ -токоферол; 2 – ионол

Показано, что повышение концентрации капотена снижает его эффективность вплоть до промотирования процесса, а максимальная скорость возрастает. Эти факты, вероятно, связаны с участием капотена не только в продолжении, но и иницировании цепей за счет связи S–Н.

Таблица 2

**Кинетические параметры иницированного окисления раствора метиллинолеата в зависимости от концентрации капотена**  
 $W_i = 3,0 \cdot 10^{-9}$  моль·л<sup>-1</sup>·с<sup>-1</sup>

концентрация капотена, моль/л	$W_{O_2}^{экс}$ , моль·л <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup>	$v = \frac{W_{O_2}^{экс}}{W_i}$	$fK_{7_2}$ , л·моль <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup>
$1 \cdot 10^{-6}$	$4,9 \cdot 10^{-8}$	16,3	$7,6 \cdot 10^6$
$5 \cdot 10^{-5}$	$6,2 \cdot 10^{-8}$	20,7	$1,2 \cdot 10^5$
$5 \cdot 10^{-4}$	$6,8 \cdot 10^{-8}$	22,7	$1,1 \cdot 10^4$
$1 \cdot 10^{-3}$	$7,6 \cdot 10^{-8}$	25,3	$4,9 \cdot 10^3$
$1 \cdot 10^{-2}$	$1,4 \cdot 10^{-7}$	46,7	$2,7 \cdot 10^2$

Показано, что параметр  $fK_7$  уменьшается обратно пропорционально концентрации (табл. 2), что подтверждает сложный механизм действия капотена, его вероятное конкурирующее участие в реакциях обрыва (8), продолжения (7) и зарождения цепей (реакции 0.1 и 0.2)



Таким образом, на примере двух нетоксичных соединений: природного и синтетического, показана применимость метода внешнего стандарта для качественной и количественной оценки эффективности биоантиоксидантов.

**2. Математический метод определения эффективности и механизма действия биоантиоксидантов.** Для расширения критериев оценки эффективности и механизма действия биоантиоксидантов, увеличения точности предложен математический метод определения кинетических параметров. С этой целью в программе Microsoft Excel для кинетических кривых подбирались линии тренда и аппроксимирующие функции. Функции дифференцируют, получают несколько линейных участков, положение которых по отношению к оси абсцисс и по наклону судят об эффективности ингибиторов и механизме их действия. Метод использован для оценки информативности обеих кинетических моделей: безводной и водно-липидной, для всех исследованных биоантиоксидантов.

На рисунке 4 приведены типичные результаты математической обработки кинетических кривых окисления метиллинолеата при  $W_i = 1,7 \cdot 10^{-9}$  моль·л<sup>-1</sup>·с<sup>-1</sup> в присутствии добавок ионола и  $\alpha$ -токоферола в концентрации  $4 \cdot 10^{-4}$  моль/л. Показано, что при участии ингибитора только в обрыве цепей (ионол) кинетические кривые аппроксимируют одной параболой (рис. 4д, кривая 1). При этом ее начало соответствует периоду окончания полного торможения, а наклон – ускорению процесса.

$V(O_2), \text{мл}^3$

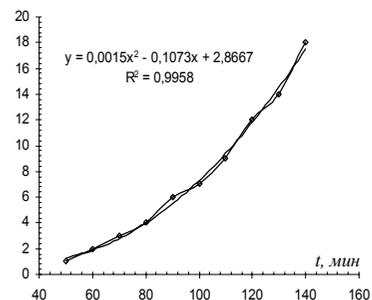


Рис. 4б. Аппроксимация первого участка КК окисления метиллинолеата в присутствии  $\alpha$ -токоферола параболой с дисперсией 0,9958

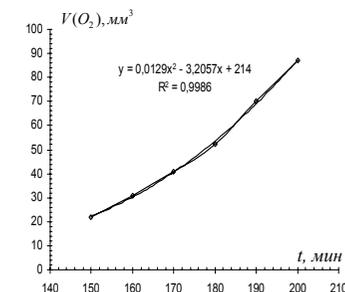


Рис. 4в. Аппроксимация второго участка КК окисления метиллинолеата в присутствии  $\alpha$ -токоферола параболой с дисперсией 0,9986

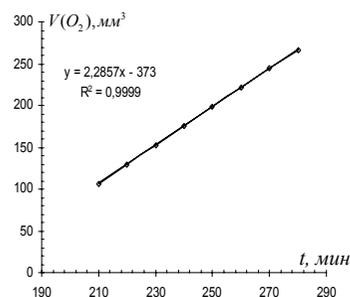


Рис. 4г. Аппроксимация третьего участка КК окисления метиллинолеата в присутствии  $\alpha$ -токоферола прямой с дисперсией 0,9999

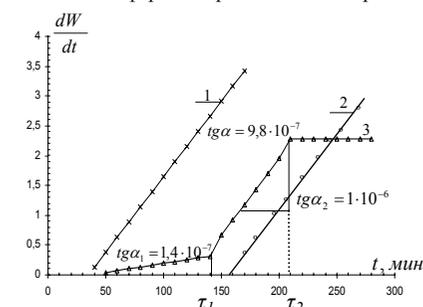


Рис. 4д. Расчет кинетических параметров математическим методом: 1 – контроль; 2 – ионол, 3 –  $\alpha$ -токоферол

Для ингибиторов со сложным механизмом действия получают три линейных участка (рис. 4д, кривая 3). Экстраполяция первого и третьего участков на ось ординат позволяет вычислить начальную и максимальную скорости процесса соответственно. Окончание первого участка соответствует периоду торможения ( $\tau_1$ ), окончание второго участка соответствует периоду достижения максимальной скорости ( $\tau_2$ ), наклоны соответствуют ускорению ( $a_1$  и  $a_2$ ). Характер аппроксимирующей функции и указанные параметры ее производной использованы в качестве критериев эффективности и механизма действия. В табл. 3 приведены для сравнения некоторые аппроксимирующие функции кинетических кривых окисления раствора метиллинолеата в присутствии ионола,  $\alpha$ -токоферола и капотена.

Таблица 3

**Аппроксимирующие функции кинетических кривых окисления метиллинолеата при  $W_i=3,0 \cdot 10^{-9}$  моль  $\cdot$  л $^{-1} \cdot$  с $^{-1}$**

InH	C <sub>InH</sub>	функции	дисперсия	a <sub>1</sub> / a <sub>2</sub>
ионол	5·10 <sup>-4</sup>	$y = 0,0003x^2 + 0,6225x - 22,31$	0,9982	$3,7 \cdot 10^{-7}$
α-токоферол		$y_1 = 0,00012x^2 + 0,05x - 1$	0,9999	$1,4 \cdot 10^{-7} /$
		$y_2 = 0,025x^2 - 1,45x - 13$	0,9997	$1,1 \cdot 10^{-5}$
		$y_3 = 2,74x - 186,8$	0,9998	
капотен	$y_1 = 0,033x^2 + 1,233x - 8$	0,9989	$1,6 \cdot 10^{-3}$	
		$y_2 = 2,3728x - 40,825$	0,9889	

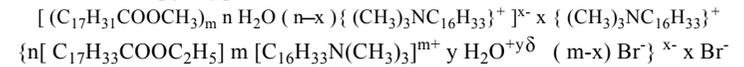
Исследование характера функций (общий вид  $ax^2 + bx - c = 0$ ) дает дополнительную информацию, предваряющую результаты дифференцирования: увеличение коэффициента  $a$  соответствует большей эффективности аутоускорения; коэффициент  $b$  не отражает особенностей процесса; по величине коэффициента  $c$  можно судить о критической концентрации кислорода, при которой начинается процесс аутоускорения.

В результате проведенных исследований выбраны условия тестирования липидрастворимых антиоксидантов путем термостатированного окисления проб растворов эфиров ненасыщенных жирных кислот в присутствии источника свободных радикалов, без ингибитора и в присутствии добавок ингибиторов, волюмометрического измерения концентрации поглощенного кислорода во времени.

Для оценки эффективности, механизма действия ингибиторов предложены метод внешнего стандарта и метод математического определения кинетических параметров и анализа механизма действия. Метод внешнего стандарта заключается в сравнении кинетических кривых и кинетических параметров, полученных для проб со стандартным ингибитором, участвующим только в обрыве цепей, например, ионолом и параметров полученных для проб с тестируемым биоантиоксидантом. Метод математического анализа путем получения аппроксимирующей функции КК и ее производной позволяет более точно оценить период индукции, начальную и максимальную скорости, ускорение, оценить эффективность и механизм действия биоантиоксидантов. Метод математического моделирования оказался более универсальным и главным при оценке результатов тестирования водорастворимых антиоксидантов.

**3. Результаты разработки и оценки эффективности водно-липидной кинетической модели тестирования биоантиоксидантов.** При разработке водно-липидной кинетической модели тестирования водорастворимых антиоксидантов исследованы мицеллярные свойства двух- и трех компонентных систем (см. стр. 6). По результатам исследования выбран эмульгатор (цетилтриметиламмоний бромид),

подобраны оптимальные соотношения компонентов, сделаны предложения о структуре мицелл:



Обе предполагаемые формулы мицелл, включают воду в качестве адсорбционного или потенциалобразующего компонента, что согласуется с большим избытком воды как в эксперименте по оценке критической концентрации мицеллообразования, так и в окисляющихся пробах (молярное соотношение эфира и воды составляет 1 : 60) и с ее высокой поляризуемостью. Избыток воды также определяет динамическое равновесие мицелл с разным числом агрегации. Для выбора катализатора исследована кинетика окисления метиллинолеата и этилолеата в зависимости от концентрации хлоридов или бромидов меди (II), кобальта (II), никеля (II), железа (II, III) (рис. 5). Показана наибольшая эффективность катионов меди, вызывающих наибольшее ускорение процесса при меньших концентрациях.

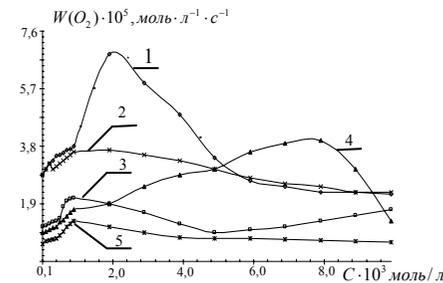


Рис. 5. Зависимость скорости окисления от концентрации катионов: 1 –  $Cu^{2+}$ ; 2 –  $Fe^{2+}$ ; 3 –  $Fe^{3+}$ ; 4 –  $Co^{2+}$ ; 5 –  $Ni^{2+}$  при окислении метиллинолеата в водо-эмульсионной среде

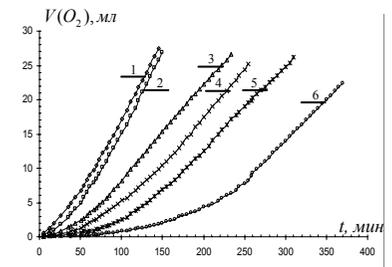


Рис. 6. Кинетические кривые окисления этилолеата в водо-эмульсионной среде при  $60,0 \pm 0,2^\circ C$  в присутствии  $2 \cdot 10^{-3}$  моль/л хлорида меди: 1 – контроль; 2 –  $1 \cdot 10^{-5}$ ; 3 –  $2 \cdot 10^{-5}$ ; 4 –  $5 \cdot 10^{-5}$ ; 5 –  $1 \cdot 10^{-4}$ ; 6 –  $5 \cdot 10^{-4}$  моль/л ионнола

На основе этих исследований выбраны условия тестирования водорастворимых антиоксидантов (см. стр. 6).

Для определения особенностей механизмов каталитического окисления водно-липидных моделей в предложенной кинетической модели исследована кинетика окисления этилолеата (рис. 6, кривая 1). Аппроксимация данной зависимости в программе Microsoft Excel позволяет выявить три участка на кинетической кривой, типичные результаты приведены на рис. 7. Первый и третий участки аппроксимируют прямыми линиями, второй – параболой. Дифференцирование полученных функций приводит к трем прямым, первая и третья с нулевым наклоном, наклон второго участка соответствует ускорению (рис. 7), экстраполяция первого и третьего

участков на ось ординат определяет начальную и максимальную скорость процесса (табл. 4).

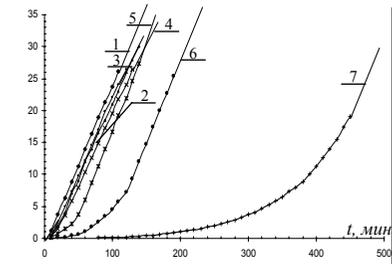
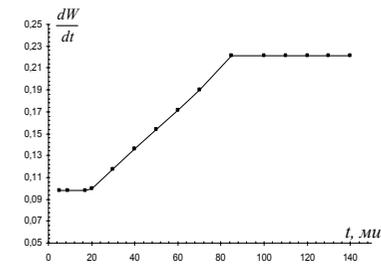
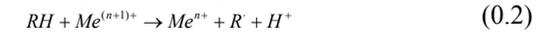
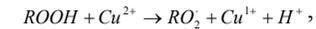


Рис. 7. Расчетный параметр позволяет проанализировать механизм окисления эфира ненасыщенной жирной кислоты в присутствии ионов меди. Первый линейный участок дифференциальной кривой, вероятно, обусловлен участием катионов в реакциях зарождения цепей



Второй участок соответствует разветвлению цепей, вероятно, без участия катионов меди по реакциям (3.1) и (3.2). Катионы меди (II), вероятно, участвуют в распаде гидропероксидов по реакции



которая не дает разветвления. Эффективность катализатора, вероятно, обусловлена сокращением первой стадии и периода накопления критических концентраций гидропероксидов.

Сравнение скоростей инициированного и каталитического окисления эфиров ненасыщенных жирных кислот показало, что скорость окисления водно-липидных субстратов в 1000–10000 раз выше, чем скорость окисления липидов в гомогенной среде (табл. 1; 4).

Далее для выбора критериев оценки эффективности ингибиторов с помощью водно-липидной модели исследован метод внешнего стандарта. С этой целью исследована кинетика окисления этилолеата от концентрации ионола (рис.6). По формулам (1) и (3) рассчитаны скорость инициирования и параметр  $fK_7$  (см. стр. 7). Показано, что параметр  $fK_7$  менялся в зависимости от концентрации ионола и был в 100–1000 раз большим, чем известно из литературы. Полученные результаты говорят о более сложном механизме действия ионола в водно-липидной модели. Поэтому для выбора критериев эффективности биоантиоксидантов применили указанную ранее математическую модель расчета кинетических параметров. Результаты расчета кинетических параметров окисления в присутствии ионола приведены в табл. 4.

