

© Коллектив авторов, 2004.  
УДК 615.356:577.16

## М.Н. Макарова, А.И Селезнева., В.Г. Макаров, И.Г Зенкевич ИЗУЧЕНИЕ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ВИТАМИНОВ

Межрегиональный Центр "Адаптоген"  
Санкт-Петербург, Россия

**Аннотация.** В работе установлена антирадикальная активность витаминов по отношению к гидроксильному радикалу. Наибольшая антирадикальная активность установлена для флавоноидов кверцетина, рутина, дайдзеина, биоханина А, лютеолин-7-глюкозида. Среди витаминов группы В наибольшую антирадикальную активность проявили витамины В<sub>12</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>5</sub>, В<sub>с</sub>. В группе жирорастворимых витаминов аскорбил пальмитат, витамин К<sub>1</sub>, витамин А и β-каротин продемонстрировали активность выше, чем известный антиоксидант витамин Е. Проведенная работа позволяет говорить о том, что антирадикальную активность в отношении гидроксильного радикала проявляет широкий круг витаминов, что возможно является одним из аспектов их терапевтического действия.

**Ключевые слова.** витамины, антиоксиданты, флавоноиды, гидроксильные радикалы.

**Введение:** Среди факторов, ответственных за защиту организма от неблагоприятного воздействия окружающей среды, важное значение имеют витамины, обладающие антиоксидантными свойствами (токоферолы, аскорбиновая кислота, ретинолы, β-каротин).

Вместе с тем появляется все больше сведений об антиоксидантной активности витаминов, которые ранее никогда к антиоксидантам не относились. В работе [5] продемонстрировано наличие антиоксидантных свойств у производных витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub> и В<sub>6</sub>, а также рассмотрены возможные механизмы этой активности. В связи с этим целью нашей работы стало изучение антирадикальной активности (АРА) витаминов по отношению к гидроксильному радикалу.

**Материалы и методы исследования:** АРА ви-

таминов оценивали по их способности «тушить» гидроксильные радикалы. Исследуемые витамины вносились в систему в концентрациях 0,01 - 1,0 мМ. Модельная система эксперимента представляла собой аналогичную описанной ранее [4].

Для сравнения АРА витаминов рассчитывали эффективную концентрацию антиоксиданта (С<sub>1/2</sub>), при которой концентрация гидроксильных радикалов в указанной системе снижается вдвое.

**Результаты и их обсуждение:** Результаты определения антирадикальной активности ряда изученных соединений, представлены в табл. 1.

Как видно из таблицы витамины, антиоксидантные свойства, которых хорошо известны (витамин Е, С, А и β-каротин) проявляют антирадикальную активность, по отношению к гидроксильному радикалу, в диапазоне концентраций 0,76 – 1,13 мМ.

Аскорбиновая кислота в нашем эксперименте продемонстрировала антирадикальную активность близкую к водорастворимому аналогу витамина Е. Способность восстанавливать свободные радикалы и перекиси в неферментных и ферментативных (пероксидазных) реакциях связана с наличием в структуре молекулы аскорбиновой кислоты двух енольных групп [3].

Антиоксидантные свойства ретинола и β-каротина реализуются за счет наличия сопряжения двойных связей в полиеновой боковой цепи. По мере увеличения длины полиеновой цепочки и изменении пространственной ориентации кольцевых групп изменяется и их антиоксидантная активность. В условиях нашего эксперимента, ретинола пальмитат среди известных антиоксидантов, продемонстрировал самую высокую активность. Сравнимую с ним активность продемонстрировал и β-каротин.

Интересно было сравнить антирадикальную активность водо- и жирорастворимых форм витаминов. В частности, токоферола ацетата и

Таблица 1.

Витамины	С <sub>1/2</sub> (мМ)	Витамины	С <sub>1/2</sub> (мМ)
<b>Водорастворимые витамины</b>			
витамин В <sub>12</sub>	0,03 ± 0,004	Апигенин	0,77 ± 0,10
витамин В <sub>2</sub>	0,17 ± 0,02	Дигидрокверцетин	1,11 ± 0,08
кислота пантотеновая	0,31 ± 0,02	Нарингенин	1,24 ± 0,03
кислота фолиевая	0,34 ± 0,0002	Генистеин	1,76 ± 0,09
витамин В <sub>6</sub>	0,66 ± 0,07	7-гидроксифлавоин	1,77 ± 0,10
Аскорбиновая кислота	0,92 ± 0,07	Формонетин	3,21 ± 0,03
Тролокс	1,05 ± 0,12	<b>Жирорастворимые витамины</b>	
витамин В <sub>1</sub>	3,16 ± 0,01	Аскорбил пальмитат	0,36 ± 0,01
витамин РР	5,85 ± 0,05	витамин К <sub>1</sub>	0,45 ± 0,02
<u>Витамин Р (флавоноиды)</u>			
Кверцетин	0,19 ± 0,02	витамин А	0,76 ± 0,05
Рутин	0,28 ± 0,02	β-каротин	0,90 ± 0,05
Дайдзеин	0,44 ± 0,06	витамин Е	1,13 ± 0,03
Биоханин А	0,46 ± 0,05	витамин D <sub>3</sub>	1,14 ± 0,01
Лютеолин-7-глюкозид	0,49 ± 0,03	витамин К <sub>3</sub>	2,29 ± 0,04
		витамин D <sub>2</sub>	5,63 ± 0,14

его водорастворимого аналога тролокса (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота). Оказалось, что водорастворимая форма витамина E обладает несколько более высокой активностью по отношению к гидроксильному радикалу. Однако, при сравнении АРА аскорбиновой кислоты и аскорбил пальмитата, оказалось, что АРА аскорбил пальмитата в 2,5 раза выше.

