

На правах рукописи

Пхйьо Мьинт У

**РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ
ДОННИКА, БАГУЛЬНИКА, МУРРАЙИ
И
НЕКОТОРЫХ КУМАРИНОВ В ИХ СОСТАВЕ**

02.00.04 – физическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата химических наук

Москва - 2017

Работа выполнена в Российском химико-технологическом университете имени Д.И. Менделеева на кафедре химии высоких энергий и радиоэкологии.

Научный руководитель: кандидат химических наук
Антропова Ирина Геннадьевна
доцент кафедры химии высоких энергий и радиоэкологии РХТУ им. Д.И. Менделеева

Официальные оппоненты: доктор химических наук, профессор
Шишкина Людмила Николаевна
заведующая лабораторией физико-химических проблем радиобиологии и экологии Института биохимической физики имени Н.М. Эмануэля Российской академии наук

кандидат физико-математических наук
Дмитриева (Брянцева) Наталья Геннадьевна
доцент кафедры общей и экспериментальной физики Томского государственного университета

Ведущая организация: **Институт проблем химической физики Российской академии наук**

Защита состоится 20 февраля 2018 года в 14⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 212.204.11 в РХТУ им. Д.И. Менделеева по адресу: 125047 г. Москва, Миусская пл., д. 9 в конференц-зале (ауд.443).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-библиотечном центре РХТУ им. Д.И. Менделеева и на сайте <http://diss.muctr.ru/author/213/>.

Автореферат разослан «__» _____ 2017 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета
Д 212.204.11,
кандидат химических наук



Н.М. Мурашова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Известно, что свободные радикалы образуются при действии на систему видимого света, ультразвука, ионизирующего излучения и других факторов. Для определения направления химических реакций и для оценки констант скоростей реакций взаимодействия органических соединений с активными короткоживущими частицами из растворителей используются данные, полученные методом импульсного радиолиза. При этом важно определение не только изменений концентрации исходных веществ и образования новых продуктов, но и неустойчивых промежуточных продуктов. Реакционную способность ряда органических веществ связывают с образованием свободных радикалов, обладающих химической активностью и способностью инициировать быстрые цепные неуправляемые свободно-радикальные реакции. Для изучения реакционной способности часто применяют метод конкурирующих реакций, в которых введение стабильных свободных радикалов, различных индикаторов свободных радикалов позволяет косвенно оценивать кинетические характеристики этих процессов.

В литературе имеются сведения по исследованию синтетических органических веществ в системах, где происходят цепные труднорегулируемые процессы окисления, например, в системах с липидами, имеются данные по механизму и константам скорости полифенольных соединений, моноядерных фенолов с супероксид анион-радикалом, гидроксильным радикалом, гидроксиэтильным углеродцентрированным радикалом, но недостаточно сведений о реакционной способности экстрактов природных соединений донника, багульника, муррайи и для кумаринов в их составе. Результаты данного исследования позволят лучше понять механизм окислительно-восстановительных реакций с активными частицами радиолиза растворителей кумаринов и кумаринов в экстрактах растительного сырья, сравнить реакционную способность растворов выделенных индивидуальных кумаринов и кумаринов в составе экстрактов. Многими видными учёными мира установлено, что биологическая активность природных соединений выше, а их токсичность меньше по сравнению с синтетическими органическими соединениями.

В водно-органических экстрактах донника, багульника и муррайи имеются вещества полифенольной природы (кумарины, флавоноиды и др.), которые способны перехватывать свободные радикалы или превращать их в неактивные формы. Выделение отдельных компонентов из указанных растений и изучение их реакционной

способности на модельных химических реакциях с активными промежуточными частицами радиолиза растворителей требует использования современных физико-химических методов и позволит выявить экстракты с заданными антирадикальными свойствами. С использованием данных, полученных различными физико-химическими методами (спектрофотометрия, флуоресценция, газо-жидкостная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография со спектрофотометрическим и масс-спектрометрическим детектированием) идентифицированы индивидуальные полифенольные соединения, определены их концентрации в составе экстрактов и рассчитаны константы скоростей элементарных стадий реакций некоторых кумаринов с активными радикальными частицами (гидроксильные радикалы, супероксид анион-радикалы, гидроксиэтильные углеродцентрированные радикалы, алкоксильные радикалы и другие), что позволит установить механизм химических реакций с участием кумаринов, зависимость их реакционной способности от строения, концентрации в экстрактах и присутствия ионов металлов.

Цель работы состоит в выяснении реакционной способности экстрактов донника, багульника, муррайи и некоторых кумаринов в их составе в водно-органических растворах в реакциях со свободными радикалами.

Для достижения цели надо было решить основные задачи:

- определить концентрацию кумарина в водно-спиртовых экстрактах донника методом хроматографии. Установить изменение концентрации кумарина в доннике лекарственном после облучения;
- исследовать антирадикальную активность экстрактов донника, багульника, муррайи и индивидуальных кумаринов (кумарин, дигидрокумарин, эскулетин, эскулин, скополетин, умбеллиферон) в их составе со свободно-радикальными частицами, предположить механизм реакций кумаринов по отношению к углеродцентрированным радикалам, оценить константы реакций кумаринов в реакции с супероксид анион-радикалом;
- оценить радиопротекторную активность выделенных водных растворов кумаринов из экстрактов донника и багульника.

Научная новизна работы. Впервые показано, что на реакционную способность кумаринов в реакции с супероксид анион-радикалом оказывает влияние наличие ионов металлов; введение ионов цинка (II) увеличивает ее в 4 раза, а введение ионов меди(II) - в 10 раз.

Впервые показано, что гликозидная часть в молекулах кумаринов увеличивает их реакционную способность по сравнению с их агликонами.

Впервые показано различие реакционной способности кумаринов - эскулетин, эскулин, скополетин, умбеллиферон, в реакциях с активными частицами радиолиза аэрированного этанола на основании их реакций кумаринов со свободным радикалом дифенилпикрилгидрозилом (введенного в систему после облучения).

Предложен метод оценки реакционной способности водно-этанольных экстрактов багульника, муррайи и донника с углеродцентрированными радикалами по радиационно-химическому выходу ацетальдегида.

Практическая ценность работы для физической химии состоит в том, что полученные результаты могут быть использованы в выборе эффективных методов экстракции кумаринов из растительного сырья: реакционная способность экстрактов связана с наличием кумаринов в их составе. Для водно-этанольных экстрактов из растительного сырья их антирадикальную способность по отношению к углеродцентрированному гидроэтильному радикалу предлагается определять по радиационно-химическому выходу ацетальдегида, важно для радиобиологии в определении концентрации кумаринов в реакциях с активными частицами радиолиза из растворителей для выяснения реакционной способности экстрактов при действии облучения. Важно для определения реакционной способности водно-этанольных экстрактов из природного сырья и некоторых компонентов в их составе в свободно-радикальных реакциях окисления по результатам определения констант скорости реакций кумаринов и полифенольных веществ с супероксид-анион радикалом в присутствии ионов металлов, в реакции со стабильным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидрозилом, и использовать данные методики для определения антирадикальных и радиопротекторных свойств лекарственных препаратов на водно-этанольной основе «in vitro» в лабораторной диагностике.