Таблица 4

**Кинетические параметры каталитического окисления  
этилолеата в присутствии ионола**

$C_{InH}$ , моль/л	$W_{нач.}$ , моль·л <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup>	$W_{max.}$ , моль·л <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup>	$\alpha_2$ , моль·л <sup>-1</sup> ·с <sup>-2</sup>	$\tau_1$ , мин	$\tau_2$ , мин
контроль	$(7,4 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$	$(1,3 \pm 0,1) \cdot 10^{-4}$	$(2,5 \pm 0,7) \cdot 10^{-8}$	20±2	85±2
$1 \cdot 10^{-5}$	$(7,4 \pm 0,3) \cdot 10^{-5}$	$(1,4 \pm 0,2) \cdot 10^{-4}$	$(2,2 \pm 0,6) \cdot 10^{-8}$	40±1	85±2
$2 \cdot 10^{-5}$	$(4,9 \pm 0,4) \cdot 10^{-5}$	$(8,6 \pm 0,3) \cdot 10^{-5}$	$(5,7 \pm 0,8) \cdot 10^{-9}$	–	120±2
$3 \cdot 10^{-5}$	$(1,8 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$	$(6,5 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$	$(6,4 \pm 0,7) \cdot 10^{-9}$	–	160±3
$5 \cdot 10^{-5}$	$(2,4 \pm 0,4) \cdot 10^{-5}$	$(9,5 \pm 0,3) \cdot 10^{-5}$	$(6,2 \pm 0,6) \cdot 10^{-9}$	–	175±2
$1 \cdot 10^{-4}$	$(1,8 \pm 0,3) \cdot 10^{-5}$	$(8,8 \pm 0,3) \cdot 10^{-5}$	$(6,2 \pm 0,7) \cdot 10^{-9}$	–	210±2
$5 \cdot 10^{-4}$	$(1,4 \pm 0,4) \cdot 10^{-5}$	$(8,1 \pm 0,1) \cdot 10^{-5}$	$(6,2 \pm 0,7) \cdot 10^{-9}$	180±2	350±3

При концентрации ионола  $1 \cdot 10^{-5}$  моль/л наблюдается совпадение кинетических параметров с кинетическими параметрами контрольной пробы и аппроксимируют по трем участкам, что позволяет предположить быстрое окисление ионола без последующего влияния продуктов его окисления или продуктов восстановления  $Cu^{2+}$  на кинетику процесса. Это позволяет оценить минимальную критическую концентрацию ингибитора, ниже которой окисление протекает по простому механизму и ингибитор участвует только в реакциях обрыва цепей. При увеличении концентрации ионола кинетические кривые аппроксимируют по двум участкам: первый параболой, второй-прямой, что свидетельствует об изменении механизма процесса: наблюдается уменьшение начальной и максимальной скоростей за счет превращения части катализатора в менее активную  $Cu^{1+}$ . Постоянство ускорения свидетельствует об эффективном обрыве цепей на молекулах ионола. После выхода из периода ускорения процесс развивается со скоростями пропорциональными концентрации невосстановленного катализатора. При концентрации ионола  $5 \cdot 10^{-4}$  моль/л кинетическую кривую аппроксимируют также тремя функциями. Наблюдается уменьшение всех кинетических параметров относительно контрольной пробы, что позволяет оценить максимальную критическую концентрацию ингибитора, при которой ингибитор проявляет высокие антиоксидантные свойства.

График зависимости периода индукции от концентрации носит экстремальный характер, что также свидетельствует о более сложном механизме действия ионола в водно-липидной модели.

Далее в водно-липидной кинетической модели исследовано влияние  $\alpha$ -токоферола в интервале концентраций на кинетику и механизм каталитического окисления метиллинолеата (табл. 5). В присутствии всех исследованных концентраций  $\alpha$ -токоферола наблюдается отсутствие периода торможения ( $\tau_1$ ).

Таблица 5

**Кинетические параметры каталитического окисления  
метиллинолеата в присутствии  $\alpha$ -токоферола**

$C_{InH}$ , моль/л	$W_{нач.}$ , моль·л <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup>	$W_{max.}$ , моль·л <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup>	$a_2$ , моль·л <sup>-1</sup> ·с <sup>-2</sup>	$\tau_2$ мин
контроль	$(1,8 \pm 0,2) \cdot 10^{-4}$	$(2,5 \pm 0,3) \cdot 10^{-4}$	$(2,8 \pm 0,5) \cdot 10^{-8}$	30 $\pm$ 2
$1 \cdot 10^{-8}$	$(1,5 \pm 0,3) \cdot 10^{-4}$	$(2,3 \pm 0,4) \cdot 10^{-4}$	$(2,3 \pm 0,6) \cdot 10^{-8}$	30 $\pm$ 3
$1 \cdot 10^{-7}$	$(1,3 \pm 0,2) \cdot 10^{-4}$	$(2,0 \pm 0,3) \cdot 10^{-4}$	$(2,7 \pm 0,4) \cdot 10^{-8}$	35 $\pm$ 2
$1 \cdot 10^{-6}$	$(1,1 \pm 0,2) \cdot 10^{-4}$	$(1,7 \pm 0,4) \cdot 10^{-4}$	$(3,9 \pm 0,5) \cdot 10^{-8}$	40 $\pm$ 5
$1 \cdot 10^{-5}$	$(1,0 \pm 0,3) \cdot 10^{-4}$	$(1,6 \pm 0,2) \cdot 10^{-4}$	$(2,0 \pm 0,4) \cdot 10^{-8}$	60 $\pm$ 2
$1 \cdot 10^{-4}$	$(0,9 \pm 0,3) \cdot 10^{-4}$	$(1,4 \pm 0,3) \cdot 10^{-4}$	$(1,6 \pm 0,6) \cdot 10^{-8}$	65 $\pm$ 2
$1 \cdot 10^{-3}$	$(1,5 \pm 0,1) \cdot 10^{-4}$	$(2,5 \pm 0,3) \cdot 10^{-4}$	$(8,1 \pm 0,5) \cdot 10^{-8}$	30 $\pm$ 3
$1 \cdot 10^{-2}$	$(1,6 \pm 0,3) \cdot 10^{-4}$	$(3,1 \pm 0,4) \cdot 10^{-4}$	$(1,1 \pm 0,6) \cdot 10^{-7}$	30 $\pm$ 4
$1 \cdot 10^{-1}$	$(1,7 \pm 0,2) \cdot 10^{-4}$	$(7,1 \pm 0,3) \cdot 10^{-4}$	$(3,3 \pm 0,4) \cdot 10^{-7}$	30 $\pm$ 3

