

АНТИОКСИДАНТНІ ВЛАСТИВОСТІ ФЛОРОГЛЮЦИНОЛУ В *REDOX* СИСТЕМІ НА ОСНОВІ АУТООКИСНЕННЯ АДРЕНАЛІНУ

Бессарабов В.І.¹, Кузьміна Г.І.¹, Вахітова Л.М.², Горюшин І.А.¹,
Шинкарьова М.Ю.¹, Баула О.П.¹, Здерко Н.П.¹, Качалова Н.М.²

¹Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, Україна.

²Інститут фізико-органічної хімії та вуглехімії ім. Л.М. Литвиненка НАН України, Київ, Україна.

Вступ. Флороглюцинол (1,3,5-бензетріол) - це бензетріол, який має два ізомери: пірогалол (1,2,3-бензетріол) і гідроксіквінол (1,2,4-бензетріол). Речовина використовується в хімічній промисловості для зв'язування діазобарвників в друкарських фарбах, в аналітичній хімії для виявлення пентоз, лігніну та ін. [1; 2].

Проте найбільш перспективним є використання флороглюцинола в якості активного фармацевтичного інгредієнта (АФІ). Завдяки своїй малотоксичності ($LD_{50} = 5$ г/кг) та нуклеофільним властивостям флороглюцинол є перспективним АФІ. Виявлено, що перорально прийнятий флороглюцинол може бути згодом повернений в кровотік в некон'югованому вигляді [3]. Це свідчить про те, що флороглюцинол здатний проникати крізь мембрани та перерозподілятися між системним кровотоком та тканинами.

Дослідження підтвердили високу біодоступність флороглюцинолу та підкреслили його біотрансформацію в глюкуро- та сульфо-кон'юговані метаболіти [4].

На сьогодні флороглюцинол активно застосовується для лікування різноманітних патологій шлунково-кишкового тракту (ШКТ), внаслідок своєї спазмолітичної активності. Флороглюцинол є блокатором потенціалзалежних кальцієвих каналів в гладком'язових клітинах. В

результаті цього в клітинах зменшується концентрація кальцію, що гальмує взаємодію актину з міозином. При цьому спазмолітичний ефект речовини не обумовлює розвиток гіпотонії гладкої мускулатури [5].

Флороглуцинол зменшує вісцеральну больову чутливість ШКТ, здійснюючи вплив на передачу нервових імпульсів периферичним і центральним нервовим центрам через аферентні нервові волокна [6].

Окрім використання флороглуцинолу для лікування патологій ШКТ, активно вивчається дія сполуки та її похідних на інші системи організму. Показано, що флороглуцинол володіє певними протизапальними та антиоксидантними властивостями. Як відомо, можливість мономерних фенольних сполук виступати в якості антиоксидантів залежить від ступеня гідроксилювання та кон'югації, оскільки гідроксильні групи виступають в якості донорів водню [7]. Флороглуцинол виявляє підвищений ступінь гідроксилювання з ароматичним ядром, оточеним трьома гідроксильними групами. Kang K.A. et al. (2006) описав антиоксидантні властивості флороглуцинолу відносно його внутрішньої стабільності [8].

Однак опублікована інформація про антиоксидантну здатність флороглуцинолу досить незначна. Зважаючи на роль процесів перекисного окиснення білків та ліпідів в етіології та патогенезі основних нейродегенеративних захворювань у людей літнього та старечого віку, дослідження цих плейотропних ефектів флороглуцинолу є актуальними та доцільними.

Ціль дослідження: вивчення антиоксидантних властивостей флороглуцинолу в *redox* системі на основі аутоокиснення адреналіну.

Матеріал та методи дослідження. Дослідження антиоксидантних властивостей флороглуцинолу проводились базуючись на методиці, згідно якій антиоксидантна активність сполуки визначається за її здатністю інгібувати реакцію аутоокиснення адреналіну в лужному середовищі [9]. В якості стандарту порівняння використовувалась аскорбінова кислота.

Оцінка антиоксидантних властивостей хімічних сполук проводилось за накопиченням проміжного продукту окиснення адреналіну, який реєструється спектрофотометрично при довжині хвилі $\lambda=347$ нм. Накопичення цього продукту проходить протягом 3–5 хв від моменту додавання в лужний розчин низьких концентрацій адреналіну (~ 230 мкМ). Для створення лужного середовища використовується 0,2 М р-н карбонатного буферу, рН=10,65. Інтенсивність реакції залежить від значення рН, при більш низьких значеннях реакція аутоокиснення адреналіну значно уповільнюється. Дослідження проводилось при температурі 25 °С.