Основные положения, выносимые на защиту

- результаты исследований реакционной способности кумаринов и водно-этанольных экстрактов в реакции с 2,2-дифенил-1-пикрилгидрозилом;
- влияние ионов металлов на изменение реакционной способности кумаринов в свободно-радикальных реакциях;

- реакционная способность кумаринов связана с возможностью перехватывать гидроксильный углеродцентрированный радикал, предложен механизм радиационно-химических реакций;

- антирадикальная активность водно-этанольных экстрактов донника, багульника, муррайи по отношению к гидроксильному углеродцентрированному радикалу связана с наличием кумаринов в их составе и ее можно оценить по изменению концентрации ацетальдегида, полученного газо-хроматографическим измерением.

- радиопротекторная активность кумаринов, выделенных из багульника и донника.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на: V Всероссийской конференции (с приглашением специалистов стран СНГ) “Актуальные проблемы химии высоких энергий” (Москва, 23-25 октября 2012), VIII Всероссийской конференции с международным участием молодых учёных по химии “Менделеев-2014. Биоорганическая и медицинская химия. металлоорганическая и координационная химия. Современный химический катализ и моделирование химических процессов” (Санкт-Петербург, 1-4 апреля 2014), “Новые химико-фармацевтические технологии” (Москва-2014), “Успехи в химии и химической технологии” (Москва-2014), “Современные проблемы химической технологии биологически активных веществ” (Москва-26 мая 2016), Международной конференции “Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине”, посвящённой 85-летию ВИЛАР (Москва - 23-25 июня 2016).

Публикации. Работа выполнена при личном участии автора. По материалам диссертационной работы опубликовано 19 подготовленных в соавторстве статей и тезисов докладов, в том числе 2 статьи в рецензируемых журналах из перечня ВАК.

Объём и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 145 страницах, состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, результатов и их обсуждения, выводов, списка литературы, включающего 93 источника, и приложения. Работа содержит 84 рисунка и 34 таблицы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы, сформулированы проблемы работы.

В первой главе в разделе 1.1 содержатся литературные сведения про исследование свободно-радикальных реакций окисления полифенольных соединений. В разделе 1.2 представлены методы исследования реакционной способности полифенольных веществ с использованием современных физико-химических методов исследования. В разделе

1.3 имеются сведения о химических превращениях кумаринов с участием свободно-радикальных частиц, инициированных облучением. Определена проблема, сформулированы основные задачи работы.

Во второй главе описаны исходные реактивы и методики для решения поставленных задач. В качестве образцов исследования применяли экстракты исследуемых растений – донника лекарственного, багульника болотного из аптечной сети, муррайя метельчатая привезена из Мьянмы. 5 г (точная навеска) измельченных и разделенных на равные фракции кумаринсодержащих растений вносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, заливали растворителем, взбалтывали, оставляли на неделю в темном месте. Полученный экстракт фильтровали с помощью складчатого фильтра.

В разделе 2.2 представлены методики и аппаратура, применяемые в работе: выделения кумаринов из донника и багульника, определения кумарина в доннике хроматографическим методом, определения реакционной способности кумаринов по отношению к супероксид-анион радикалу, к углеродцентрированным радикалом по реакции образования гидразона ацетальдегида с 2,4-динитрофенилгидразина. Представлены хроматограф Waters, США, “Хроматэк - Кристалл 5000”, Россия, спектрофотометр СФ-2000, флуориметр “Флюорат-Панорама-02” и установки для стационарного радиолитиза РХМ-γ-20. В качестве источника гамма-квантов использована РХМ-γ-20 Co^{60} РХТУ им. Д.И. Менделеева. Мощность дозы излучения по дозиметру Фрикке равна 0,079 Гр/с.

Условия газо-жидкостной хроматографии¹: для определения кумарина в доннике на “Хроматэк - Кристалл 5000”: колонка VF-5ms фирмы Varian (длина 60 м, диаметр 0.25 мм, толщина слоя 0.25 мкм). Поток газа носителя (гелий марки 6.0) 2 мл/мин. Температурный режим: испаритель 250 °С, детектор (ПВД) 250 °С, термостат 200 °С (4 мин), нагрев до 290 °С со скоростью 20 °С/мин; *для определения концентрации ацетальдегида в экстрактах донника, багульника, муррайи* использовали “Хроматэк - Кристалл 5000”: колонка длиной 2 м с внутренним диаметром 2 мм, заполненная Полисорб-1 размером 0,1-0,25 мм. Объем вводимой пробы составлял 1 мкл. Детектирование производилось на ПВД (температура 160 °С), расход воздуха 250 мл/мин, расход водорода (25 мл/мин). Расход газа носителя (гелий марки А) 30 мл/мин (9-10 мин), 40 мл/мин (13 мин), 30 мл/мин (0 мин).

¹ Работа выполнена при участии старшего преподавателя Фенина А.А., дипломницы Куракиной Е.В.

*Условия хромато-масс исследований кумарина*². Концентрация кумарина в водно-спиртовом растворе (5% объем. этанола) равна 10^{-4} моль/л, раствор насыщали N_2O и облучали в дозе 0.57 кГр. Измерения проведены на хроматографе *Waters*, США, со спектрофотометрическим и масс-спектрометрическим детекторами. Колонка *UPLC BEH C18 1.7 мкм*, размер 2.1×10 мм, изократический режим. Подвижная фаза - смесь ацетонитрил:вода = 75% CH_3CN :25% H_2O с добавлением 0.1% муравьиной кислоты, 300 мкл/мин.

Определение антирадикальных свойств экстрактов растений и кумаринов по их реакционной способности взаимодействовать со стабильным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидрозилом основано на спектрофотометрическом исследовании при использовании 0,2 мМ стабильного свободного радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидрозила (ДФПГ), значения оптической плотности измерены при 517 нм. В контрольную пробу добавка кумаринов не вводилась. Для оценки антирадикальной активности экстрактов и кумаринов рассчитывали процент ингибирования ДФПГ (Ing):

$$Ing = 100 \cdot (D_k - D_o) / D_k, \quad (1)$$

где D_k – оптическая плотность в отсутствии добавки аналитов (контроль); D_o – оптическая плотность в присутствии аналитов.

Определение реакционной способности кумаринов по отношению к супероксид-анион радикалу (СОАР). Концентрация нитросинего тетразолия хлорида (НСТ) равна 100 мкмоль/л в 5 % этаноле, рН 7.4 (фосфатный буфер) для смещения равновесия в сторону СОАР. Измерения проведены на СФ-2000, длина волны 542 нм. В контрольную пробу добавка кумаринов не вводилась.

В третьей главе изложены результаты экспериментов и их обсуждения.

Спектрофотометрическое исследование экстрактов донника, багульника и муррайи. Методы спектрофотометрии позволяют идентифицировать по максимумам полос поглощения состав экстрактивных веществ. В электронных спектрах (рис. 1) экстракта багульника диэтиловым эфиром полоса при 265 нм соответствует простым фенолам, полоса при 310 нм свидетельствует о наличии кумаринов, оксибензойных кислот, флавонов и полоса при 600-700 нм – о наличии хлорофилла. Такие же максимумы спектральных полос поглощения наблюдаются и для экстракта из донника лекарственного.