Более низкую критическую концентрацию ( $1 \cdot 10^{-7}$  моль/л)  $\alpha$ -токоферола по сравнению с критической концентрацией ионола можно объяснить низкой его окисляемостью. Слабое снижение максимальной скорости с увеличением концентрации  $\alpha$ -токоферола свидетельствует о его более медленном окислении в присутствии катионов меди  $Cu^{2+}$ , слабом восстановлении последней и меньшим влиянием на скорость инициирования.

Повышение максимальной скорости по отношению к контролю в присутствии  $1 \cdot 10^{-3}$ ,  $1 \cdot 10^{-2}$ ,  $1 \cdot 10^{-1}$  моль/л биоантиоксиданта свидетельствует об участии  $\alpha$ -токоферола в реакциях продолжения цепей. Величина ускорения возрастает с увеличением концентрации  $\alpha$ -токоферола, что свидетельствует об участии биоантиоксиданта в реакциях разветвления цепей.

Таким образом предложенная кинетическая модель позволяет характеризовать  $\alpha$ -токоферол как слабый ингибитор и тестировать биоантиоксиданты, сравнивая с кинетическими параметрами ионола.

**4. Результаты тестирования водорастворимых биоантиоксидантов в зависимости от структуры, их обсуждение.** В условиях водно-липидной кинетической модели исследовано и оценено влияние различных концентраций капотена (рис. 8) на кинетику и механизм каталитического окисления метиллинолеата (табл. 6). Из таблицы видно, что добавка капотена  $1 \cdot 10^{-5}$  моль/л является критической и не влияет на кинетику окисления метиллинолеата, добавки от  $1 \cdot 10^{-4}$  до  $1 \cdot 10^{-1}$  моль/л вызывают эффективное торможение, линейно возрастающее с увеличением концентрации. Максимальная скорость практически постоянна, период выхода на стационарный режим увеличивается с увеличением концентрации.

Таблица 6

**Кинетические параметры каталитического окисления  
метиллинолеата в присутствии капотена**

$C_{InH_2}$ моль/л	$W_{нач.}$ моль·л <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup>	$W_{max.}$ моль·л <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup>	$a_2$ моль·л <sup>-1</sup> ·с <sup>-2</sup>	$\tau_1$ мин	$\tau_2$ мин
контроль	$(1,8 \pm 0,2) \cdot 10^{-4}$	$(2,5 \pm 0,3) \cdot 10^{-4}$	$(2,8 \pm 0,5) \cdot 10^{-8}$	–	30±2
$1 \cdot 10^{-6}$	$(8,9 \pm 0,3) \cdot 10^{-5}$	$(2,3 \pm 0,3) \cdot 10^{-4}$	$(2,2 \pm 0,6) \cdot 10^{-8}$	–	35±3
$1 \cdot 10^{-5}$	$(8,8 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$	$(2,4 \pm 0,2) \cdot 10^{-4}$	$(2,1 \pm 0,6) \cdot 10^{-8}$	–	40±5
$1 \cdot 10^{-4}$	$(5,2 \pm 0,3) \cdot 10^{-5}$	$(2,6 \pm 0,3) \cdot 10^{-4}$	$(6,7 \pm 0,7) \cdot 10^{-8}$	30±2	50±4
$1 \cdot 10^{-3}$	$(4,0 \pm 0,4) \cdot 10^{-5}$	$(2,5 \pm 0,2) \cdot 10^{-4}$	$(6,6 \pm 0,7) \cdot 10^{-8}$	40±5	55±2
$1 \cdot 10^{-2}$	$(8,6 \pm 0,3) \cdot 10^{-6}$	$(2,2 \pm 0,3) \cdot 10^{-4}$	$(3,3 \pm 0,8) \cdot 10^{-8}$	50±2	130±3
$1 \cdot 10^{-1}$	$(6,2 \pm 0,1) \cdot 10^{-7}$	$(1,1 \pm 0,4) \cdot 10^{-4}$	$(1,3 \pm 0,7) \cdot 10^{-8}$	260±3	390±2

Полученные результаты свидетельствуют о высокой антиоксидантной активности капотена в условиях водно-липидной модели.

Для оценки лекарственных препаратов, производных фенолов в выбранной кинетической модели исследована эффективность фенола. В табл. 7 приведены кинетические параметры окисления этилолеата в присутствии фенола.