В якості реагентів використовували: розчин адреналіну гідротартрату 230 мкМ; 0,2 М карбонатний буфер, рН=10,65-10,7; флороглюцинола дигідрат, аскорбінову кислоту (Sigma, США). Кінетичні дослідження проводили на УФ-спектрофотометрі Optizen POP (Mecasys, Південна Корея), облаштованому термостатом (точність термостатування $25,0\pm 0,1$ °С), в кварцевих кюветах з товщиною оптичного шару 1 см при довжині хвилі $\lambda=347$ нм.

Результати. В порівняльному експерименті досліджено швидкість реакції утворення проміжного продукту аутоокиснення адреналіну в умовах відсутності ймовірного антиоксиданту та в присутності в системі флороглюцинолу в концентрації 50, 100 та 200 мкМ. Для оцінки антиоксидантної активності було використано стандарт порівняння – аскорбінову кислоту, яка додавалась в систему в тих же концентраціях.

Кількісне вираження швидкостей реакції здійснювалось через розрахунок константи швидкості першого порядку (K_H^1) за формулою:

$$k_H^1 = \frac{1}{t} \cdot \ln \frac{D_\infty - D_0}{D_\infty - D_t},$$

де t - час реакції;

D_∞ - значення оптичної густини після закінчення реакції;

D_t - значення оптичної густини в певний момент часу;

D_0 - значення оптичної густини на початку реакції.

Залежність величин констант першого порядку від концентрацій флороглюцинолу та аскорбінової кислоти наведено на рисунку.

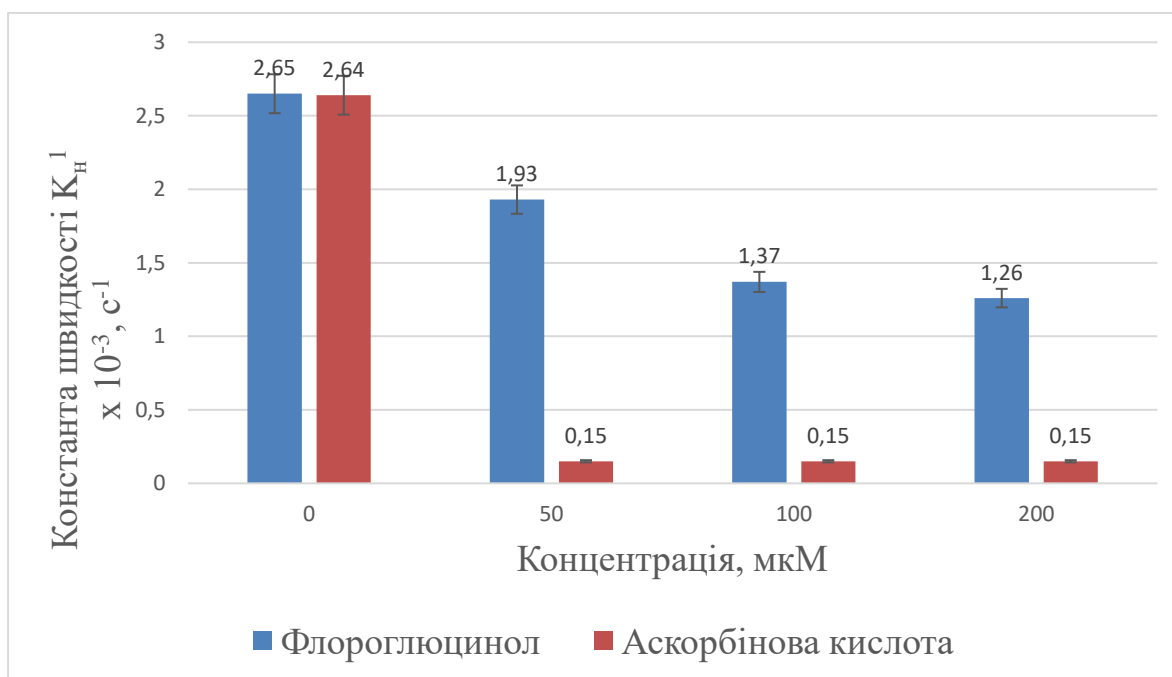


Рисунок. – Залежність величин констант швидкостей першого порядку аутоокиснення адреналіну від концентрації флороглюцинолу та аскорбінової кислоти, мкМ.

