

PACS numbers: 82.35.Rs, 82.37.Rs, 82.45.Wx, 82.45.Yz, 87.14.Pq, 87.80.-y, 87.85.Rs

Антиоксидантные свойства гуминовых кислот в процессах радикально-цепного окисления

О. В. Смирнова, И. В. Ефимова, С. Л. Хилько, И. А. Опейда,
В. И. Рыбаченко

*Институт физико-органической химии и углехимии им. Л. М. Литвиненко
НАН Украины,
ул. Р. Люксембург, 70,
83114 Донецк, Украина*

Газоволюмометрическим методом доказано, что гуминовые кислоты из бурого угля проявляют выраженные антиоксидантные свойства, являясь эффективными ингибиторами инициированного радикально-цепного окисления углеводородов (кумол и этилбензол). Это позволяет рекомендовать гуминовые кислоты для применения в медицине как перспективные наноразмерные антиоксиданты и биологически активные природные полимеры для разработки новых классов лекарственных препаратов и новых наноматериалов.

Газоволюмометричною методою доведено, що гумінові кислоти з бурого вугілля виявляють виражені антиоксидантні властивості й є ефективними інгібіторами ініційованого радикально-ланцюгового окиснення вуглеводнів (кумол і етилбензол). Це дозволяє рекомендувати гумінові кислоти для застосування в медицині як перспективних нанорозмірних антиоксидантів і біологічно активних природніх полімерів для розроблення нових класів лікарських препаратів і нових наноматеріалів.

As proved by gas-volumetric method, the humic acids from lignite exhibit antioxidant properties, being effective inhibitors of initiated radical-chain oxidation of hydrocarbons (cumene and ethylbenzene). This allows us to recommend the humic acids for use in medicine as promising nanoscale antioxidants and biologically active natural polymers for development of new classes of medicinal preparation and new nanomaterials.

Ключевые слова: газоволюмометрический метод, гуминовые кислоты, бурый уголь, антиоксиданты.

(Получено 19 октября 2010 г.)

1. ВВЕДЕНИЕ

Поиск новых сырьевых ресурсов биологически активных веществ природного происхождения и разработка на их основе новых биодоступных лекарственных препаратов является актуальной задачей [1]. Большое внимание для медицинских целей уделяется природным источникам биологически активных веществ. Известно, что гуминовые кислоты (ГК) из торфа и бурого угля обладают выраженной биологической активностью (гепатопротекторные, антигипоксические, антиоксидические и др. свойства) [2]. Известно, что антиоксидантная активность является одним из фармакологических тестов для биологически активных веществ. Наличие активных кислых групп в макромолекулах ГК ($-\text{COOH}$, $-\text{OH}$) предполагает их способность к антиоксидантному действию.

Цель работы — исследование антиоксидантной активности гуминовых кислот в процессах радикально-цепного окисления модельных ароматических углеводородов.

2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Гуминовые кислоты получали из аналитической пробы бурого угля Александрийского месторождения (Украина) однократной экстракцией раствором NaOH ($C_{\text{NaOH}} = 0,1 \text{ н}$) при соотношении твёрдой и жидкой фаз 1:8 и температуре 20°C . Затем из «сырого» экстракта получали нерастворимые в воде ГК осаждением 5% раствором HCl , который добавляли при постоянном перемешивании до pH 1-2. