

УДК 547-31/-39+542.978+542.87+547.56+547.599.2

РЕДОКС-СВОЙСТВА И АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ТЕРПЕНОФЕНОЛОВ

М. А. Половинкина¹, М. Н. Коляда², В. П. Осипова^{2,*}, Н. Т. Берберова¹,
И. Ю. Чукичева³, О. А. Шумова³, член-корреспондент РАН А. В. Кучин³

Поступило 07.02.2018 г.

Проведено изучение редокс-свойств и антирадикальной активности терпенофенолов (2,6-диизоборнил-4-метилфенол, 3-изокамфил-2-нафтол) в сравнении с ионолом (2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенол). Показано, что терпенофенолы по сравнению с ионолом легче вступают в процессы, сопряжённые с переносом электрона, установлено их взаимодействие с электрохимически генерированным супероксид анион-радикалом ($O_2^{\cdot-}$). Исследовано влияние соединений на скорость генерации $O_2^{\cdot-}$ при окислении адреналина в щелочной среде и способность биопрепаратов на основе гомогенатов печени и гонад русского осетра утилизировать $O_2^{\cdot-}$. Показано ингибирование окисления адреналина и увеличение супероксиддисмутазной активности биопрепаратов в присутствии терпенофенолов, что может свидетельствовать о способности данных соединений снижать вероятность развития окислительного стресса. Установлена корреляция между редокс-свойствами и антиоксидантной активностью терпенофенолов в модельной системе окисления адреналина в присутствии биопрепаратов.

Ключевые слова: терпенофенолы, ионол, супероксид анион-радикал, циклическая вольтамперометрия, супероксиддисмутаза, печень и гонады русского осетра.

DOI: <https://doi.org/10.31857/S0869-56524845568-571>

В последнее время наметилась тенденция замещения синтетических антиоксидантов (АО) на менее токсичные продукты природного происхождения [1], сырьё для производства которых относится к возобновляемым ресурсам [2].

Перспективными полусинтетическими АО являются терпенофенолы и терпенонафтолы, получаемые с использованием терпеноидов, в частности камфена или пиненов — продуктов лесоперерабатывающей промышленности [3]. Антирадикальная и антиоксидантная активность отдельных терпенофенолов показана в химических модельных системах [4], в опытах на животных [5]. Достаточно хорошо изученным соединением является 2,6-диизоборнил-4-метилфенол **1** (Диборнол[®]), обладающий антиоксидантным, антигипоксическим, антитромбогенным, гемореологическим, нейропротекторным действием [6, 7]. Биологическая активность фенола **1** сочетается

с низкой токсичностью, что обуславливает актуальность его дальнейшего исследования.

Антиоксидантное действие соединений во многом определено их антирадикальной активностью в отношении активных форм кислорода (АФК). Исходной АФК в живом организме является супероксид анион-радикал (надпероксид-анион $O_2^{\cdot-}$), играющий важную роль в инициации различных жизненно важных или патологических процессов.

Целью данной работы является сравнительное изучение реакций 2,6-диизоборнил-4-метилфенола **1**, 3-изокамфил-2-нафтола **2** и 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенола **3** (ионол, ВНТ) (рис. 1) с электрогенерированным супероксид анион-радикалом, их влияния на скорость генерации $O_2^{\cdot-}$ при окислении адреналина в щелочной среде, на способность гомогенатов печени и гонад русского осетра утилизировать данную АФК.

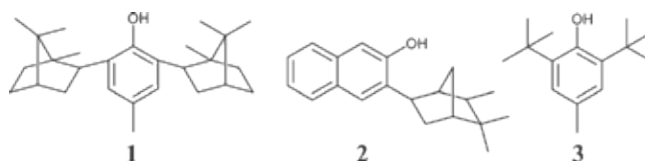


Рис. 1. Структурные формулы соединений: **1** — 2,6-диизоборнил-4-метилфенол; **2** — 3-изокамфил-2-нафтол; **3** — 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенол.

