

М. В. Сидорова¹, А. К. Мартусевич², А. Г. Соловьева², С. П. Перетягин²,
А. Р. Дорофеева¹, Л. Н. Нустратова¹, Н. Б. Мельникова¹

КИСЛОТНО-ОСНОВНЫЕ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА КОМПЛЕКСОВ ФИТИНОВОЙ КИСЛОТЫ И КСИМЕДОНА В РАСТВОРЕ

¹ Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород, Россия;

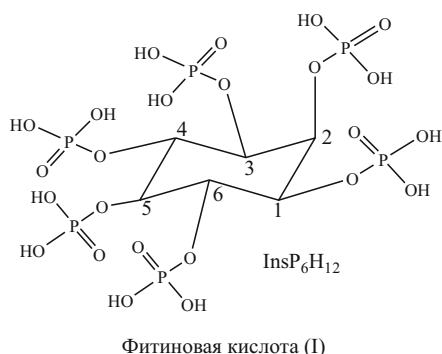
² "Нижегородский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии", Нижний Новгород, Россия

Методами ИК-, УФ-, ¹H и ¹³C ЯМР спектроскопии и потенциометрическим титрованием показано, что взаимодействие миоинозитола гексакисфосфата (InsP₆H₁₂) и 1-(β-оксиэтил)-4,6-диметил-1,2-дигидро-2-оксопиримидина (ксимедона) в водном растворе протекает через стадию переноса протона с образованием ионных и H-ассоциированных комплексов. Результаты исследований *in vitro* в плазме крови человека показывают синергетический эффект антиоксидантного действия и активации супероксиддисмутазы фитиновой кислоты и ксимедона в комплексах ксимедона фитата.

Ключевые слова: фитиновая кислота; ксимедон; фитаты ксимедона; реакции переноса протона; антиоксидантная активность.

В настоящее время большой интерес вызывает фитиновая кислота — природное соединение из класса фосфорилированных сахаров, обладающее свойствами регулятора многих метаболических процессов, в том числе нормализации кальций-фосфорного и ионного баланса, а также являющееся экзогенным антиоксидантом широкого спектра действия и принимающее участие в поддержании энергетического статуса организма человека [1–6]. Изучена антиоксидантная и противоопухолевая активность фитиновой кислоты при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, молочной и предстательной желез [7, 8]. Доказано, что фитиновая кислота ингибирует перекисное окисление липидов и сопутствующее поражение клеток кишечника и печени [9, 10], а также регулирует действие ферментов, наиболее изученным из которых является ксантиноксидаза [4].

Фитиновая кислота присутствует в большинстве зерновых и бобовых культур (до 85 % от общего содержания фосфора), семян масличных культур, пыльце, клубнях, орехах и представляет собой основной запас фосфора в растениях [1, 9, 10].



Фитиновая кислота — гексакисфосфат миоинозита или 1,2,3,4,5,6-гексакис(дигидрофосфат) миоинозита (InsP₆H₁₂, I) — характеризуется 12 ионизируемыми протонами и может взаимодействовать как с многовалентными катионами (замещение и хелатирование),

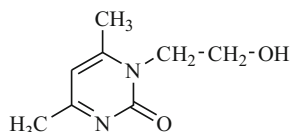
аминами, предварительно протонируя аминогруппу, так и с белками [11, 12].

Природные фитаты являются производными монододека-аниона кислоты I, а кальциево-магниевые соли I называют фитином [1]. Кислота I проявляет также сильную хелатообразующую способность с такими ионами металлов, как Na⁺, Fe³⁺, Mn²⁺, Zn²⁺, Ba⁺ и др. [12]. Плохая растворимость фитатов является причиной ухудшения биодоступности I как компонента пищи [11–13].

Для повышения биодоступности фитатов их можно применять в виде комплексных соединений с аминами, образующимися в результате донорно-акцепторного, ковалентного и нековалентного взаимодействий. Кроме того, комплексы такого типа способны защищать I от взаимодействия с кальцием в организме человека с образованием нерастворимых фитатов. В работах [11, 12] показано комплексообразование натриевых солей I с аминами и их протонированными формами за счёт нековалентных взаимодействий. В связи с довольно высоким (частично протонированным) зарядом фитата стабильность комплекса с аминами является довольно высокой, что позволяет использовать полученные соединения в виде лекарственных веществ с хорошей биодоступностью при сохранении других ценных свойств I.

Настоящая работа посвящена исследованию взаимодействия I и амина из класса оксопроизводных пиримидинов — ксимедона в водном растворе и изучению кислотно-основных и антиоксидантных свойств полученных комплексов.

Выбор ксимедона, 1-(β-оксиэтил)-4,6-диметил-1,2-дигидро-2-оксопиримидина (II), обусловлен его антиоксидантным, противовоспалительным и репаративными свойствами, которые позволяют широко использовать II как иммуномодулятор, репаратант и регенерант, ранозаживляющее средство.



Ксимедон (II), Кси

Антиоксидантная активность II объясняется индуцированием активности микросомальных оксидаз печени человека, что в свою очередь способствует профилактике и лечению острых и хронических интоксикаций, стрептококковой ангины, гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области, вирусным гепатитом С [14, 15].

Биотрансформация II в организме человека протекает через протонированную форму с образованием солей — хлорида и ацетата II [16], вследствие чего получение комплексного соединения II с I, содержащего протонированный фрагмент — H^+ в качестве катионной части, не должен изменить ценные фармакологические свойства II, а представлять аналог его естественных метаболитов. С другой стороны, следует ожидать, что отрицательно заряженная часть комплекса может быть носителем ценных свойств кислоты I.