² Автор выражает благодарность старшему преподавателю Фенину А.А., аспирантке Николаевой В.В. за помощь в проведении хромато-масс-исследований, за расшифровку масс-спектров – к.х.н. Щапина И.Ю.

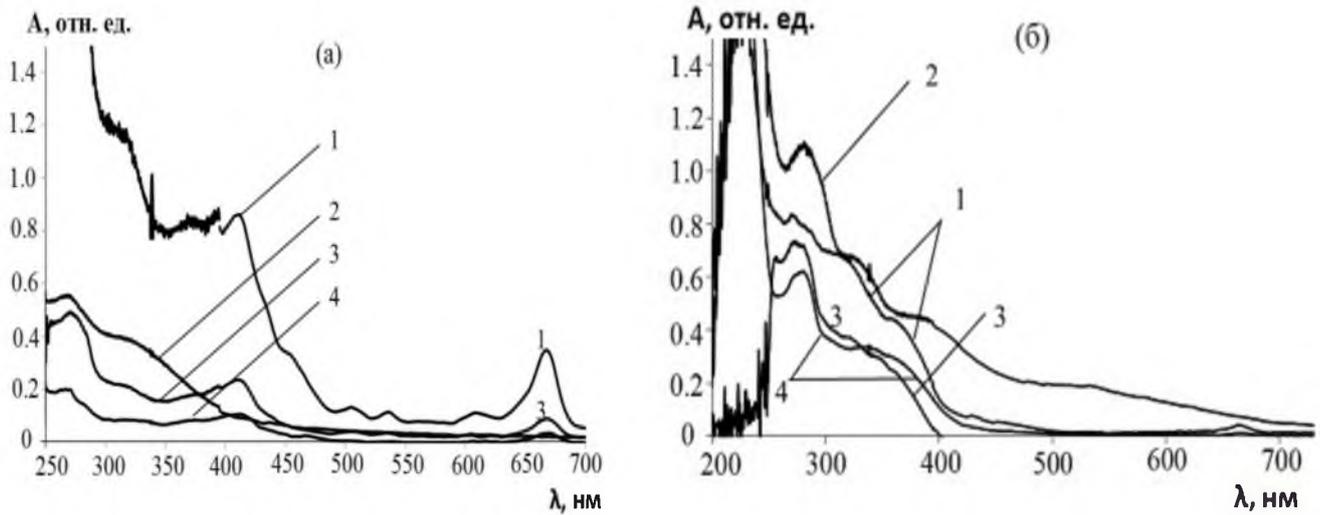


Рис. 1 Спектры оптического поглощения экстрактов из (а) донника лекарственного и (б) багульника болотного различными растворителями: 1 – диэтиловый эфир, 2 – вода, 3 – этилацетат, 4 – изопропанол.

Наличие этих полос свидетельствует о присутствии простых фенолов, кумаринов, флавонов, оксибензойных кислот. Показано, что активные вещества из багульника экстрагируются полнее. В спектре оптического поглощения муррайи метельчатой, приготовленного из высушенных листьев муррайи в 40%-ном этаноле, зарегистрированы максимумы при длинах волн 283 нм и 324 нм, также наблюдаем плечо в области 350-380 нм. Данные экстракты стабильны во времени.

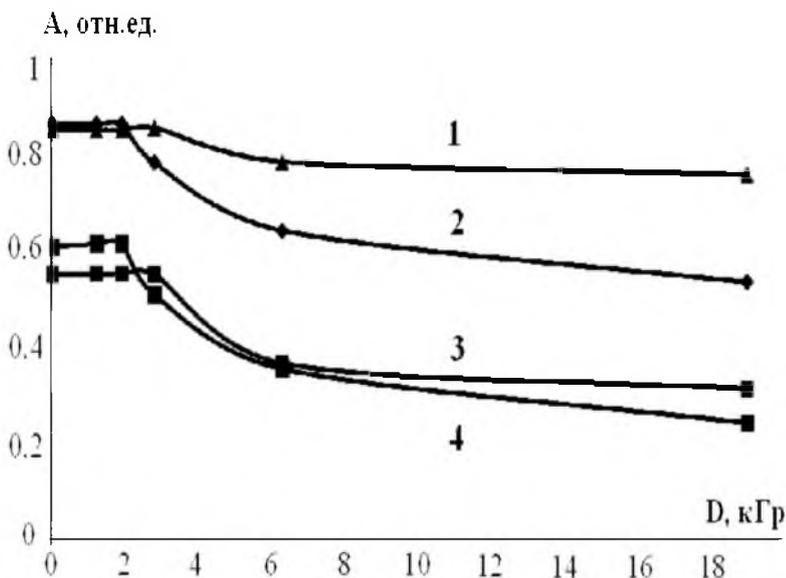


Рис. 2. Изменения оптической плотности аэрированных экстрактов из донника и багульника 40% этанолом при разных дозах облучения: 1 – багульник болотный 270 нм, 2 – донник лекарственный 270 нм, 3 – багульник болотный 310 нм, 4 – донник лекарственный 310 нм.

При хранении спиртовых растворов в темноте в течение 16 суток изменений в спектре поглощения не зарегистрировано.

Радиационная чувствительность применена как оценка реакционной способности экстрактов донника, багульника, муррайи.

Реакционная способность водных экстрактов связана с возможностью взаимодействовать с гидроксильными радикалами, генерированными в водных растворах под действием ионизирующего излучения.

Зарегистрирована высокая радиационная чувствительность компонентов в экстракте муррайи из свежесобранных листьев. Значение оптической плотности при аналитических длинах волн 270 нм и 310 нм с увеличением дозы уменьшается и в экстрактах донника и багульника (рис. 2). До 2 кГр явных изменений в спектрах оптического поглощения не зарегистрировано. Это подтверждается защитным влиянием на подобные системы молекулярного кислорода. Наибольшая реакционная способность предполагаемых экстрактов багульника и донника наблюдается только для диапазона доз от 2-6 кГр.

Хроматографическое исследование кумаринов и экстрактов донника, багульника, муррайи. Исследование антирадикальной активности кумарина проведено хромато-масс-спектрометрическим анализом раствора кумарина в 5% этаноле, раствор был насыщен закисью азота и облучён в запаянных ампулах. Возможные продукты радиационно-химического превращения кумарина проанализировали с помощью спектрофотометрического (рис. 3) и масс-спектрометрического детекторов.