Для большинства протестированных нами флавоноидов установлена высокая антирадикальная активность. Наибольшая АРА обнаружена у кверцетина и рутина. Причем кверцетин оказался эффективнее, чем его гликозид рутин. В условиях нашей модели значительное снижение АРА рутина в сравнении с кверцетином, по-видимому, обусловлено гликозилированием наиболее реакционноспособной гидроксильной группы в 3 положении кольца С [1].

Отметим, как важный факт, что в целом величина антирадикальной активности флавоноидов существенно снижается по мере уменьшения числа свободных гидроксильных групп в молекулах.

В структуре флавоноидов наличие двух 3', 4'-гидроксильных групп в орто-положении кольца В, обуславливает, вероятно, наибольшую в ряду исследованных флавоноидов АРА, установленную для кверцетина, рутина и лютеолин 7-глюкозида.

Кроме количества и положения гидроксильных групп немаловажное значение имеет наличие в молекулах антиоксидантов сопряженных двойных связей. Это справедливо как при анализе антирадикального механизма действия ретинола и  $\beta$ -каротина, так и при анализе АРА различных флавоноидов.

Среди витаминов группы В обращает на себя внимание высокая АРА, сопоставимая с АРА флавоноидов, цианокобаламина, рибофлавина и фолиевой кислоты.

В основе биологической активности витамина В12 лежит его корриновая макроциклическая система с соответствующими заместителями, находящаяся в координации с атомом кобальта [2]. Возможные механизмы взаимодействия цианокобаламина с гидроксильным радикалом заключаются во взаимодействии с 6 амидными фрагментами молекулы и с бензимидазольным фрагментом. Кроме этого кобальт в цианокобаламине является металлом с переменной валентностью и соответственно, может при воздействии свободных радикалов использовать один протон для их восстановления.

Окислительно-восстановительные свойства рибофлавина реализуются за счет гидроксильных групп рибитильной цепи [2]. Кроме этого рибофлавин способен образовывать хелатные комплексы с

металлами переменной валентности, за счет атома азота в положении 5 и кислорода карбонильной группы в положении 4, что весьма важно для данной модели, поскольку образование гидроксильных радикалов происходит в реакции Фентон. По такому же механизму могут реализовываться антирадикальные свойства фолиевой кислоты.

В молекуле пантотеновой кислоты установлено наличие трех активных атомов водорода (один из которых относится к гидроксилу карбоксильной группы, а два других к свободным гидроксильным группам), за счет которых, вероятно и обеспечивается высокая АРА установленная для этого витамина.

Среди жирорастворимых витаминов помимо производного аскорбиновой кислоты, высокую АРА проявил только витамин К1 (а-филлохинон). Нафтохиноновые витамины легко окисляются с образованием димера, или с присоединением по двойной связи хинона атома кислорода с образованием эпокисей. При умеренном окислении по двойной связи отщепляется боковая алифатическая цепь, а при действии энергичных окислителей образуется фталевая кислота. Менадион (витамин К3) лишенный боковой алифатической цепи обладает значительно меньшей антирадикальной активностью.

**Выводы:** Проведенная работа позволяет говорить о том, что в отношении гидроксильного радикала АРА проявляет достаточно широкий круг как водо- так и жирорастворимых витаминов, что может быть важным аспектом в проявлении их терапевтической активности для широкого круга заболеваний, в патогенезе которых, ведущую роль играет свободно-радикальное окисление.

#### Литература:

1. Дадали Ю.В., Дадали В.А., Макаров В.Г. Квантово-химический подход к анализу антиоксидантной активности некоторых природных антиоксидантов //Матер. IV Междун. съезд "Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения", 29 июня-1 июля 2000 г. -Великий Новгород, 2000. - С. 135-143.
2. Березовский В.М. Химия витаминов. -М., "Пищевая промышленность". -1973. -632 с.
3. Зайцев В.Г., Закревский В.И. Методологические аспекты исследований свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма //Вестник Волгоградской медицинской академии. -1998. -№ 4. -С. 49-53.
4. Макарова М.Н. Антиоксидантная активность флавоноидов, их олигокомпонентных комбинаций и полифенолсодержащих препаратов в эксперименте. Автореф. на соиск. уч. ст. к.б.н. -Санкт-Петербург, 2003. -24 с.
5. Степура И.И. Антиоксидантные свойства витаминов и их комплексов с белками крови // Вопросы медицинской химии. -1992. -Т. 38, № 4. -С. 26-33.

M.N. Makarova, A.I. Selezneva., V.G. Makarov, I.G. Zenkevich  
STUDYING OF ANTIRADICAL ACTIVITY OF VITAMINS

Interregional center "Adaptogen"  
Saint-Petersburg, Russia

In work antiradical activity of vitamins in relation to hydroxyl radical is established. The most antiradical activity is established for flavonoids quercetin, rutin, daidzein, biochanin A and luteolin-7glucosid. Among vitamins of group in the most antiradical activity have shown vitamins B12, B2, B5, Bc. In group of fat-soluble vitamins ascorbic palmitat, vitamin K1, vitamin A and  $\beta$ -carotin have shown activity above, than a known antioxidant vitamin E. The carried out work allows to draw a conclusion that antiradical activity in the relation hydroxyl radical shows the broad audience of vitamins that probably is one of aspects of their therapeutic action.

E-mail: adaptation@peterlink.ru