С учётом вышеизложенного представляет интерес изучение возможности получения комплексов I и II в качестве фармацевтической субстанции, на основании которой можно разработать новые лекарственные формы в виде инъекционных растворов, гидрофильных гелей и другие.

Экспериментальная химическая часть

В работе использовали следующие материалы и реактивы: фитиновую кислоту (I) в виде 50 % водного раствора (“ACROS ORGANICS”); ксимедон (II, НПП ФГУП “Кристалл”, Дзержинск Нижегородской области); воду очищенную, полученную на установке “Elix-3” фирмы “MILLIPORE”, удельное сопротивление менее 0,2 $\mu\text{См}$.

Эксперименты выполняли с помощью УФ-спектрофотометра Specord S100 Bioline (Analytic Jena, Германия); рН-метра “pH-150M” фирмы РУП (Гомельский завод измерительных приборов, Белоруссия); ЯМР спектрометра Agilent DD2 400, спектры ЯМР ^1H и ^{13}C , D_2O , рабочие частоты 400 и 101 МГц соответственно; ИК-спектрофотометра с преобразователем Фурье (фирма Шимадзу [IRprestige-21(206 – 72010)], Япония).

Потенциометрическое титрование 5 % раствора I (20 мл, $n = 1,19$ ммоль) проводили 20 % раствором II. Титровали медленно при перемешивании магнитной мешалкой, останавливая процесс на 3 мин после добавления каждой порции титранта до установления равновесия.

Анализ I с реактивом Вэйда. Раствор, содержащий 0,3240 г сульфосалициловой кислоты в 100 мл воды (раствор А), перемешивали с водным раствором Б, в 100 мл которого содержалось 0,0324 г $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (соотношение А:Б — 1:1 по объёму), и использовали свежеприготовленным. 1 мл реагента содержал

0,2 $\mu\text{моль}$ железа. Для анализа использовали объёмное соотношение I — реагент — 1:3.

Экспериментальная биологическая часть

Исследования антиоксидантных свойств I, II и фитатов ксимедона (VII) *in vitro* проводили на цельной консервированной крови в соответствии с ГОСТами [17 – 19], оценка активности супероксиддисмутазы (СОД) проведена по методу Т. В. Сироты [20]. Выборка (биологическая повторность) состояла из 10 доноров. Кровь, полученную от каждого донора (по 25 мл), разделяли на 4 порции (одну интактную и 3 опытных). Предварительный выбор концентраций I и VII для введения в кровь проводили в соответствии с методикой [2] по обесцвечиванию Fe(III) -катехольного комплекса при взаимодействии Fe^{3+} с хелаторами.

В первую опытную порцию крови прибавляли 0,5 мл водного раствора II (0,0086 мг/мл), во вторую — водный раствор кислоты I (0,0056 мг/мл), в третью — водный раствор комплекса VII (0,007 мг/мл) при молярном соотношении I:II = 1:6. Экспозиция после воздействия составляла 5 мин. Аналитическая повторность равнялась 3.

Величину общей антиоксидантной активности определяли с помощью регистрации хемилюминесценции, индуцированной железом и пероксидом водорода, на приборе БХЛ-06. Фиксировали величину I_{max} (мВ), характеризующую максимальную вспышку хемилюминесценции; S (мВ) — суммарную хемилюминесценцию за 30 с; $\text{tg}\alpha_2$, показывающий скорость нормализации процессов свободно-радикального окисления; I_{max}/S — фактор антиоксидантной активности.

Анализ содержания первичных продуктов пероксидного окисления липидов (ПОЛ) — диеновых конъюгатов (ДК) и триеновых конъюгатов (ТК) — проводили в метанол-гексановой фазе экстракта липидов при длине волны 232 и 275 нм. Определение конечных продуктов — оснований Шиффа (ОШ) — методом флуоресценции при длине волны возбуждения 365 нм и длине волны эмиссии 420 нм [15].

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью программы Statistica 7.0.

Результаты и их обсуждение

Кислота I, как относительно сильная органическая кислота (рКа от 0,5 до 2,0), способна вступать в реакции с переносом протона с образованием различных комплексов, в том числе солевых, нековалентных молекулярных, Н-комплексов и др., с II — слабым органическим основанием. Методом потенциометрического титрования показано, что кривая $\text{pH} = f(V_{\text{Кси}})$ отражает характер титрования сильной кислоты слабым основанием (рН исходного 5 % раствора I равен 2,1) (рис. 2). Зависимость $\text{pH} = f(V_{\text{Кси}})$ имеет несколько неявно выраженных ступеней, аналогичных кривым титрования полифосфорных кислот. При рассмотрении кривой титрования как плавной (без учёта незначительных скачков) в первом приближении можно оце-

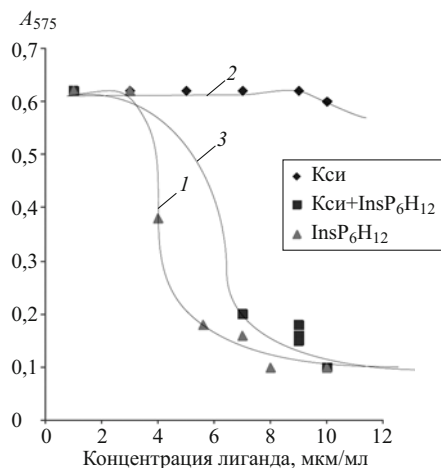


Рис. 1. Взаимодействие железо-катехольного комплекса с лигандами: 1 — I (на рисунке $\text{InsP}_6\text{H}_{12}$); 2 — II (на рисунке Кси); 3 — комплексом VII (Кси + $\text{InsP}_6\text{H}_{12}$). Концентрация II выбрана на основе работ Измайлова [14].

