

УДК 577.15.08+606.61

Савельева Е.Е., Досадина Э.Э., Белов А.А.

ДЕСТРУКЦИЯ ПОЛИСАХАРИДНЫХ НОСИТЕЛЕЙ ПОД ДЕЙСТВИЕМ СРЕДЫ. АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОДУКТОВ ДЕСТРУКЦИИ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ

Савельева Елизавета Евгеньевна, студент 3-го курса факультета биотехнологии и промышленной экологии; Досадина Элина Эльдаровна, магистр 2-го курса факультета биотехнологии и промышленной экологии; Белов Алексей Алексеевич, д.т.н., доцент кафедры биотехнологии, *E-mail: ABelov2004@yandex.ru
Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия
125480, Москва, ул. Героев Панфиловцев, д. 20.

Предложена схема работы аппликаций на основе окисленной целлюлозы и различных терапевтических агентов в модельных условиях раны (рН 6,2, 37°C). Выбран метод определения антиоксидантной активности (АОА). Была исследована АОА некоторых антиоксидантов и использованных целлюлозных перевязочных материалов. Была обнаружена антиоксидантная активность окисленных целлюлозных носителей, а также установлена прямая зависимость значения антиоксидантной активности от степени окисления матрицы.

Ключевые слова: антиоксиданты, целлюлоза, диальдегидцеллюлоза, гидролитическая деструкция, перевязочные материалы.

DESTRUCTION OF POLYSACCHARID CARRIERS UNDER THE ACTION OF THE ENVIRONMENT. ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE PRODUCTS OF DESTRUCTION OF CELLULOSE

Savelyeva E.E., Dosadina E.E., Belov A.A.*
D.I. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, Russia.
*e-mail: abelov2004@yandex.ru

The scheme of work of applications based on oxidized cellulose and various therapeutic agents in the model wound conditions (pH 6.2, 37 ° C) is proposed. A method for determining antioxidant activity (AOA) was chosen. AOA of some antioxidants and used cellulose dressings were examined. Antioxidant activity of oxidized cellulose carriers was detected, and the value of antioxidant activity was directly related to the degree of oxidation of the matrix.

Key words: antioxidants, cellulose, dialdehyde cellulose, hydrolytic degradation, dressings.

В настоящее время широкий интерес вызывает разработка медицинских композиций, включающих ферментные комплексы, антиоксиданты и другие терапевтические агенты, позволяющие существенно сократить сроки заживления ожоговых, гнойно-некротических ран и трофических язв.

Процесс заживления ран, особенно стадия воспаления, идет в условиях активации свободно радикальных реакций [1]. Образующиеся в клетке свободные радикалы могут вступать во взаимодействие с различными клеточными компонентами: белками, нуклеиновыми кислотами и липидами, нарушая образование новой ткани. Антиоксиданты способны связываться со свободными радикалами, предупреждая развитие цепных радикальных реакций в месте воспаления и способствуя скорейшему заживлению ран. Дегградация целлюлозы и ее производных как носителей в лекарственных композициях вызывает большой интерес исследователей [2-4]. Было показано, что препараты на основе окисленной периодатом целлюлозы не обладают антиоксидантной активностью, однако продукты их гидролитической деструкции проявляют антирадикальные свойства [5]. Дегградация рассматриваемых в работе препаратов протекает под действием среды (рН, температура) и ферментов

человеческого организма (декстраназ и лизоцимов)[6], а также в результате химического гидролиза [6,7]. Нами была изучена кинетика гидролитической деструкции различных целлюлозных материалов. Для этого навеска препарата (при гидромодуле 50) помещалась в 1/15М фосфатный буферный раствор (ФБ) рН 6,2 при 37 °С. Через определенное время определяли редуцирующие вещества по методу [8], либо АОА по методу [9], либо снимали УФ-вид спектры.

Выделяют большое количество методов измерения АОА препаратов в жидких модельных средах. Все методы основаны на обрыве реакционных цепей, при взаимодействии антиоксиданта с активным радикалом и образовании неактивного радикала [9,11]. В нашей работе для измерения АОА мы использовали взаимодействие раствора со стабильным свободным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (ДФПГ) [9]. Молекула ДФПГ представлена на рисунке 1.

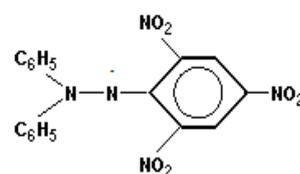


Рис.1. 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (свободный радикал)

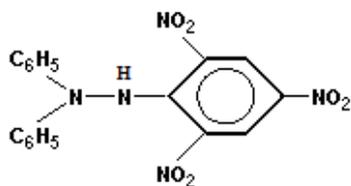


Рис.2. 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (редуцирующая форма)

В ДФПГ делокализованы спаренные электроны так, что молекулы не димеризуются и выполняют роль свободных радикалов. Делокализация вызывает фиолетовую окраску раствора, характеризующуюся абсорбционными связями с этанолом, используемым в качестве растворителя.