Таблица 7

**Кинетические параметры каталитического окисления  
этилолеата в присутствии фенола**

$C_{InH_2}$ моль/л	$W_{нач.}$ моль·л <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup>	$W_{max.}$ моль·л <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup>	$a_2$ моль·л <sup>-1</sup> ·с <sup>-2</sup>	$\tau_1$ мин	$\tau_2$ мин
контроль	$(7,4 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$	$(1,3 \pm 0,1) \cdot 10^{-4}$	$(2,5 \pm 0,7) \cdot 10^{-8}$	20±2	85±2
$2 \cdot 10^{-4}$	$(7,4 \pm 0,3) \cdot 10^{-5}$	$(1,2 \pm 0,2) \cdot 10^{-4}$	$(2,2 \pm 0,6) \cdot 10^{-8}$	20±2	90±3
$5 \cdot 10^{-4}$	$(2,8 \pm 0,1) \cdot 10^{-5}$	$(6,8 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$	$(4,1 \pm 0,5) \cdot 10^{-9}$	30±3	120±2
$1 \cdot 10^{-3}$	$(2,7 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$	$(5,5 \pm 0,3) \cdot 10^{-5}$	$(4,4 \pm 0,5) \cdot 10^{-9}$	50±2	150±3
$5 \cdot 10^{-3}$	$(2,6 \pm 0,3) \cdot 10^{-5}$	$(4,4 \pm 0,3) \cdot 10^{-5}$	$(4,1 \pm 0,6) \cdot 10^{-9}$	80±2	180±2
$1 \cdot 10^{-2}$	$(1,6 \pm 0,4) \cdot 10^{-5}$	$(3,6 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$	$(5,2 \pm 0,8) \cdot 10^{-9}$	120±2	210±2

Показано, что минимальная критическая концентрация фенола в 10–20 раз выше, чем у ионола. Что свидетельствует о быстром расходовании катализатора под влиянием фенола. При соотношении катализатора и фенола 10 : 1 наблюдается снижение максимальной скорости, что, вероятно, связано с быстрым его окислением, и далее процесс окисления развивается без участия ингибитора. Это подтверждается совпадением кинетических параметров (табл. 7) и функций. При всех других исследованных концентрациях фенола наблюдается снижение начальной и максимальной скоростей за счет превращения катализатора в менее активную  $Cu^{1+}$ . Постоянство ускорения свидетельствует об эффективности обрыва цепей на

молекулах фенола. Представленные результаты позволили выявить дополнительные возможности разработанной кинетической модели для оценки механизма действия фенолов с более низкой антиоксидантной активностью, чем ионол.

Далее модель использована для оценки антиоксидантной активности лекарственного препарата осалмида (2-гидрокси-1-(N-4'-гидрокси-фенил)бензкарбамида), применяемого как желчегонное средство.

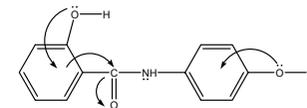
При всех исследованных концентрациях осалмида наблюдается уменьшение начальной и максимальной скоростей процесса пропорционально концентрации осалмида, причем продукты окисления не участвуют в реакции обрыва цепей. Наблюдается пропорциональное увеличение эффективности периода ускорения с увеличением концентрации осалмида. Сравнение кинетических параметров показало, что осалмид проявляет более высокую антиоксидантную активность, чем ионол в соответствующих концентрациях. Это, вероятно, связано с меньшей окисляемостью осалмида.

Таблица 8

**Кинетические параметры окисления этилолеата  
в присутствии осалмида**

$C_{InH_2}$ моль/л	$W_{нач.}$ моль·л <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup>	$W_{max.}$ моль·л <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup>	$a_2$ моль·л <sup>-1</sup> ·с <sup>-2</sup>	$\tau_1$ мин	$\tau_2$ мин
контроль	$(7,4 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$	$(1,3 \pm 0,1) \cdot 10^{-4}$	$(2,5 \pm 0,7) \cdot 10^{-8}$	20±2	85±2
$1 \cdot 10^{-4}$	$(3,2 \pm 0,3) \cdot 10^{-5}$	$(4,1 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$	$(2,2 \pm 0,7) \cdot 10^{-9}$	—	90±3
$5 \cdot 10^{-4}$	$(1,2 \pm 0,3) \cdot 10^{-5}$	$(3,7 \pm 0,3) \cdot 10^{-5}$	$(4,2 \pm 0,8) \cdot 10^{-9}$	60±2	120±2
$1 \cdot 10^{-3}$	$(5,9 \pm 0,1) \cdot 10^{-6}$	$(1,1 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$	$(3,5 \pm 0,6) \cdot 10^{-9}$	100±3	210±2

Высокая эффективность торможения осалмида может быть связана с дезактивацией катализатора путем хелатообразования и влиянием заместителя в *para*-положении, который имеет акцепторный характер:



В выбранных условиях исследовано влияние ряда водорастворимых лекарственных препаратов различного фармакологического действия на кинетику и механизм окисления этилолеата: парацетамол, эмоксипин, метилдофа, адреналин, пирокатехин. В результате математической обработки получен ряд увеличения антиоксидантной активности производных фенола: парацетамол < эмоксипин < осалмид и производных пирокатехина:

метилдофа < адреналин < пирокатехин. Общим эффектом аминов является снижение максимальной скорости процесса пропорционально увеличению концентрации. Различие же состоит в том, что в присутствии одних аминов наблюдаются периоды полного торможения и аутоускорения, а в присутствии других – окисление протекает без периодов индукции и аутоускорения. К аминам первой группы относятся адреналин, метилдофа, эмоксипин, к аминам второй группы можно отнести парацетамол.