нить рКа сопряженной кислоты $[\text{HP}^+]\text{X}^-$, где X^- — анион I, как точку 1/2 скачка рН. Приближенная оцен-

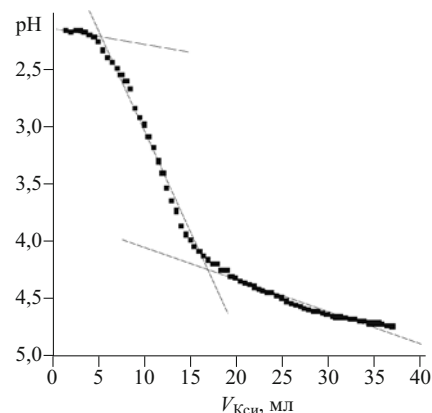
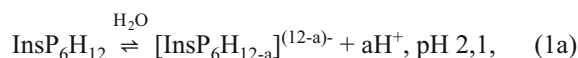


Рис. 2. Зависимость $\text{pH} = f(V_{\text{Кси}})$ при титровании 5 % раствора I 20 % раствором (Кси).

ка рКа с использованием полученных данных даёт величину рКа, равную 3,25.



где a — число протонов, образованных в результате диссоциации.

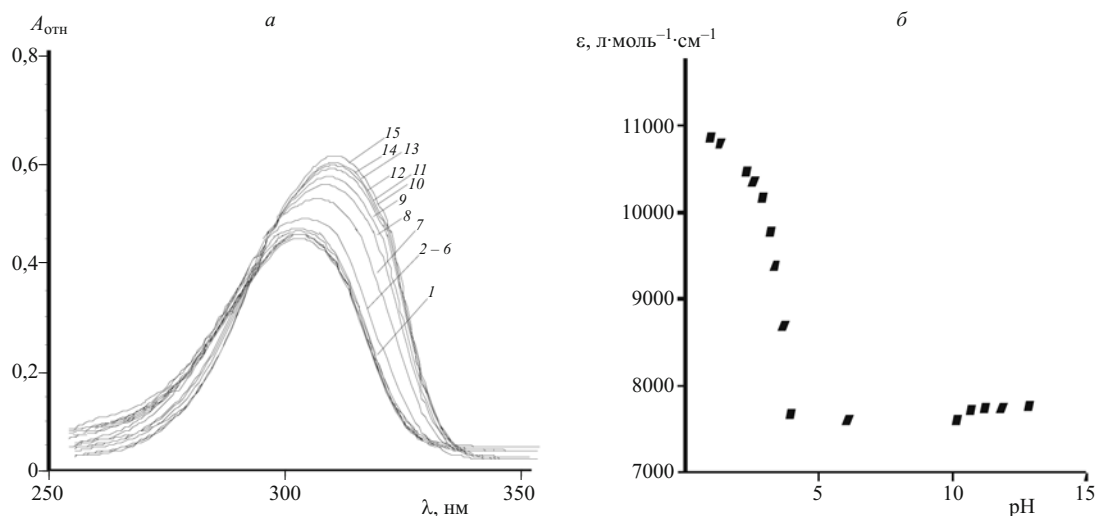


Рис. 3. Данные УФ-спектров поглощения $5,9 \cdot 10^{-5}$ М раствора II в водных растворах при различных рН (табл. 1): а) $A = f(\lambda)$; б) $\epsilon = f(\text{pH})$.

Номер кривой	рН раствора	λ , нм	$A_{\text{отн}}$	ϵ , л · моль ⁻¹ · см ⁻¹
1	6,12	299,7	0,4500	7627
2	10,16	299,8	0,4487	7605
3	10,67	299,8	0,4563	7733
4	11,24	299,8	0,4575	7754
5	11,86	299,7	0,4578	7759
6	12,86	299,7	0,4666	7780
7	3,99	302,8	0,4524	7667
8	3,72	305,3	0,5125	8686
9	3,40	307,0	0,5541	9391
10	3,22	307,6	0,5769	9777
11	2,92	308,1	0,6003	10173
12	2,62	308,5	0,6111	10357
13	2,31	308,7	0,6177	10469
14	1,33	308,8	0,6365	10788
15	1,00	309,0	0,6412	10868

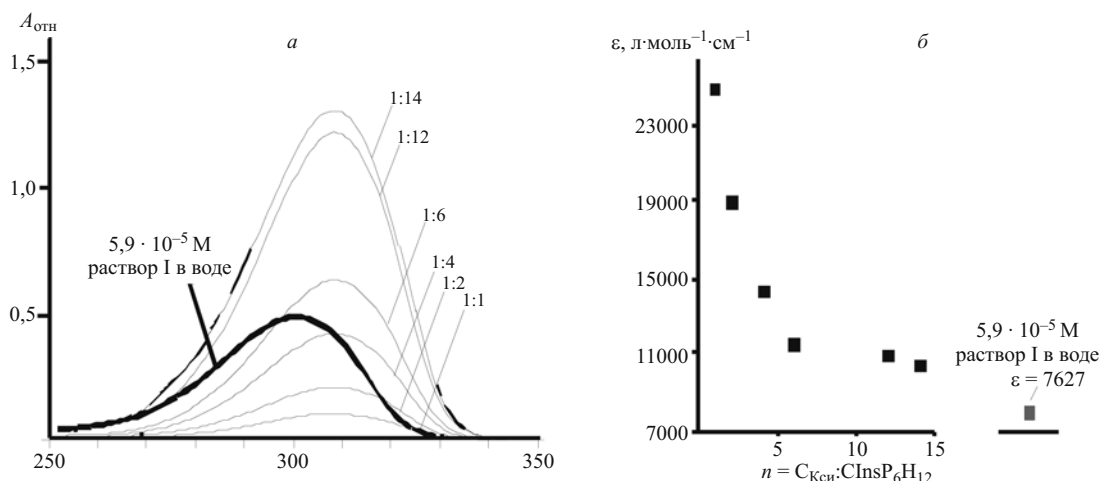
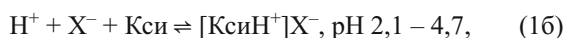