Механизм работы ДФПГ заключается в связывании с веществом (предполагаемым антиоксидантом), которое является донором водородного атома, порождающим образование редуцирующей формы ДФПГ (Рис.2), поглощающей в области видимого спектра при 517 нм, и потерей фиолетовой окраски или переходом окраски раствора в бледно-желтую, что объясняется остаточным количеством пикриловых групп [9]. Основными преимуществами данного метода являются высокая чувствительность и широкий диапазон определяемых значений, многократная воспроизводимость результатов, малый объем проб и время анализа [10]. К недостаткам метода можно отнести ограничения в исследовании окрашенных образцов и получение результатов в относительных единицах, интерпретация которых зависит от вещества, которое использовали в качестве эталона [11]. Под действием воды и ацетона ДФПГ разрушается, что также ограничивает использование в качестве растворителей водных сред [9]. Исследования проведены с помощью регистрирующего спектрофотометра фирмы Shimadzu UV-2600 при длине волны 517 нм в кюветах шириной 1 см. Раствор ДФПГ (0,2 Ммоль/л) готовили в 96% этаноле. К 2,0 мл каждого из полученных растворов серии приливали 2,0 мл раствора ДФПГ и после смешивания через 30 минут или другое заданное время регистрировали значения оптической плотности при $\lambda = 517$ нм. В качестве контрольных проб использовали чистые растворители, в которых готовили рабочие растворы. Рабочие растворы готовили методом последовательных разбавлений. Все белковые растворы, в которых образовывалась мутность, центрифугировались на ц/ф при 20°C в течении 20 мин при 14 000 об/мин. По формуле был рассчитан % ингибирования:

$$\% \text{ Inhibition} = (A_{C(0)} - A_{A(t)}) / (A_{C(0)}) \cdot 100,$$

где $A_{C(0)}$ – оптическая плотность контрольного образца, $A_{A(t)}$ – оптическая плотность исследуемого образца. 1 антиоксидантная единица активности (АОА) – это количество препарата, вызывающего 50%-ингибирование раствора ДФПГ в специальных условиях [5].

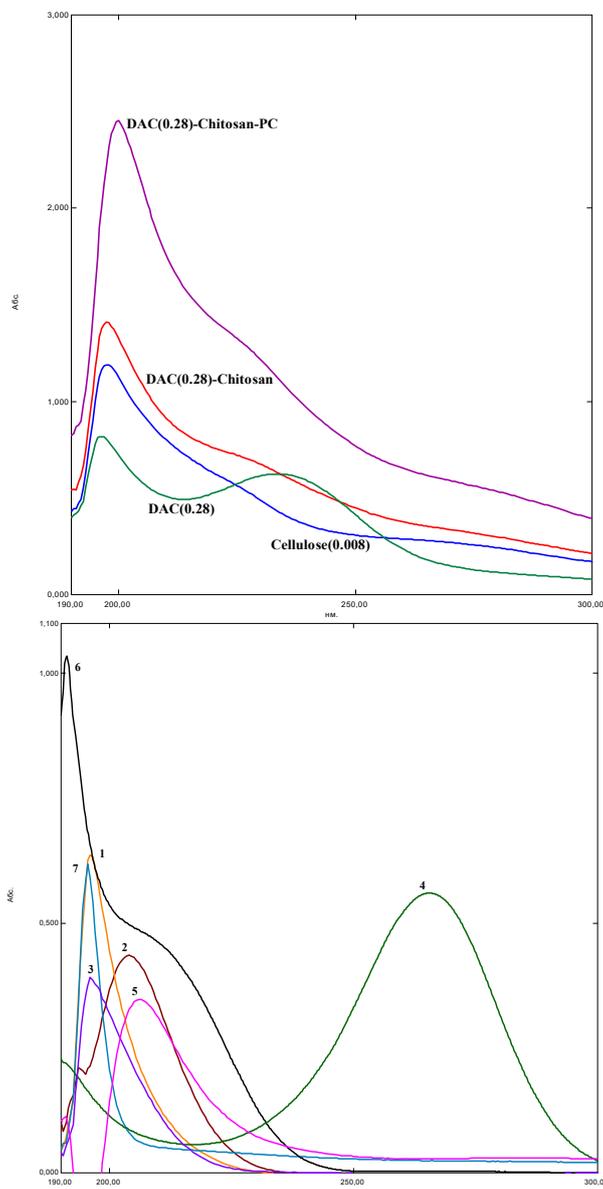


Рис.3 а) UV-Vis спектры растворов (ФБ 6,2), в которые были помещены препараты (37 °С, 24 часа). В скобках указано количество альдегидных групп на носителе (мМоль/г); б) UV-Vis спектры предполагаемых продуктов гидролитической деструкции целлюлозных носителей 1 – уксусной, 2 – муравьиной, 3 – гликолевой, 4 – аскорбиновой кислот, 5 – формальдегида, 6 – молочной кислоты, 7 – глюкозы.