¹ Астраханский государственный технический университет

² Южный научный центр Российской академии наук, Ростов-на-Дону

³ Институт химии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Сыктывкар

*E-mail: osipova_yp@mail.ru

Известно, что редокс-свойства соединений зачастую коррелируют с их антиоксидантной активностью, поэтому использование методов электрохимии позволяет получить важную информацию о восстановительной способности антиоксидантов [8]. С целью прогнозирования антиокислительной способности соединений **1–3** были исследованы их электрохимические параметры методом циклической вольтамперометрии (ЦВА) (CH_3CN , Pt; $0,1 \text{ M } n\text{Bu}_4\text{NClO}_4$, $C = 5 \text{ mM}$, Ag/AgCl, $V = 0,2 \text{ V} \cdot \text{c}^{-1}$).

Установлено, что фенол **1** и нафтол **2**, окисляясь при потенциалах 1,23 и 1,13 В соответственно, легче вступают в процессы, сопряжённые с переносом электрона по сравнению с ионолом **3**, который окисляется при потенциале 1,52 В. Соединение **1** окисляется необратимо в одну двухэлектронную стадию с образованием ароксильного катиона, локализованного на атоме кислорода, что согласуется с ранее полученными данными [9]. Соединение **2** также окисляется необратимо в одну одноэлектронную стадию до катион-радикала, фрагментирующегося с выбросом протона до радикала.

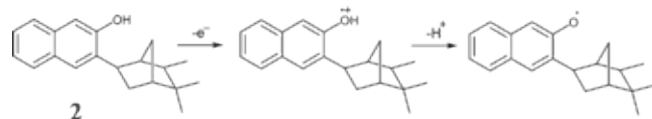


Схема 1

Исходя из полученных электрохимических данных и учитывая, что антиоксидантное действие большинства биологически активных соединений связано с их способностью легко окисляться [10], можно ожидать более выраженную антиоксидантную активность соединения **2**. Но нужно учитывать, что наличие в соединении **1** двух весьма объёмных заместителей, с одной стороны, увеличивает стерические препятствия в реакциях с участием атома *H* гидроксильной группы, с другой — повышает стабильность образующегося ароксильного радикала.

Взаимодействие супероксид анион-радикала с антиоксидантами является одним из путей его нейтрализации [11]. Поскольку $\text{O}_2^{\cdot-}$ образуется в результате одноэлектронного восстановления кислорода, для оценки эффективности действия АО можно использовать электрохимические методы, которые характеризуются высокой чувствительностью, точностью, экспрессностью анализа, отсутствием побочных продуктов [12].

Посредством электровосстановления кислорода на Pt-электроде в ацетонитриле генерировался $\text{O}_2^{\cdot-}$. Показано, что взаимодействие соединений

1–3 с $\text{O}_2^{\cdot-}$ сопровождается исчезновением обратимости стадии восстановления кислорода и появлением на ЦВА нового анодного пика при потенциале +0,2 В, что предположительно связано с образованием фенолят-аниона в следующей реакции.

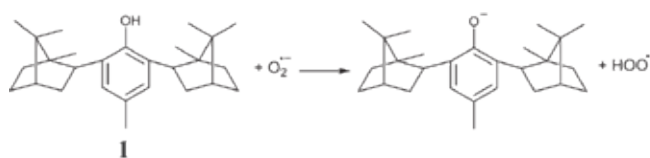


Схема 2

Антирадикальная активность соединений **1–3** в отношении $\text{O}_2^{\cdot-}$ была исследована с использованием супероксидгенерирующей реакции автоокисления адреналина в щелочной среде (pH 10,65) с регистрацией образования адренохрома при длине волны 347 нм [13]. Такая модельная система позволяет оценить влияние соединений на супероксиддисмутазную активность биопрепаратов, т.е. способность ингибировать генерацию $\text{O}_2^{\cdot-}$. Как известно, в цитоплазме клеток эукариотов содержится только один из ферментов, утилизирующих $\text{O}_2^{\cdot-}$ — супероксиддисмутаза СОД (Cu-ZnСОД), активность которого практически не зависит от pH. Другой фермент, утилизирующий $\text{O}_2^{\cdot-}$, — супероксидредуктаза, ускоряющий реакцию одноэлектронного восстановления $\text{O}_2^{\cdot-}$, обнаружен только у прокариотов и одноклеточных эукариотов [14].

Показано, что добавка ионола **3** в среду инкубации практически не оказывает влияния на кинетику накопления продуктов автоокисления адреналина, исследуемые терпенсодержащие АО **1** и **2** ингибируют окисление адреналина (рис. 2). Добавка в среду измерения супернатанта гомогенатов печени и гонад самцов осетровых приводит к ингибированию окисления адреналина, что свидетельствует об утилизации $\text{O}_2^{\cdot-}$ цитозольной СОД.