Рис. 4. УФ-спектры поглощения $1 \cdot 10^{-5}$ М растворов I и II при различных молярных соотношениях n : а) $A = f(\lambda)$; б) $\epsilon = f(n)$.

№ кривой	$C_{II}, M \cdot 10^5$	$n = C_{II}:C_I$	$A_{opt} \cdot 10^5$	λ_{max}, nm	$\epsilon, l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$
1	1,10	1:1	0,2758	309,6	25073
2	2,05	2:1	0,3935	309,2	19195
3	4,03	4:1	0,5941	309,1	14742
4	6,02	6:1	0,7075	309,0	11752
5	12,01	12:1	1,3414	309,1	11169
6	14,01	14:1	1,5096	309,1	10775
7	5,90	–	0,4500	299,9	7627



где X^- — условно обозначен как фитат-анион.

Сопряженная кислота образуется как по реакции переноса протона от диссоциированной I в исходном водном растворе (1а) ($I — InsP_6H_{12}$, уравнение 1б и 2: $K_{ci} — 2$), так и, вероятно, по другим механизмам, таким как нековалентное связывание другого гидроксильного в фосфатной группе и взаимодействие за счёт водородных связей и электростатических сил [21].

Расчёт величины pK_a для катиона PH^+ , образующегося при взаимодействии с кислотой I в водной среде, был выполнен при сравнении данных растворения II и его гидрохлорида ($[PH^+]Cl^-$) в водной среде, содержащей хлористоводородную кислоту и I, методами УФ- и ЯМР-спектроскопии. Из рис. 3, а, б видно, что в кислых средах наблюдается bathochromic shift длины волны поглощения $C=O$ группы у II с 299,9 нм (вода) до 309,0 нм, а в щелочных средах в присутствии NaOH

максимум положения полосы остаётся неизменным, при этом интенсивность поглощения резко увеличивается с ростом рН.

Интенсивность переноса протона при взаимодействии II с HCl оценивали по кажущимся молярным коэффициентам экстинкции ϵ , рассчитанным в соответствии с уравнением Бугера-Ламберта-Бера и известными соотношениями (рис. 3, б) [22].

Кривая $\epsilon = f(pH)$ для II и $[PH^+]Cl^-$ имеет резкий скачок в интервале от 1 до 4, совпадающий с интервалом изменения рН на кривой потенциометрического титрования I с II, но обладает более пологим переходом (рис. 2, 3, б).

Величину $pK_{K_{ci}H^+}$ для II · HCl рассчитывают по уравнению:

$$pK_{K_{ci}H^+} = pH - \lg \frac{\epsilon - \epsilon_{K_{ci}H^+}}{\epsilon_{K_{ci}} - \epsilon}, \quad (2)$$

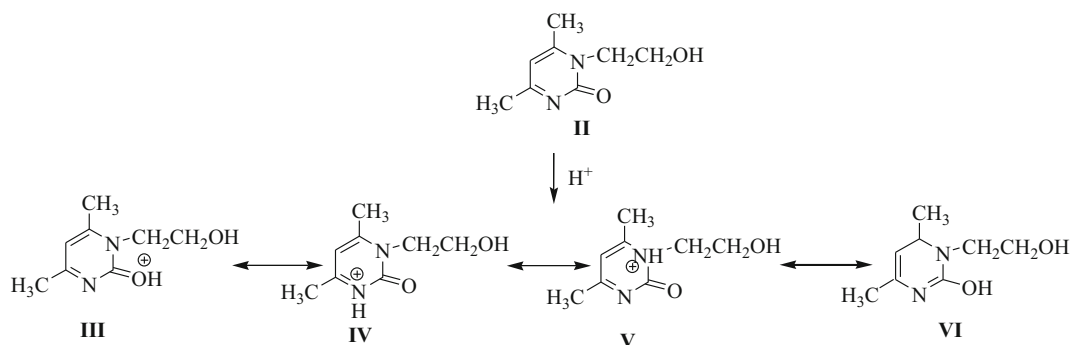


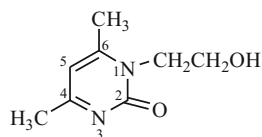
Рис. 5. Возможные структуры протонированного ксимедона.

ее значение равно 3,25, что совпадает с величиной $pK_{\text{КСИН}^+}$, полученной по результатам потенциометрического титрования I с II.

УФ-спектральные исследования взаимодействия II с I показали, что даже при значительном молярном избытке II:I = 14:1 в спектре наблюдалась только основная полоса с $\lambda_{\text{max}} = 309$ нм, характерная для протонированной формы II (рис. 4).

Этот результат может быть объяснен возможностью образования различных структур протонированной формой II (III, IV, V, VI рис. 5), а также склонностью $[\text{ПН}^+]\text{X}^-$ образовывать циклические структуры за счет водородных (внутри- и межмолекулярных) связей.