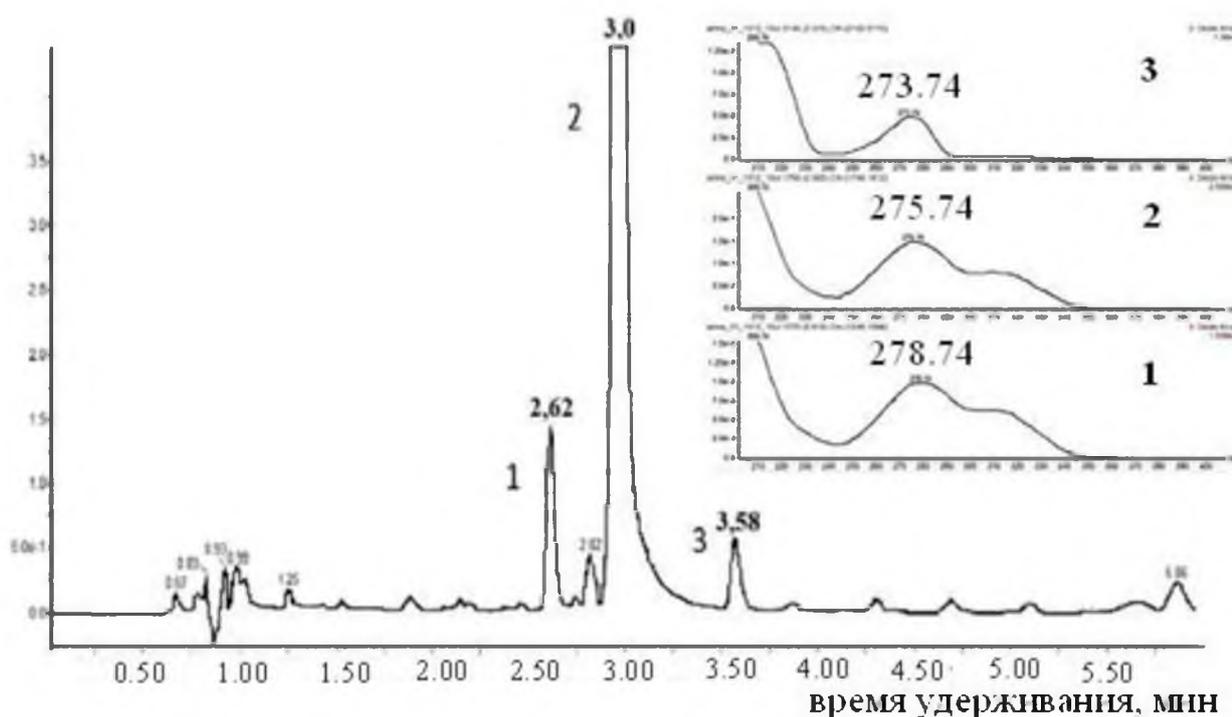


Рис. 3. Хроматограмма водного раствора кумарина с $c = 10^{-4}$ моль/л в деаэрированном и N_2O -насыщенном этаноле при воздействии $D = 0.57$ кГр; 1 – продукт с временем удерживания 2.62 мин; 2 – кумарин; 3 – продукт с временем удерживания 3.58 мин. На вставке спектры оптического поглощения 1 – продукт с временем удерживания 2.62 мин; 2 – кумарин; 3 – продукт с временем удерживания 3.58 мин.

Радиационно-химический выход распада кумарина составил $G_{(-\text{Coom})} = 0.29 \pm 0.02$ молекул/100 эВ при дозе 0.57 кГр. Зарегистрировано образование продуктов

радиационно-химического превращения кумарина с временами удерживания 2.62 мин с $m/z = 173$ и 3.58 мин с $m/z = 175$. Также зарегистрирован ещё один пик с временем удерживания 2.82 мин, но его масс-спектр не удалось записать (интенсивность сопоставима с фоном).

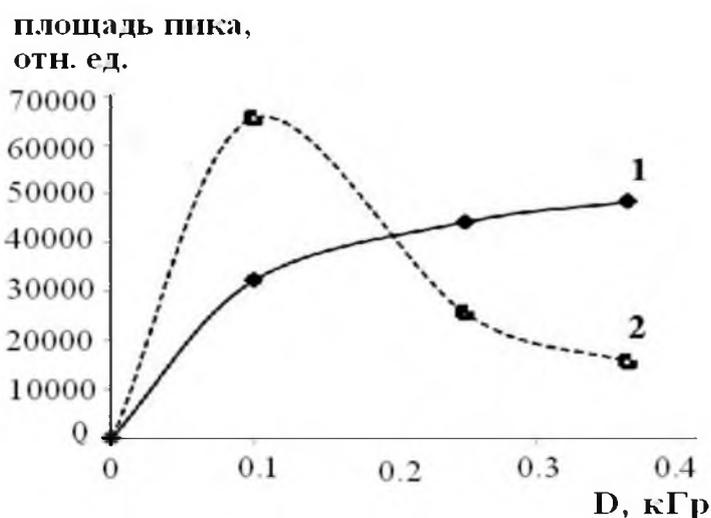
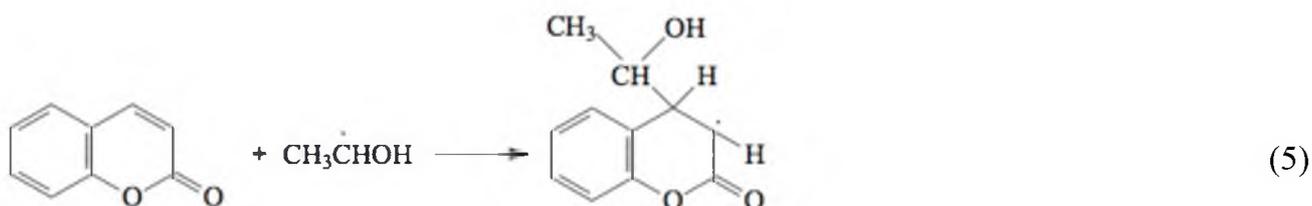


Рис. 4. Изменение содержания продуктов радиолитического превращения кумарина от дозы облучения: 1 – продукт с временем удерживания 3.58 мин, 2 – продукт с временем удерживания 2.62 мин.