Аналіз результатів дослідження дає змогу стверджувати, що додавання флороглюцинолу в *redox* систему з аутоокисненням адреналіну в концентрації 100 мкМ зменшує швидкість реакції вдвічі: $K_H^1_{(0)} = (2,73 \pm 0,23) \times 10^{-3} \text{ с}^{-1}$ та $K_H^1_{(100)} = (1,39 \pm 0,10) \times 10^{-3} \text{ с}^{-1}$ відповідно. При цьому збільшення концентрації флороглюцинолу до 200 мкМ не викликає суттєвих змін в протіканні окисно-відновного процесу: $K_H^1_{(200)} = (1,27 \pm 0,07) \times 10^{-3} \text{ с}^{-1}$. В той же час, додавання аскорбінової кислоти до системи в концентрації 100 мкМ ініціює зменшення швидкості реакції окиснення відносно флороглюцинолу майже в десять раз: $K_H^1_{(AK)} = (0,148 \pm 0,015) \times 10^{-3} \text{ с}^{-1}$ та $K_H^1_{(FG)} = (1,39 \pm 0,10) \times 10^{-3} \text{ с}^{-1}$ відповідно.

Виходячи з отриманих результатів можна вважати, що флороглюцинол

володіє помірними антиоксидантними властивостями в хімічній *redox* системі на основі аутоокиснення адреналіну, які реалізуються через здатність сполуки виступати в якості донора електронів для окисників. Доцільним є проведення подальших досліджень антиоксидантних властивостей флороглюцинолу на біохімічних та біологічних моделях.

Висновки. Флороглюцинол володіє помірними антиоксидантними властивостями в хімічній *redox* системі на основі аутоокиснення адреналіну. Величина антиоксидантного ефекту флороглюцинолу в концентрації 100 мкМ приблизно удесятеро менша ніж відповідна величина ефекту, який демонструє система при додаванні аскорбінової кислоти в тій же концентрації.

Список посилань:

1. Hermida, C. Improvement and validation of d-xylose determination in urine and serum as a new tool for the noninvasive evaluation of lactase activity in humans / C. Hermida, G. Corrales, O.H. Martinez-Costa, J.J. Aragon // Journal of clinical laboratory analysis. - 2014. - №6. - p. 478-486.
2. Sealy-Fisher V.J. Increased pine tannins extraction and wood adhesives development by phlobaphenes minimization / V.J. Sealy-Fisher, A. Pizzi, // HolzalsRoh - und Werkstoff. – 1992. - №5. – p. 212 – 220.
3. Kim, H. Determination of phloroglucinol in human plasma by high-performance liquid chromatography, mass spectrometry / H. Kim, H. Roh, H.J. Lee, S.Y. Chung, S.O. Choi, K.R. Lee, S.B. Han // J. Chrom. B – 2003. - № 792. – p. 307–312.
4. Dollo, G. Biodisponibilité du phloroglucinol chez l’Homme / G. Dollo, F. Chevanne, P. Le Corre, C. Chemtob, R. Le Verge // J. Pharm. Belgique – 1999. – № 54. – p. 75–82.
5. Звягинцева Т.А. Механизмы развития и подходы к лечению дисфункции сфинктера Одди после холецистэктомии / Т.А.

- Звягинцева, С.В. Гриднева // Сучасна гастроентерологія. – 2014. – №3. – С. 122 – 127.
6. Bonaz B. Acute exacerbation of pain in irritable bowel syndrome: efficacy of phloroglucinol/trimethylphloroglucinol. A randomized, double-blind, placebo-controlled study Olivier Chassany / B. Bonaz, S. Bruley Des Varannes, L. Bueno, Guillaume Cargill, Benoit Coffin [and others] // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2007. – № 9. – p. 1115–1123.
7. Hodnick, W.F. Electrochemistry of flavonoids: relationships between redox potentials, inhibition of mitochondrial respiration, and production of oxygen radicals by flavonoids / W.F. Hodnick, E.B. Milosavljevic, J.H. Nelson, R.S. Pardini // Biochem. Pharmacol. – 1988. – № 37. – p. 2607–2611.
8. Kang, K.A. Cytoprotective effect of phloroglucinol on oxidative stress induced cell damage via catalase activation / K.A. Kang, K.H. Lee, S. Chae, R. Zhang, M.S. Jung, Y.M. Ham, J.S. Baik, N.H. Lee, J.W. Hyun // J. Cell. Biochem. – 2006. – № 97. – p. 609–620.
9. Пат. 2144674 Российская Федерация. МПК G 0 1N 33/52, G 01 N 33/68. Способ определения антиоксидантной активности супероксиддисмутазы и химических соединений / Т.В. Сирота; Заявитель и патентообладатель Сирота Татьяна Валерияновна. – № 99103192/14; заявл. 24.02.1999; опубл. 20.01.2000.