Данные ЯМР спектров II, II · HCl и VII (D₂O)



Группа	Соединение	ЯМР, δ, м.д.	
		¹³ C	¹ H
CH ₃ (6)	II	20,1	2,29
	ПН ⁺ хлорид	19,4	2,56
	VII	19,5	2,55
CH ₃ (5)	II	23,1	2,47
	ПН ⁺ хлорид	21,7	2,74
	VII	23,6	2,71
N-CH ₂ (1)	II	47,9	3,89
			3,86
			3,84
	ПН ⁺ хлорид	49,4	3,96
			3,93
			3,91
	VII	49,4	3,91
		3,92	
CH ₂ -OH	II	58,4	4,16
			4,14
			4,11
	ПН ⁺ хлорид	57,8	4,35
			4,33
		4,30	
	VII	57,8	4,30
			4,31
			4,32
CH	II	108,3	6,48
	ПН ⁺ хлорид	108,3	6,84
		108,2	6,82
C=C (4)	II	160,6	—
	Кси ПН ⁺ хлорид	172,1	—
	VII	171,9	—
C=C (6)	II	157,9	—
	Кси ПН ⁺ хлорид	168,5	—
	VII	168,4	—
C=O (2)	II	175,5	—
	Кси ПН ⁺ хлорид	149,0	—
	VII	148,9	—

Таблица 1

Нами выделен VII из концентрированных растворов смесей II и I при избытке II от 1:6 до 1:12 последовательным осаждением пропанолом-2. Полученный пушистый белый твердый продукт и стандартный образец гидрохлорида II были проанализированы методами ¹H, ¹³C ЯМР и ИК-спектроскопии (табл. 1).

Из данных ¹³C ЯМР спектров следует, что наиболее существенные изменения наблюдаются у атомов углерода карбонильной группы соединений VII и гидрохлорида II по отношению к II. Разница в значениях химических сдвигов атомов углерода II и его гидрохлорида в этой области составила почти 25 м. д. В целом, следует отметить, что сигналы ¹H и ¹³C ЯМР в спектрах VII и гидрохлорида II практически совпадают, но отличаются от исходного II.

Наличие этих изменений в спектре VII свидетельствует о том, что образующееся комплексное соединение II содержит катионную часть, структура которой аналогична таковой в гидрохлориде II.

В ИК-спектрах твердого осадка, выделенного из реакционной смеси I и II, содержатся все валентные колебания протонированной формы II.

Кроме того, в спектрах выявлены полосы валентных колебаний С-О (эфирной) связи — 1130–1030 см⁻¹; появляются полосы, характерные для аниона I, отражающие колебания Р-О связи 889 см⁻¹ со сдвигом Δν в продукте относительно исходной I [23], равным 2 см⁻¹. Колебания фосфорильной группы проявлялись в виде полосы 1130 см⁻¹, а также в области 1616 см⁻¹, в отличие от валентных колебаний I (1643 см⁻¹), Δν = 27 см⁻¹.

В водных растворах при избытке II, вероятно, могут образовываться ионные и Н-ассоциированные агрегаты, в которых катионоидная часть представлена протонированной формой II. Такие ассоциаты известны для комплексов II с каликс[4]резорцидинами, образующимися по типу “гость-хозяин” [24]. Можно предположить, что в ассоциированных комплексах VII роль “хозяина” выполняет I (рис. 6).

Доказательством сохранения структуры цикла I, как носителя 6 фосфатных групп в VII, является эксперимент с реактивом Вэйда, в котором сульфосалицилатный комплекс Fe(III) способен количественно взаимодействовать с фосфатными группами гексакисфосфата миоинозита (табл. 2) [11].

Таблица 2

Анализ I с реактивом Вэйда в смесях с II			
I:II	конц. II, мМ	A _{тек}	A ₀ - A _{тек}
1:1	300	0,3307	0,2132
1:2	600	0,3320	0,2119
1:3	900	0,3284	0,2155
1:6	1800	0,3309	0,2130
1:10	3000	0,3279	0,2160
1:12	3600	0,3291	0,2148
1:14	4200	0,3314	0,2124
1:0 (контроль I)	0	0,3288	0,2151

A₀ — оптическая плотность реагента в отсутствие I, A₀ = 0,5439.