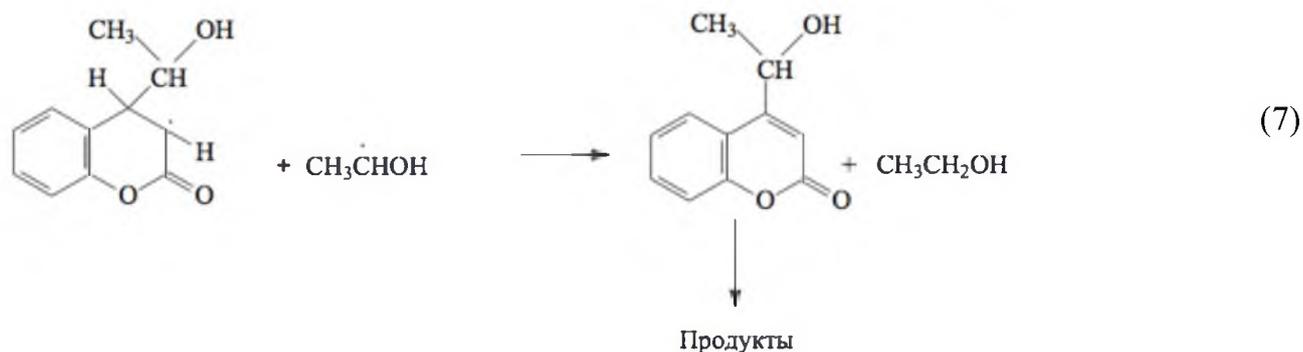
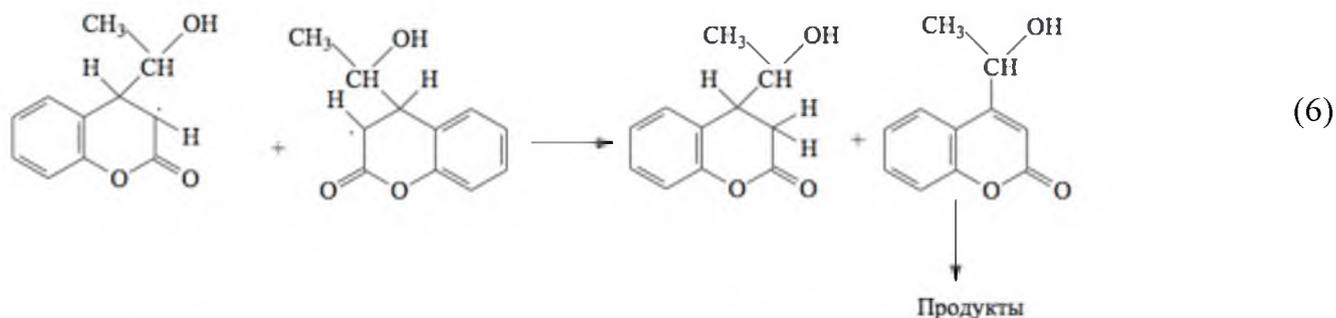
В спектре продукта 3 имеется полоса поглощения при $\lambda_{\max} = 310-320$ нм, которая обусловлена наличием двойной связи $C_{(3)}=C_{(4)}$, в то время как у продукта 2 эта полоса поглощения отсутствует.

На рис. 4 показан характер изменения концентрации продуктов стационарного радиолитического превращения кумарина в зависимости от дозы облучения. Обнаружено, что концентрация продуктов радиационно-химического превращения кумарина

с временем удерживания 2.62 мин в зависимости от дозы имеет экстремальную зависимость, что свидетельствует о его дальнейшем превращении по двойной связи $C_{(3)}=C_{(4)}$. Продукт с временем удерживания 3.58 мин с ростом дозы накапливается в системе, следовательно, производное дигидрокумарина не реакционноспособное и в дальнейших превращениях не принимает участия (рис. 4). Механизм взаимодействия кумарина с углеродцентрированным радикалом представлен ниже:



Реакция диспропорционирования:



Конечными продуктами взаимодействия кумарина с гидроксиалкильными радикалами являются производные кумарина и дигидрокумарина, которые являются продуктами реакции диспропорционирования аддукта гидроксиалкильного радикала к кумарину.

Газо-хроматографически (рис. 5) с использованием внутреннего стандарта - нафталина

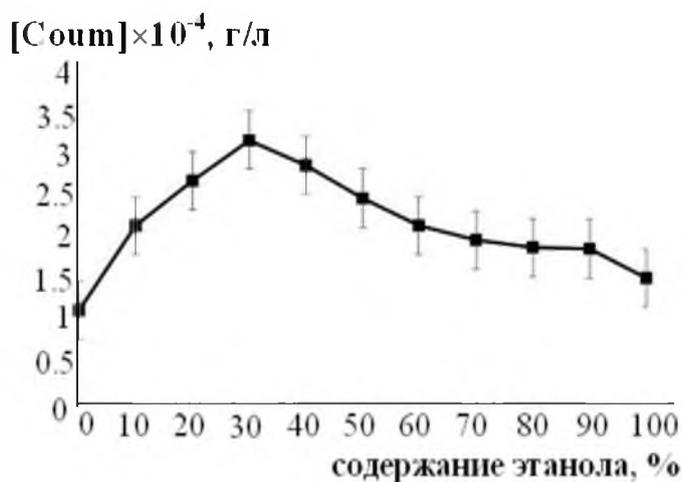


Рис. 5. Концентрация кумарина в экстракте донника от содержания этилового спирта.

изменение концентрации кумарина свидетельствует о его участии в свободно-радикальных реакциях.

Газо-хроматографически путём определения радиационно-химических выходов ацетальдегида при радиоллизе 70% деаэрированных этанольных экстрактов донника,

показано, что наибольшая концентрация кумарина содержится в экстракте донника с 30%-40%-ным содержанием этанола, концентрация дигидрокумарина не зависит от содержания этанола в системе. Наибольшее изменение концентрации кумарина наблюдается при радиоллизе деаэрированного 30% экстракта донника и составляет 28% при дозе 6 кГр. Обнаруженное

багульника и муррайи произведена оценка реакционной способности исследуемых экстрактов в реакции с углеродцентрированным радикалом. При радиоллизе деаэрированного этанола основными молекулярными продуктами являются ацетальдегид (АА) и бутандиол-2,3 (БД):

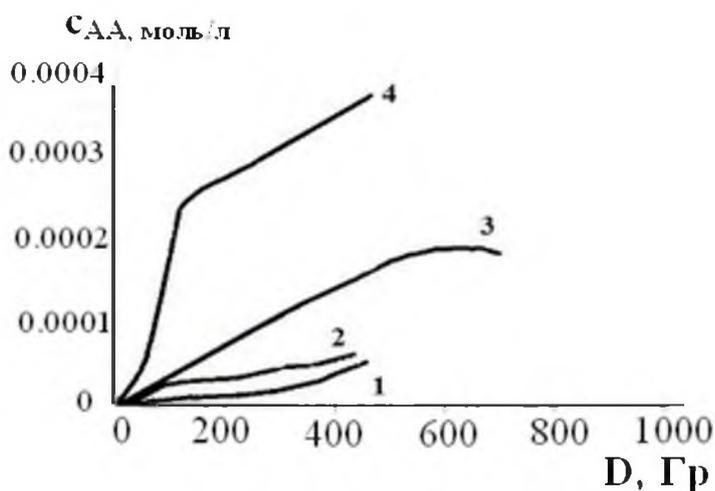
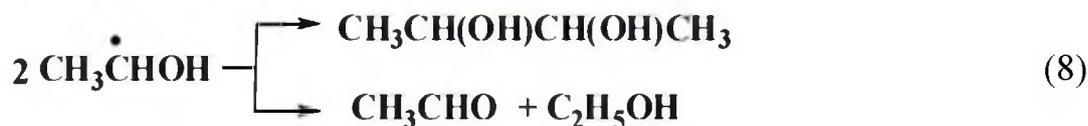


Рис. 6 Изменения концентрации ацетальдегида от дозы для экстрактов: 1 – без добавок экстракта (этанол), 2 – донник, 3 – муррайя, 4 – багульник

На рисунке 6 представлены кривые накопления ацетальдегида в системе в зависимости от увеличения поглощённой дозы для трёх исследуемых 70% деаэрированных экстрактов донника, багульника, муррайи. Значения рассчитанных выходов АА по формуле (9) представлены в табл. 1.

$$G_{\text{AA}} = \frac{9,65 \cdot 10^9 \cdot C_{\text{AA}}}{\rho \cdot D}, \quad (9)$$

где C_{AA} – концентрация АА, моль/л;

ρ – плотность растворителя, г/л; D – поглощённая доза, Гр.