Эффект аминов первой группы обусловлен их окислением гидропероксидами по молекулярному механизму:  $ROOH + InH \xrightarrow{K_{12}} M_6$ . При этом из системы выводятся гидропероксиды, что приводит к уменьшению максимальной скорости процесса. Отсутствие периодов торможения свидетельствует о том, что ингибитор и продукты его окисления не способны обрывать цепи. Полученные результаты свидетельствуют о том, что активность фенольного гидроксила полностью подавлена, возможно, за счет акцепторного характера заместителей у аминогруппы.

Проявление антиоксидантной активности адреналина, вероятно связано с тем, что аминогруппа жирного характера не окисляется гидропероксидами по молекулярному механизму. Снижение максимальной скорости практически пропорционально концентрации ингибитора свидетельствует об участии продуктов их окисления в реакциях обрыва цепей. Очевидно, что окислению по молекулярному механизму подвергаются ароматические амины.

Изменение антиоксидантной активности эмоксипина по отношению к фенолу, вероятно, обусловлено конкуренцией реакций. При избытке катализатора по отношению к ингибитору активность эмоксипина сравнима с активностью фенола, при избытке эмоксипина по отношению к катализатору активность становится ниже, что, вероятно, обусловлено реакцией окисления амина гидропероксидами по молекулярному механизму, но не реакцией обрыва цепей на фенольном гидроксиле.

Исследована эффективность пирокатехина. Показано, что характер кинетических кривых отличается от характера кинетической кривой контрольной пробы и всех ранее описанных фенолов. При соотношении катализатора и ингибитора 1 : 1 наблюдается большой период торможения, что, вероятно, связано с тем, что некоординированный пирокатехин действует как типичный сильный ингибитор. При более высоких концентрациях катализатора по отношению к ингибитору 20 : 1 наблюдается снижение концентрации пирокатехина как ингибитора за счет образования комплекса с

катионами меди, которые оказываются более сильным катализатором, чем  $Cu^{2+}$ . При всех исследованных концентрациях пирокатехина процесс окисления выходит на скорость, соответствующую процессу, катализированному комплексом ингибитора и катионов меди.

Таким образом, предложенная модель позволяет оценить процесс комплексообразования ингибитора и механизм их действия.

## ВЫВОДЫ

1. Предложена кинетическая модель тестирования водонерастворимых биоантиоксидантов путем исследования кинетики инициированного окисления растворов эфиров ненасыщенных жирных кислот в хлорбензоле при  $60,0 \pm 0,2^\circ C$  в зависимости от концентрации и природы биоантиоксиданта.

Пробу эфира (этилолеата, метиллинолеата) в хлорбензоле в соотношении 1 : 1 (по объему) и добавкой инициатора 2, 2'-азобисизобутиро-нитрила 1–4 мг/мл насыщают кислородом. Окисление проводят в термостатированной ячейке манометрической установки при  $60,0 \pm 0,2^\circ C$ . Волюмометрически при непрерывном перемешивании определяют поглощение кислорода во времени в контрольной пробе и пробах с добавками биоантиоксиданта;

2. Предложены критерии оценки эффективности и механизма действия биоантиоксидантов методом внешнего стандарта и с помощью математической модели. В качестве внешнего стандарта предложен ионол. В качестве критериев: минимальная и максимальная критические концентрации биоантиоксиданта; начальная и максимальная скорости процесса; периоды полного торможения и окончания ускорения; ускорение процесса;

3. По результатам исследования мицеллообразования двух- и трехкомпонентных систем и каталитической активности солей ряда *d*-элементов IV периода ( $Cu^{2+}$ ;  $Ni^{2+}$ ;  $Co^{2+}$ ;  $Fe^{2+}$ ;  $Fe^{3+}$ ) разработана кинетическая водно-липидная модель тестирования водорастворимых биоантиоксидантов. Пробу эфира (этилолеата или метиллинолеата) и воды в соотношении 1 : 4 (по объему), добавками хлорида меди и цетилтриметиламмония бромида с конечными концентрациями  $(1-5) \cdot 10^{-3}$  моль/л насыщают кислородом. Окисление проводят в термостатированной ячейке манометрической установки при  $60,0 \pm 0,2^\circ C$ . Волюмометрически при непрерывном перемешивании определяют поглощение кислорода во времени в контрольной пробе и пробах с добавками биоантиоксиданта;

4. По результатам сравнения двух кинетических моделей выявлены различия эффективности ингибиторов в водно-липидной и безводных средах. Показано, что наиболее важный биоантиоксидант  $\alpha$ -токо-ферол эффективен в безводной среде и низко эффективен в водно-ли-пидной;

5. Выявлены особенности механизма действия фенолов и аминов при каталитическом окислении водно-липидных субстратов. Показано, что фенолы с меньшей антирадикальной активностью, чем у ионола быстро окисляются под действием катализатора;

6. С использованием водно-липидной кинетической модели впервые протестированы антиоксидантные свойства восьми водорастворимых лекарственных препаратов в зависимости от строения;

7. Показана высокая антиоксидантная активность капотена, осалмида и адреналина в водно-липидной среде, что может служить основанием для расширения области их фармакологической активности.