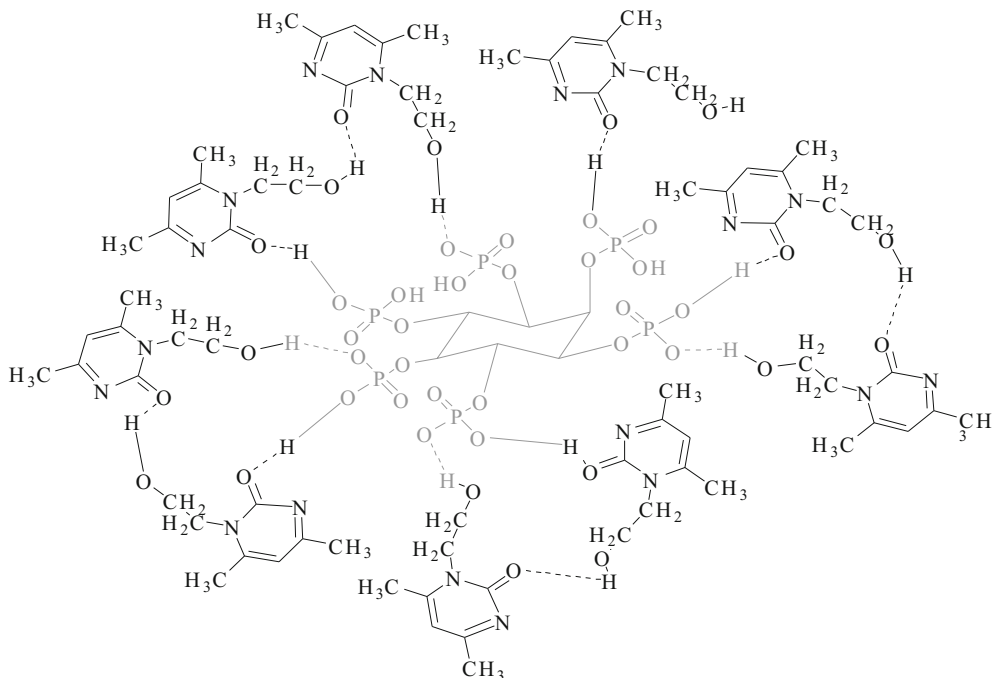


Рис. 6. Предполагаемая структура ионных и Н-ассоциированных агрегатов I и II.

Результаты, полученные с реактивом Вэйда, позволяют прогнозировать такие же высокие антиоксидантные свойства комплексов I с II, как и I в живом организме за счёт связывания фитатами Fe^{2+}/Fe^{3+} (по типу реакции комплексообразования ионов металлов с ЭДТА), блокируя тем самым генерацию разнообразных активных форм кислорода [2, 25, 26], участвующих в процессах ПОЛ. Принципиально эта схема изучена с помощью реакции Фентона *in vitro* на гомогенате слизистой оболочки толстой кишки крыс линии Вистар [5].

Основным объяснением антиоксидантного действия I является способность ингибировать ксантиноксидазу — фермент, содержащий прочно связанное железо, не координированное с ядром гема [4, 27]. Авторами работы [4] на гомогенате кишечника крыс установлено, что образование мочевой кислоты из ксантина и генерация супероксида ($O_2^{\bullet-}$) существенно тор-

мозятся под действием 6 мМ I. Кроме того, антиоксидантный эффект I усиливается за счёт активирования СОД, способствующей переходу ксантиноксидазы в ксантиндегидрогеназу, не инициирующую ПОЛ.

Можно полагать, что в водных растворах VII будут не только сохранять антиоксидантные свойства, присущие фитиновой кислоте I, но и усиливать этот эффект за счёт индуцирования с помощью II активности оксидаз печени. В связи с вышеизложенным осуществлена оценка общей антиоксидантной активности VII, включающая их влияние на активность СОД.

На рис. 7 приведены результаты интенсивности свободно-радикального окисления (СРО), инициируемого реакцией Фентона, рассчитываемые по результатам хемилюминесценции (табл. 3). Отношение $S_{\text{образца}}/S_{\text{контроля}}$ в процентах условно обозначено нами как ПОЛ.

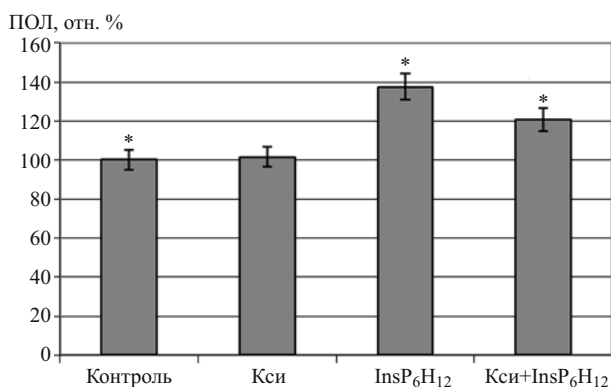


Рис. 7. Влияние исследуемых растворов (I — $InsP_6H_{12}$, II — Кси и комплекса VII — $InsP_6H_{12}$) на интенсивность ПОЛ в плазме крови; * — уровень статистической значимости различий $p < 0,05$ в процентах по сравнению с контролем.

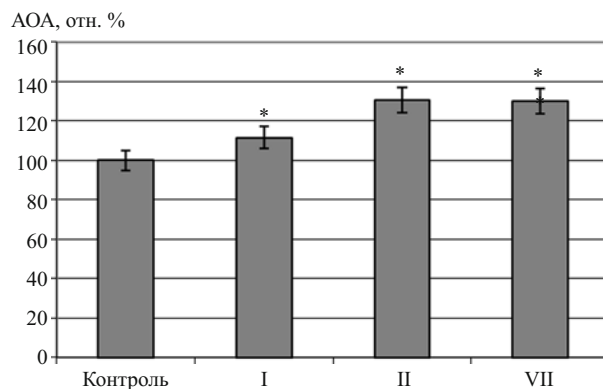


Рис. 8. Общая антиоксидантная активность плазмы крови при действии исследуемых растворов I, II, VII. * — уровень статистической значимости различий $p < 0,05$ в процентах относительно контроля.

С учетом способности I выступать в качестве хелатора к ионам железа (Fe^{2+} и Fe^{3+}) в реакции Фентона показатели S и I_{max} будут отражать конкурентные процессы липопероксидации и дополнительную хемиллюминесценцию, вызванную фитатами железа. По этой причине более целесообразно привлечь величину $tg\alpha_2$, показывающую скорость нормализации СРО, как характеристику антиоксидантной активности (АОА). В работе использован показатель $tg\alpha_{2\text{образца}}/tg\alpha_{2\text{контроля}}$ в процентах (рис. 8).

На основании данных биохемиллюминесцентного исследования образцов крови показано, что комплекс I и II умеренно повышает интенсивность ПОЛ в плазме крови (на 21 %; $p < 0,05$), тогда как под действием только I указанный показатель возрастает более выражено (на 38 %; $p < 0,05$). Следует отметить, что при этих же условиях раствор II практически не изменяет значение рассматриваемого параметра по сравнению с контрольным уровнем (рис. 7).