Таблица 1. Радиационно-химический выход (G) ацетальдегида в 70% водно-этанольных деаэрированных системах в присутствии и отсутствие экстрактов

Исследуемая система	G , молек./100эВ	Исследуемая система	G , молек./100эВ
этанол	1.0	багульник (0-120 Гр)	20.0
донник	1.6	багульник (120-480 Гр)	4.5
муррайя	2.8		

Из литературных данных известно, что максимальное значение радиационно-химического выхода АА не превышает 5,5 молек./100 эВ. Для багульника в интервале доз от 0 до 120 Гр рассчитан радиационно-химический выход АА, равный ≈ 20 молек./100 эВ, что может свидетельствовать о свободно-радикальных цепных процессах, происходящих в экстракте после облучения. Можно сделать вывод, что использование

багульника в медико-биологической практике возможно только при низких концентрациях.

В деаэрированных 70% водно-этанольных (объем. этанола) экстрактах донника, багульника, муррайи реакционная способность по отношению к углеродцентрированными радикалам, инициированных облучением, оценена по радиационно-химическому выходу ацетальдегида, который уменьшается в ряду багульник>муррайя>донник.

Сравнение реакционной способности эскулетина и эскулина по выходу АА (патентная методика №2162599 - способ идентификации и определения массовой концентрации ацетальдегида в спиртосодержащих растворах) проведено при взаимодействии с 2,4-динитрофенилгидразоном (ДНФГ). В реакции ацетальдегида с ДНФГ образуются гидразон ацетальдегида, концентрация которого зарегистрирована хроматографически. Установлено уменьшение радиационно-химического выхода ацетальдегида в облученных растворах эскулина на 20% и эскулетина на 40%.

Определение реакционной способности экстрактов донника, багульника, муррайи и некоторых кумаринов со стабильным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидрозилом (ДФПГ).

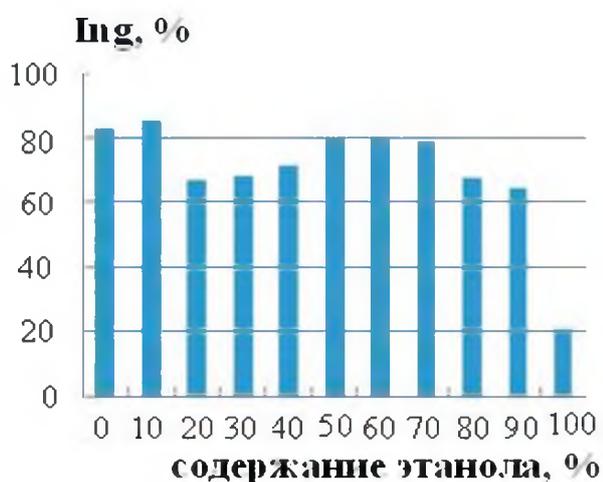


Рис. 7 Изменения эффекта ингибирования ДФПГ экстрактами донника лекарственного от содержания этанола в растворах

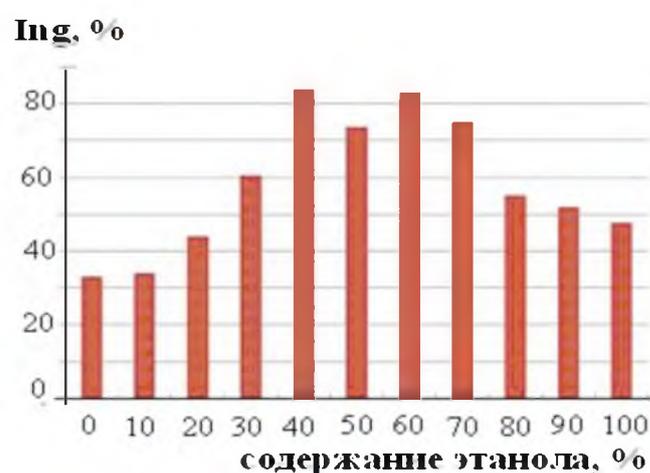


Рис. 8 Изменения эффекта ингибирования ДФПГ экстрактами багульника в зависимости от содержания этанола в системе. Разбавление экстрактов в 30 раз

Установлено, что экстракты багульника болотного (рис. 8) демонстрируют в 30 раз большую реакционную активность по сравнению с другими экстрактами донника (рис. 7) и муррайи (рис. 9). Эффект ингибирования в реакции с ДФПГ для эскулетина 0,1 М

определен равным 82%. Следовательно, с эскулетином связываем реакционную способность багульника и муррайи.

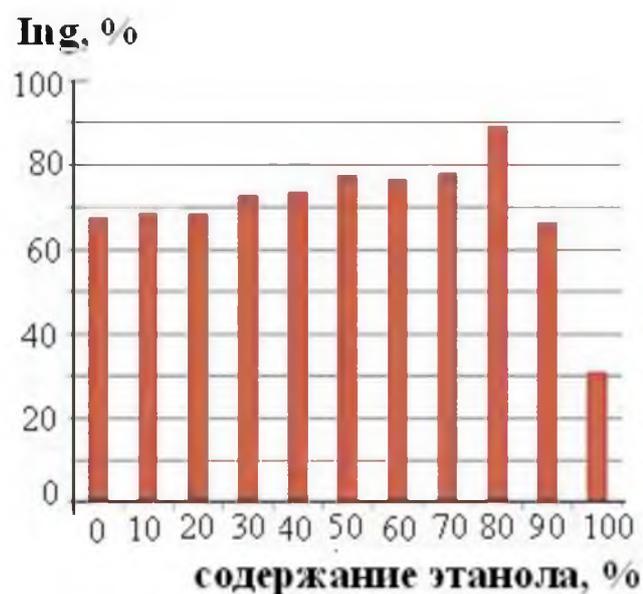


Рис. 9 Изменение эффекта ингибирования ДФПГ необлученным экстрактом муррайи

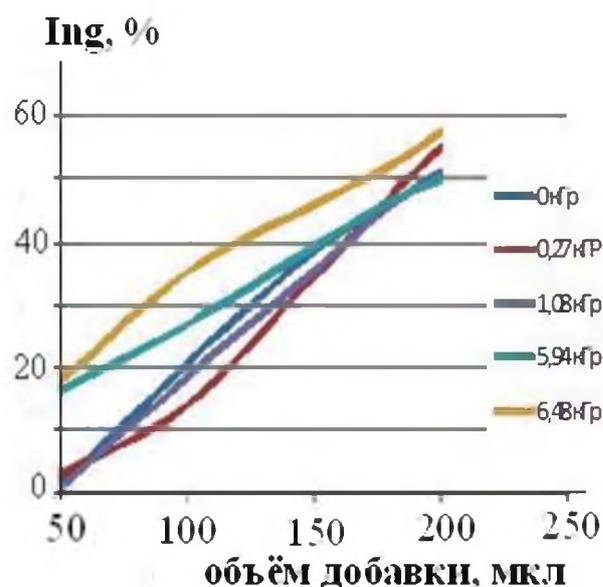


Рис. 10 Изменения эффекта ингибирования ДФПГ 70%-ным этанольным экстрактом муррайи от добавки его в систему после действия ионизирующего излучения

Установлено, что индивидуальные кумарины - эскулетин, эскулин, скополетин, умбеллиферон, которые входят в состав экстрактов, после облучения не изменяют реакционной способности в реакции с ДФПГ, для умбеллиферона с увеличением дозы облучения зарегистрировано увеличение реакционной способности в реакции с ДФПГ.