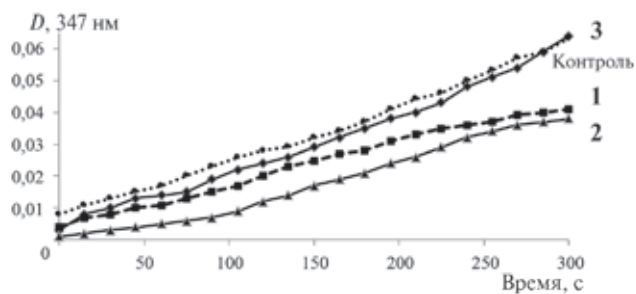


Рис. 2. Кинетические кривые накопления адренохрома при аутоокислении адреналина в бикарбонатном буфере (pH 10,65) при 25°C. Представлены средние значения, полученные в независимых опытах при 3–5 параллельных измерениях в каждом эксперименте.

В расчёте на 1 мкл биопрепарата снижение скорости окисления адреналина в присутствии супернатанта гомогената печени осетровых почти на порядок превышает данный показатель для гонад. Так, 50%-е снижение скорости окисления адреналина для гомогената печени наблюдается при добавлении в среду измерения биопрепарата в количестве 5 мкл, для гомогената гонад — 50 мкл. Таким образом, супероксиддисмутазная активность гомогената печени русского осетра значительно превышает аналогичную активность гомогената гонад, что, вероятно, объясняется низким содержанием в половых клетках осетровых цитоплазмы, которая является источником СОД [15].

Согласно полученным результатам, 2,6-диизоборнил-4-метилфенол **1** на 49 и 53%, а 3-изокамфил-2-нафтол **2** на 39 и 35% повышают соответственно СОД-активность супернатанта гомогената печени и гонад осетровых (рис. 3). Ионол **3** не оказывает влияния на способность биопрепаратов утилизировать O_2^- .

Обнаружено, что антиоксидантные свойства терпенофенолов в модельной системе окисления адреналина в присутствии биопрепаратов коррелировали с электрохимическими данными, согласно которым прогнозировалась большая антиоксидантная активность соединений по сравнению с ионолом.

Таким образом, установлена антирадикальная активность 2,6-диизоборнил-4-метилфенола и 3-изокамфил-2-нафтола в отношении супероксид анион-радикала. Показана способность данных соединений повышать супероксиддисмутазную активность супернатанта печени и гонад русского осетра, что может свидетельствовать о способности данных соединений снижать вероятность развития окислительного стресса.

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 17-03-00434а; в рамках гос. задания, рег. № 0413-2018-0004.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бурлакова Е.Б., Алесенко А.В., Молочкина Е.М., Пальмина Н.П., Храпова Н.Г. Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте. М.: Наука, 1975. 214 с.
2. Li X.L., Zhou A.G. // Chem. Res. 2007. V. 15. P. 471–482.
3. Чукичева И.Ю., Шумова О.А., Супоницкий К.Ю., Кучин А.В. // Изв. РАН. Сер. хим. 2011. № 3. С. 496–500.
4. Мазалецкая Л.И., Шелудченко Н.И., Шишкина Л.Н., Кучин А.В., Чукичева И.Ю. // Нефтехимия. 2011. Т. 28. № 1. С. 78–80.

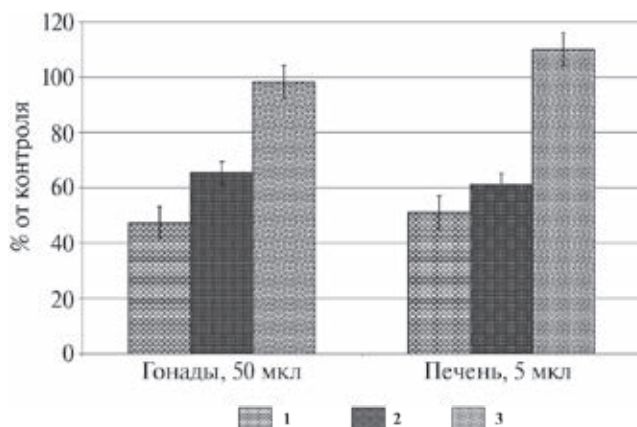


Рис. 3. Влияние соединений **1–3** на уровень накопления продуктов автоокисления адреналина в присутствии гомогената гонад и печени русского осетра ($C = 25$ мкМ, $\lambda = 347$ нм, $C_{\text{адреналина}} = 5,46$ мМ). Уровень накопления продуктов автоокисления адреналина в бикарбонатном буфере в присутствии биопрепарата принята за 100% (контроль).