Установлено, что комплекс VII, как и сама I, проявляют максимальную АОА в плазме крови по сравнению с контролем, повышая ее на 31 и 30 % соответственно ($p < 0,05$ для обоих случаев). При действии водного раствора II данная тенденция выражена в меньшей степени (рис. 8). При этом нарастание уровня показателя происходит только на 11,3 % относительно интактного образца биологической жидкости, однако значение статистически значимо ($p < 0,05$).

Сопоставление динамики изменения АОА и ПОЛ позволило установить умеренную АОА II, реализующуюся за счет повышения АОА крови (на 11,3 %) при сохранении исходного уровня интенсивности процессов липопероксидации на фоне введения данного соединения в образцы крови *in vitro*. Это подтверждает результаты других авторов [14 – 16]. Подобные сдвиги окислительного метаболизма крови, по нашему мнению, характеризуют лишь временное увеличение пула антиоксидантов плазмы за счет экзогенно введенного вещества без инициации собственных механизмов.

Действие I способствует более сбалансированному нарастанию ПОЛ и АОА (на 37 и 30 % соответственно; $p < 0,05$), что, вероятно, характеризует адекватность ответа про- и антиоксидантных систем крови здорового человека при введении этого вещества.

Наиболее отчетливая динамика параметров выявлена для тестируемого водного раствора комплекса I и II. Выраженное превалирование его стимулирующего

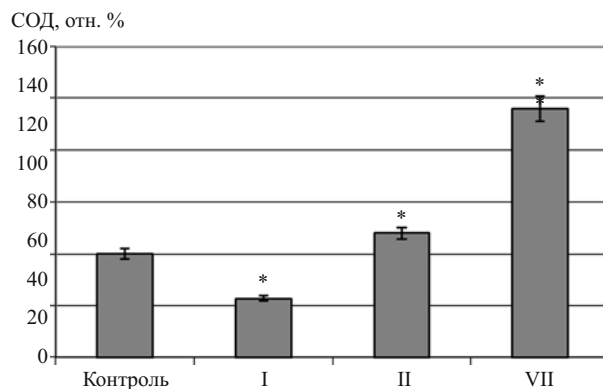


Рис. 9. Активность СОД крови при действии исследуемых растворов I, II, VII. * — уровень статистической значимости различий $p < 0,05$ в процентах относительно контроля.

действия на АОА над степенью инициации ПОЛ (увеличение уровня показателей на 20 и 30 % относительно контрольного образца; $p < 0,05$ для обоих случаев) позволяет охарактеризовать рассматриваемый комплекс как соединение, обладающее преимущественно антиоксидантным действием.

Следует учесть, что при использовании метода хемиллюминесценции для оценки АОА изменение показателей интенсивности ПОЛ, возможно, обусловлено ответной реакцией на интенсификацию СРО.

Исследования оценки АОА I и VII по таким показателям, как уровень первичных продуктов ПОЛ — ДК и ТК, а также по содержанию конечных продуктов ОШ, показали, что после добавления в систему I или VII наблюдалось снижение как первичных, так и конечных продуктов ПОЛ: достоверно снижение ДК и ТК соответственно на 24 и 42 %. Содержание конечных продуктов ПОЛ — ОШ снизилось на 46 % (табл. 4).

Приведенную тенденцию подтверждают и результаты оценки активности СОД (рис. 9), которые свидетельствуют о выраженной ее стимуляции (в 2,4 раза по сравнению с контролем; $p < 0,05$ для обоих случаев), не наблюдающейся при введении в образцы крови I в индивидуальном виде. Интересно, что II, напротив, способствует умеренному ингибированию активности этого фермента (на 43 % относительно контроля; $p < 0,05$), что может быть компенсаторным явлением на применение экзогенного соединения с антиоксидантными свойствами.

Т а б л и ц а 3

Показатели СРО плазмы крови

Опыт	Интенсивность СРО по Фентону (ПОЛ)			Скорость нормализации СРО (АОА)
	Светосумма вспышки (S), мВ · с	Интенсивность вспышки (I_{max}), мВ	$K = I_{max}/S$	$tg\alpha_2$
Контроль	9,7867 ± 0,0468	1,3117 ± 0,0393	0,1340 ± 0,0110	0,4200 ± 0,0630
I	13,4600 ± 0,0415	1,5293 ± 0,0327	0,1136 ± 0,0367	0,5473 ± 0,0438
II	9,9200 ± 0,0965	1,2177 ± 0,0107	0,1227 ± 0,0639	0,4667 ± 0,0058
VII	11,8000 ± 0,0420	1,3777 ± 0,0301	0,1167 ± 0,0443	0,5460 ± 0,0240

Таблица 4

Показатели ПОЛ плазмы крови по данным хемилюминесценции после воздействия II, I и VII

Группа	ДК	ТК	ОШ
Контроль	0,210 ± 0,011	0,041 ± 0,002	4,24 ± 0,69
I	0,201 ± 0,016	0,031 ± 0,003	3,18 ± 0,65
VII	0,160 ± 0,011*	0,023 ± 0,010*	2,17 ± 0,51*

* Достоверность различия по сравнению с состоянием больных до лечения ($p \leq 0,05$).

Таким образом, взаимодействие фосфорилированного инозита со слабым основанием, производным 1-(β-оксиэтил)-4,6-диметил-1,2-дигидро-2-оксопиримидина (ксимедоном) в водном растворе приводит к образованию сложных ионных и H-ассоциированных комплексов VII, в которых катионоидной частью является протонированная форма II, аналогичная структуре катионоидного фрагмента в гидрохлориде II (ИК-УФ-¹H и ¹³C ЯМР спектроскопия и потенциометрическое титрование).