#### **Основное содержание изложено в следующих работах:**

1. Журавлева Л.А. Исследование эффективности кинетической модели тестирования водорастворимых антиоксидантов / Л.А. Журавлева, В.В. Крайник, В.Н. Ушкалова // Вестник ТюмГУ. – Тюмень: изд-во ТюмГУ. – 2006. – № 3. – С. 52–58.

2. Журавлева Л.А. Разработка метода тестирования средств антиоксидантотерапии / Л.А. Журавлева, В.В. Крайник, В.Н. Ушкалова // Вопросы современной науки и практики. Университет им. В.И. Вернадского. – Тамбов: изд-во ТГТУ. – 2006. – № 2 (4). – С. 144–154.

3. Ушкалова В.Н. Химическое моделирование свободнорадикального процесса окисления липидов биомембран / В.Н. Ушкалова, Н.В. Ионидис, Л.А. Журавлева // Медико-биологические и экологические проблемы здоровья человека на Севере: Мат-лы Всерос. науч.- практ. конф. г. Сургут 21–23 апреля 2000. – Сургут, изд-во СурГУ, 2000. – Ч. 1. – С. 246–248.

4. Журавлева Л.А. Водно-эмульсионные системы, как модели для изучения процессов окисления липидов биомембран // Научная молодежь – XXI веку: Мат-лы науч-практ. конф. г. Сургут 21.04.2001. – Сургут, изд-во СурГУ, 2001. – С. 46–47.

5. Журавлева Л.А. Структура мицелл в модельных реакциях липидов // Наука и инновации ХМАО: Мат-лы III окр. конф. г. Сургут 29–30 ноября 2002. – Сургут, изд-во СурГУ, 2002. – С. 4–7.

6. Журавлева Л.А. Мицеллярный катализ в химии липидов / Л.А. Журавлева, И.Р. Мингазова, Д.А. Аждугов, И.В. Иванова // Наука и инновации XXI века: Мат-лы откр. окр. конф. г. Сургут 27–28 ноября 2003. – Сургут, изд-во СурГУ, 2003. – Т. 1. – С. 202–204.

7. Журавлева Л.А. Исследование кинетики ингибированного окисления липидных субстратов математическим методом // Экологические проблемы и здоровье населения на Севере: Мат-лы окр. науч.-практ. конф. г. Сургут 4 июня 2004. – Сургут, изд-во СурГУ, 2004. – С. 5–7.

8. Журавлева Л.А. Исследование антиоксидантной активности лекарственных препаратов // Медико-биологические и экологические проблемы здоровья человека на Севере: Мат-лы Межд. науч. конф. г. Сургут 11–13 ноября 2004. – Сургут, изд-во СурГУ, 2004. – С. 337–339.

9. Журавлева Л.А. Исследование кинетических моделей тестирования биоантиоксидантов математическим методом // Наука и инновации XXI века: Мат-лы V откр. окружн. конф. г. Сургут 25–26 ноября 2004. – Сургут, изд-во СурГУ, 2005. – С. 110–111.

10. Журавлева Л.А. Компьютерное исследование кинетических моделей тестирования антиоксидантной активности лекарственных препаратов / Л.А. Журавлева, Е.В. Коростелева, О.А. Разуваева // Наука и инновации XXI века: Мат-лы V откр. окр. конф. г. Сургут 25–26 ноября 2004. – Сургут, изд-во СурГУ, 2005. – С. 112–113.

11. Журавлева Л.А. Кинетический анализ эффективности метода тестирования антиоксидантов // Менделеевские чтения: Мат-лы Всерос. конф. г. Тюмень 26–28 мая 2005. – Тюмень, изд-во ТГУ, 2005. – С. 150–153.

12. Журавлева Л.А. Кинетические эффекты  $\alpha$ -токоферола в свободнорадикальном окислении липидных субстратов // Наука и инновации XXI века: Мат-лы VI откр. окр. конф. г. Сургут 24–25 ноября 2005. – Сургут, изд-во СурГУ, 2006. – С. 189–192.

13. Журавлева Л.А. Методические подходы к оценке кинетических эффектов окисления липидных субстратов в присутствии координационных соединений / В.В. Крайник, Л.А. Журавлева // Наука и инновации XXI века: Мат-лы VI откр. окружн. конф. г. Сургут 24–25 ноября 2005. – Сургут, изд-во СурГУ, 2006. – С. 192–193.

Приняты в печать и заявлены:

Журавлева Л.А., Ушкалова В.Н. Кинетический способ тестирования антиоксидантов / Заявка на патент принята 24.05.2005; входящий № 017934; регистрационный № 2005115666.

Журавлева Л.А. Эффективность липидной кинетической модели тестирования биоантиоксидантов / Л.А. Журавлева, В.Н. Ушкалова // Кинетика и катализ. – 2006 (0,4 п.л.).

Ушкалова В.Н. Исследование антиоксидантных свойств капотена кинетическим методом / В.Н. Ушкалова, Л.А. Журавлева // Хим.-фарм. журнал. – 2006. – (0,5 п.л.).