5. Плотников М.Б., Смольякова В.И., Иванов И. С., Кучин А.В., Чукичева И.Ю., Краснов Е.А. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2008. Т. 145. № 3. С. 296–299.
6. Плотников М.Б., Чернышева Г.А., Смольякова В.И., Иванов И.С., Кучин А.В., Чукичева И.Ю., Краснов Е.А. // Вестн. РАМН. 2009. Т. 11. С. 12–17.
7. Chukicheva I.Yu., Fedorova I.V., Buravlev E.V., Lumpov A.E., Vikharev Yu.B., Anikina L.V., Grishko V.V., Kutchin A.V. // Chem. Nat. Compounds. 2010. V. 46. № 4. P. 478–480.
8. Chevion S., Roberts M.A., Chevion M. // Free Radic. Biol. Med. 2000. V. 28. P. 860–870.
9. Тюрин В.Ю., Изинвей Чжан, Моисеева А. А., Мулаева Е.Р., Белых Д.В., Буравлев Е.В., Рочева Т.К., Чукичева И.Ю., Кучин А.В. // ДАН. 2013. Т. 450. № 5. С. 543–546.
10. Peyrat-Maillard M.N., Bonnely S., Berset C. // Talanta. 2000. V. 51. P. 709–716.
11. Зиятдинова Г.К., Захарова С.П., Будников Г.К. // Уч. зап. Казан. ун-та. 2015. Т. 157. Кн. 2. С. 129–142.
12. Magalhães L.M., Segundo M.A., Reis S., Lima J. L.F.C. // Anal. Chim. Acta. 2008. V. 613. № 1. P. 1–19.
13. Супота Т.В. // Вопр. мед. химии. 1999. Т. 45. № 3. С. 263–272.
14. Sheng Y., Abreu I.A., Cabelli D.E., Maroney M.J., Miller Anne-Frances, Teixeira M., Valentine J.S. // Chem. Rev. 2014. V. 114. P. 3854–3918.
15. Shiva M., Gautam A.K., Verma Y., Shivgotra V., Doshi H., Kumar S. // Clin. Biochem. 2011. V. 44. P. 319–324.

THE REDOX PROPERTIES AND ANTIRADICAL ACTIVITY OF TERPENOPHENOLS

M. A. Polovinkina¹, M. N. Kolyada², V. P. Osipova², N. T. Berberova¹,
I. Yu. Chukicheva³, O. A. Shumova³, Corresponding Member of the RAS A. V. Kutchin³

¹Astrakhan State Technical University, Astrakhan, Russian Federation

²Federal State Budget Institution of Science "Federal Research Center The Southern Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences", Rostov-on-Don, Russian Federation

³Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russian Federation

Received February 7, 2018

The redox properties and antiradical activity of terpenophenols (2,6-diisobornyl-4-methylphenol and 3-isocamphyl-2-naphthol) in comparison with BHT (butylhydroxytoluol, 2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol) have been studied. The terpenophenols have been shown to react more readily in electron transfer processes as compared with BHT, and they have been found to react with electrochemically generated superoxide radical anion ($O_2^{\cdot-}$). The effect of the compounds on the rate of generation upon adrenaline oxidation in an alkaline medium and the ability of biopreparations based on Russian sturgeon liver and gonad homogenates to deactivate have been studied. Adrenaline oxidation inhibition and the increase in superoxide dismutation activity of the biopreparations in the presence of terpenophenols have been shown, and this fact can indicate the ability of these compounds to decrease the probability of oxidative stress enlargement. A correlation has been established between the redox properties and antioxidant activity of terpenophenols in the model system of adrenaline oxidation in the presence of the biopreparations.

Keywords: terpenophenols, butylhydroxytoluol, superoxide radical anion, cyclic voltammetry, superoxide dismutase, Russian sturgeon liver and gonad.