Результаты проведенных исследований *in vitro* в плазме крови человека показывают синергетический эффект действия I и II в водном растворе VII по таким показателям, как общая АОА и активация каталитической активности СОД.

ЛИТЕРАТУРА

1. E. Graf, K. L. Empson, and J. W. Eaton, *J. Biolog. Chem.*, **262**, 11647 – 11650 (1987).
2. Ph. T. Hawkins, D. R. Poyner, T. R. Jackson, et al, *J. Biochem.*, **294**, 929 – 934 (1993).
3. К.-М. Lee, Н.-S. Kang, С.-Н. Yun, et al., *Biomol. Ther.*, **20**(5), 492 – 498 (2012).
4. S. Muraoka and T. Miura, *Life Sci.*, **74**, 1691 – 1700 (2004).
5. J. Khatiwada, M. Verghese, Sh. Davis, et al., *J. Med. Food*, **14**(11), 1313 – 1320 (2011).

6. A. Zajdel, A. Wilczok, L. Wglarz, et al., *BioMed Res. International*, 2013, 6 p. (2013).
7. A. M. Shamsuddin and G. Y. Yang, *Carcinogenesis*, **16**, 1975 – 1979 (1995).
8. A. M. Shamsuddin, G. Y. Yang, and I. Vucenic, *Anticancer Res.*, **16**, 3287 – 3292 (1996).
9. J. A. Maga, *J. Agric. Food Chem.*, **30**, 1 – 9 (1982).
10. L. U. Thompson, *Food Res. International*, **26**, 131 – 149 (1993).
11. S. Yu, A. Cowieson, C. Gilbert, et al., *J. Anim. Sci.*, **90**, 1824 – 1832 (2012).
12. C. De Stefano, *Chem. Speciation Bioavailab.*, **15**(2), 29 – 36 (2002).
13. S. E. Rickard and L. U. Thompson, *Antinutrients Phytochem. Food*, **1**, 294 – 312 (1997).
14. С. Г. Измайлов, Г. А. Измайлов, М. Ю. Аверьянов, В. С. Резник, *Ксимедон в клинической практике*, НГМА, Н. Новгород (2001).
15. В. И. Погорельцев, В. Ю. Терещенко, А. А. Чиркин и др., *Казанский мед. ж.*, **86**(4), 346 – 348 (2005).
16. В. И. Погорельцев, Ю. Я. Ефремов, Д. Р. Шарафутдинова и др., *Нижегородский мед. ж.*, **2**, 228 – 231 (2005).
17. ГОСТ Р ЕН 13641–2010. Введ. 2012–01–01, Стандартинформ, Москва (2011).
18. ГОСТ Р ИСО 22442–1–2011. Введ. 2012–03–01, Стандартинформ, Москва (2011).
19. ГОСТ Р ИСО 22442 – 2–2011. Введ. 2012–03–01, Стандартинформ, Москва (2011).
20. Т. В. Сирота, *Вопросы мед. химии*, **3**, 263 – 272 (1999).
21. M. Sala, D. Makus, J. Kolar, et al., *Carbohydrate Res.*, **346**, 488 – 494 (2011).
22. О. В. Свердлова, *Электронные спектры в органической химии*, Химия Ленинград (1985), сс. 182 – 183.
23. L. D. Carli, E. Schnitzler, M. Ionashiro, et al., *J. Braz. Chem. Soc.*, **20**(8), 1515 – 1522 (2009).
24. Ю. Э. Морозова, Я. В. Шалаева, Н. А. Макаров и др., *Известия РАН. Сер. хим.*, **1**, 1 – 6 (2009).
25. P. Kwanyuen and J. W. Burton, *J. AOCS*, **1**, 80 – 81 (2005).
26. С. Д. Иванов, *Успехи совр. биол.*, **133**(5), 481 – 494 (2013).
27. Д. Е. Мецлер, *Биохимия. Химические реакции в живой клетке*, Т. 2, А. Е. Браунштейн, Л. М. Гиномдан, Е. С. Северин (ред.), Мир, Москва (1980), сс. 609 – 610.

Поступила 19.03.14

ACID-BASE AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF PHYTIC ACID – XYMEDONE COMPLEXES IN SOLUTION

M. V. Sidorova¹, A. K. Martusevich², A. G. Solov'eva², S. P. Peretyagin², A. R. Dorofeeva¹, L. N. Nistratova¹, and N. B. Mel'nikova¹

¹ Nizhni Novgorod State Medical Academy, Nizhni Novgorod, 603600 Russia

² Nizhni Novgorod Research Institute of Traumatology and Orthopedics, Ministry of Public Health of Russian Federation, Nizhni Novgorod, 603150 Russia

Using the methods of IR, UV, ¹H- and ¹³C-NMR spectroscopy and potentiometric titration, it has been shown that the interaction of myo-inositol hexakisphosphate (InsP 6H 12) and 1-(β-oxyethyl)-4,6-dimethyl-1,2-dihydro-2-oxopyrimidine (xymedone) in aqueous solution proceeds via the stage of proton transfer with the formation of ion- and H-associated complexes. The results of *in vitro* studies in human blood plasma show evidence of synergistic effects of the antioxidant activity and SOD activation by phytic acid and xymedone in xymedone phytate complexes.

Keywords: phytic acid; xymedone; xymedone phytate; proton transfer reaction; antioxidant activity.