При исследовании АОА целлюлозных материалов определяли АОА как самих материалов (навеску образца заливали растворителем и потом добавляли раствор ДФПГ), так и продуктов их деструкции: навеску образца заливали растворителем и через заданное время отбирали аликвоту раствора и определяли ее АОА.

Как видно из полученных данных, представленных на рис. 4, с увеличением степени окисления матрицы увеличивается выход в раствор продуктов гидролитической деструкции целлюлозного носителя, которые могут обладать АОА.

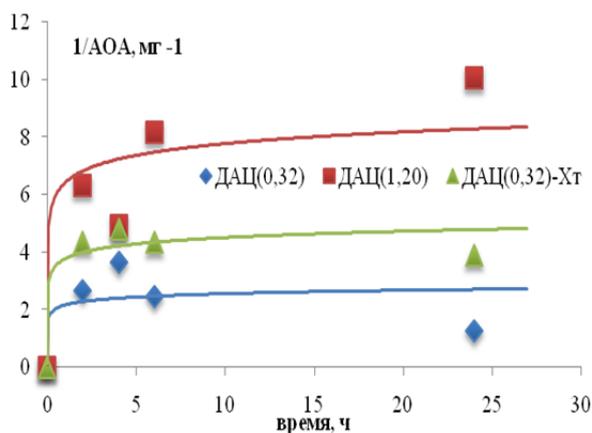


Рис.4. Изменение AOA^{-1} растворов, в которые были помещены препараты (ФБ 6,2 37°C), во времени.

При этом деструкция иммобилизованного препарата (ДАЦ-Хт) протекает с образованием продуктов с большим значением АОА, что может быть объяснено специфическим связыванием продуктов деструкции комплексного носителя.

Список литературы

1. Медушева Е.О. Разработка, экспериментальное обоснование и внедрение в хирургическую практику раневых покрытий с комплексным некролитическим, антимикробным и антиоксидантным действием (экспериментальное исследование): Дисс. ... д-ра мед. наук. М., 2004.- 389 с.;

2. Charles J. Knill, John F. Kennedy Degradation of cellulose under alkaline conditions //Carbohydrate Polymers 2003, Vol. 51, P. 281–300.

3. Гумникова В. И. Синтез диальдегиддекстрана и диальдегидкарбоксиметилцеллюлозы и их химические превращения// дисс... на соиск. уч. ст. канд. хим. наук, РХТУ 2014, с.137;

4. M. Singh, A.R.Ray, P. Vasudevan. Biodegradation studies on periodate oxidized cellulose // Biomaterials. – Vol.3. – 1982. – P.16-20;

5. Савельева Е.Е., Досадина Э.Э., Белов А.А. Антиоксидантная активность целлюлозных перевязочных материалов в модельной среде///Сб. науч. трудов «Успехи в химии и химической технологии», 2016, т.XXX, №9, с. 16-18.

6. Плате Н.А., Васильев А.Е. Физиологически активные полимеры - М.: Химия, 1987. - С. 296.

7. Белов А.А. Текстильные материалы, содержащие иммобилизованные гидролазы для медицинских и косметологических целей. Получение. Свойства. Применение. //LAP LAMBERT Acad. Pub., GmbH &Co. KG, Germany, 2012 г., 242 с.

8. Miller G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar // *Anal. Chem.*, **1959**, v.31. №3. P. 426- 428.

9. P. Molyneux The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity // *Songklanakarin J. Sci. Technol.*- Vol. 26(2). – 2004. – P.211-219;

10. Шпигун Л.Г., Замятина Н.Н., Шушеначев Я.В., Камилова П.И. Методы количественной оценки антиоксидантной активности лекарственных веществ на основе свободнорадикальных реакций//Биржа интеллектуальной собственности, 2011,т. X, № 3, С.35-39.

11. И.Г. Ильина, И.П. Рудакова, И.А. Самылина Антиоксиданты: фармацевтические и биохимические аспекты применения // Фармация №8, 2013,с 3-6.