Определение реакционной способности эскулетина в реакции с супероксид анион-радикалом (СОАР) с использованием нитросинего тетразолия (НСТ). Нитросиний тетразолий (хлорид) известен как индикатор СОАР, который восстанавливается до диформаза. С увеличением дозы ионизирующего излучения пропорционально увеличивается скорость образования диформаза. На рис. 11 представлена зависимость $[w(\text{НСТ})]/[w(\text{соед.})] = f([w(\text{соед.})]/[w(\text{НСТ})])$ для исследуемых соединений: кофейная кислота (Caf), эскулин (Esc-Gl), эскулетин (Esc). Кофейная кислота как компонент экстрактов использована в качестве эталона сравнения реакционной способности в реакции с СОАР. Определены экспериментальные константы взаимодействия соединений с СОАР: $k[\text{Esc-Gl}+\text{COAR}] = 8,9 \times 10^3 \text{ л}/(\text{моль} \times \text{с})$, $k[\text{Esc}+\text{COAR}] = 5,8 \times 10^3 \text{ л}/(\text{моль} \times \text{с})$, $k[\text{Caf}+\text{COAR}] = 3,2 \times 10^4 \text{ л}/(\text{моль} \times \text{с})$. Реакционная способность исследуемых соединений уменьшается в ряду: кофейная кислота > эскулин > эскулетин. Установлено, что наличие гликозидной части у эскулетина увеличивает реакционную способность по отношению к супероксид анион-радикалу.

Установлено, что медь улучшает реакционную способность эскулетина по отношению к COAP. $k[\text{EscGI}+\text{COAP}] = 8,9 \times 10^3$ л/(моль×с); $k[\text{Esc}+\text{COAP}] = 5,8 \times 10^3$ л/(моль×с); $k[\text{caf}+\text{COAP}] = 3,2 \times 10^4$ л/(моль×с); $k[\text{Cu}+\text{COAP}] = 3,39 \times 10^3$ л/(моль×с); $k[\text{Esc}+\text{COAP}] = 5,8 \times 10^3$ л/(моль×с), $k[\text{Esc}+\text{COAP}+\text{Cu}] = 4,73 \times 10^4$ л/(моль×с).

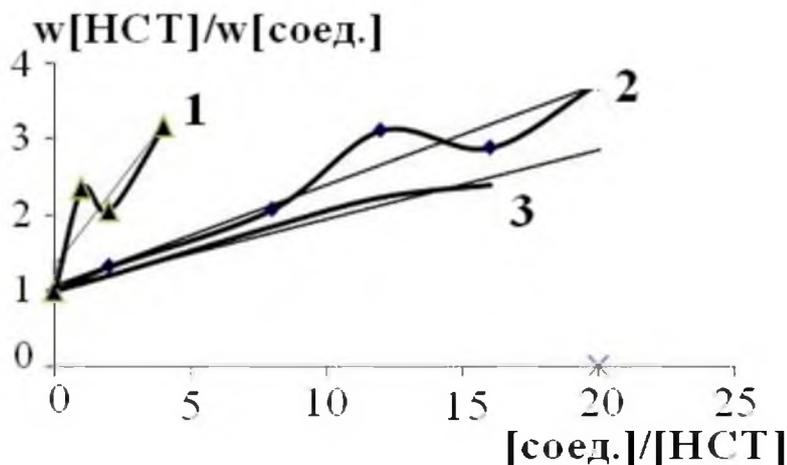


Рис. 11 Зависимости изменения $[w(\text{НСТ})]/[w(\text{соед.})]$ от $[\text{соед.}]/[\text{НСТ}]$. 1 - Caf, 2 - Esc-GI, 3 - Esc.

Впервые показано, что наличие ионов цинка (II) и меди(II) в растворе кумаринов увеличивает реакционную способность в реакции с супероксид анион-радикалом, введение ионов цинка (II) увеличивает ее в 4 раза, а введение ионов меди(II) - в 10 раз.

Оценка радиопротекторной активности экстрактов донника и багульника. Выход ионов $[\text{K}^+]$ % из дрожжевых клеток, облученных 0,4 кГр, при внесении в систему кумаринов, выделенных из экстрактов донника и багульника, по отношению к дрожжевым клеткам расы Феодосия-7 оценен с помощью рН-метрии³.

Выход ионов калия соответствует радиопротекторной активности: чем $[\text{K}^+]$ % меньше, тем больше проявление радиопротекторной способности кумарина. Показано, что наибольшей радиопротекторной активностью обладает кумарин, выделенный из донника лекарственного.

Выводы

1. Впервые хромато-масс-спектрометрически установлено, что конечными продуктами элементарных реакций кумарина с участием активных радикальных частиц являются продукты реакции диспропорционирования аддукта углеродцентрированного радикала к кумарину.

2. Определены константы скорости взаимодействия эскулетина и его гликозида эскулина с супероксид анион-радикалом, равные $k[\text{Esc}+\text{COAP}] = (5,5 \pm 0,03) \times 10^3$ л/(моль×с); $k[\text{Esc-GI}+\text{COAP}] = (8,8 \pm 0,02) \times 10^3$ л/(моль×с). Установлено, что наличие

³ Работа на рН-метре и дальнейшая обработка результатов выполнена при поддержке аспирантки Николаевой В.В.

гликозидной части у эскулетина увеличивает реакционную способность по отношению к супероксид анион-радикалу.

3. Впервые показано, что наличие ионов цинка (II) и меди(II) в растворе увеличивает реакционную способность в реакции с супероксид анион-радикалом, введение ионов цинка (II) увеличивает ее в 4 раза, а введение ионов меди(II) - в 10 раз.

4. Установлено, что реакционная способность водно-этанольных экстрактов донника, багульника, муррайи по отношению к углеродцентрированным радикалам уменьшается в ряду багульник>муррайя>донник.

5. При реакции экстрактов со стабильным радикалом дифенилпикрилгидрозилом обнаружено, что максимальной антирадикальной способностью обладает экстракт багульника, она в 30 раз больше, чем для экстрактов муррайи и донника.

6. Впервые установлено, что продукты реакции индивидуальных кумаринов (эскулетин, эскулин, скополетин, умбеллиферон) с активными частицами радиолиза аэрированного этанола имеют способность связывать стабильный радикал дифенилпикрилгидрозил аналогично исходным кумаринам за исключением умбеллиферона, для которого показано увеличение этой способности.

7. Показано наличие защитных свойств для кумаринов в водных растворах, выделенных из донника, и отсутствие таковых для кумаринов из багульника по оценке радиопротекторной активности.

Основные результаты диссертации изложены в следующих публикациях

Публикации в журналах перечня ВАК

1. Пхйё Мьинт У. Исследование антирадикальной активности кумарина и экстракта донника лекарственного / Николаева В.В., И.Г. Антропова, А.А., Пхйё Мьинт У, Куракина Е.С., Фенин А.А. // Бутлеровские сообщения. - 2014. - Т. 38. – №4. – С. 10-15.

2. Пхйё Мьинт У. Исследование водно-этанольных деаэрированных экстрактов кумаринсодержащих лекарственных растений / Куракина Е.С., Пхйё Мьинт У, И.Г. Антропова // Бутлеровские сообщения. - 2016. - Т. 45. – №3. – С. 105-108.

Публикации в других изданиях

3. Пхйё Мьинт У. Радиолиз водно-органических экстрактов багульника болотного и донника лекарственного / Антропова И.Г., Николаева В.В., Пхйё Мьинт У, Фенин А.А. // Актуальные проблемы химии высоких энергий: Сб. тез. докл. V Всероссийской конф. (с приглашением специалистов стран СНГ). Москва 23-25.10.2012. – С. 189.

4. Пхйё Мьинт У. Спектрофотометрические исследования антирадикальной активности кумаринсодержащих лекарственных растений / Антропова И.Г., Николаева В.В., Пхйё Мьинт У, Ревина А.А. // Современные проблемы фитотерапии и травничества: Сб. науч. тр. Москва 23-24.03.2013. – М.: Институт фитотерапии, 2013. – 274 с. – С. 8-11.

5. Пхйё Мьинт У. Исследование флуоресцентных свойств кумаринсодержащих лекарственных растений под действием гамма-квантов / Николаева В.В., Пхйё Мьинт У, Антропова И.Г. // Успехи химической физики: Сб. тез. докл. на II Всероссийской молодежной конф. Черноголовка 19-24.05.2013. - М.: "Граница", 2013. - 264 с. – С. 182.
6. Пхйё Мьинт У. Радиоллиз кумаринсодержащих экстрактов лекарственных растений / Николаева В.В., Пхйё Мьинт У, Антропова И.Г. // Современная химическая физика: Сб. аннот. XXIV конф. Туапсе 20.09-01.10.2013. – С.60
7. Пхйё Мьинт У. Исследование радиационной чувствительности экстрактов лекарственных растений багульника болотного и донника лекарственного / Николаева В.В., Пхйё Мьинт У, Антропова И.Г. // Современные наукоемкие технологии. 2013. № 8-2 с. 334. URL: <http://www.scienceforum.ru/2013/pdf/4000.pdf>.
8. Пхйё Мьинт У. Исследование спиртовых экстрактов донника лекарственного при действии гамма-излучения / Николаева В.В., Антропова И.Г., Пхйё Мьинт У // Менделеев-2014. Биоорганическая и медицинская химия. Металлоорганическая и координационная химия. Современный химический катализ и моделирование химических процессов: Сб. тез. докл. VIII Всероссийской конф. с международным участием молодых учёных по химии. Санкт-Петербург 1-4.04.2014. – С.72-73.
9. Пхйё Мьинт У. Исследование антирадикальной активности кумарина / Николаева В.В., Пхйё Мьинт У, Антропова И.Г., Фенин А.А. // Новые химико-фармацевтические технологии: Сб. научн. трудов. – М.: РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2014. – Вып. 185. - С. 138-139.
10. Пхйё Мьинт У. Радиоллиз водного раствора кумарина / В.В. Николаева, И.Г. Антропова, Пхйё Мьинт У // Успехи в химии и химической технологии: Сб. научн.тр. - М.: РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2014. – Том XXVIII.- №6. - С. 104-106
11. Пхйё Мьинт У. Радиоллиз эскулина и эскулетина в спиртовых растворах / Николаева В.В., Антропова И.Г., Пхйё Мьинт У, Полякова К.И. // Современная химическая физика: Сб. аннот. XXVI конф. Туапсе 20.09-01.10.2014. – С.289.
12. Пхйё Мьинт У. Антирадикальная активность эскулетина и эскулина / Полякова К.И., Пхйё Мьинт У, Николаева В.В., Антропова И.Г. // Современная биология: Актуальные вопросы: Сб. тезисов IV международной научно-практ. конф.. – СПб, науч. фонд "Биолог" – №4.- С. 33-35.
13. Phyo Myint OO. Reactive ability of esculetin, esculin and caffeic acid with superoxide anion-radical / Nikolaeva V.V., Antropova I.G., Phyo Myint OO, Polyakova K.I. // Mendeleev – 2015: Book of abstracts IX International conference of young scientists on chemistry. Saint Petersburg 7-10.04.2015. – PP. 271-272.
14. Пхйё Мьинт У. Реакционная способность эскулетина в реакции с супероксид анион-радикалом / Полякова К.И., Николаева В.В., Пхйё Мьинт У, Антропова И.Г. // Актуальные проблемы химии высоких энергий: Сб. тез. докл. VI Российской конф. (с приглашением специалистов стран СНГ). Москва 20-22.10.2015. – М.: Граница, 2015. – 368 с. – С. 293-295.
15. Пхйё Мьинт У. Реакционная способность кумаринсодержащих лекарственных растений / Антропова И.Г., Пхйё Мьинт У, Полякова К.И., Куракина Е.С. // Научный потенциал российской молодёжи – развитию исследований в области физической химии и нанотехнологий: Сб. тез. докл. Всероссийской конф. молодых учёных и специалистов, аспирантов, студентов. Москва - Обнинск 12 – 16.04.2016. - Обнинск: НОЦ "Росинтал", 2016. - С. 10 – 11.
16. Пхйё Мьинт У. Исследование 70% водно-этанольных деаэрированных лекарственных кумаринсодержащих экстрактов / Куракина Е.С., Пхйё Мьинт У, Антропова И.Г. // Современные проблемы химической технологии биологически

активных веществ: Сб. научн. тр. Москва 26.05.2016. – М.: РХТУ им. Д.И. Менделеева, - Вып. 188 – С.220-223.

17. Пхйё Мьинт У. Антирадикальная активность кумаринсодержащих лекарственных растений / Куракина Е.С., Пхйё Мьинт У, Антропова И.Г. // Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине: Сб. научн. тр. международной конф., посвященной 85-летию ВИЛАР. Москва 23-25.06.2016. – М.: Щербинская типография, 2016. – 636 с. – С. 492-497.

18. Пхйё Мьинт У. Антирадикальная и радиопротекторная активности экстрактов кумаринсодержащих растений / Антропова И.Г., Пхйё Мьинт У, Куракина Е.С. // Кинетика и динамика обменных процессов: Сб. тез. докл. V Всероссийского симпозиума с международным участием. Сочи 30.10-06.11.2016. - М.: Граница, 2016. - С. 240-242.

19. Пхйё Мьинт У. Исследование антиоксидантных свойств муррайи метельчатой из Мьянмы / Кошкина О.А., Пхйё Мьинт У, Антропова И.Г., Мельников П.В. // Фитотерапия: инновации и перспективы: Материалы международного симпозиума. – М.: Институт восточной медицины, 2017. – 120 с. – С. 84-87.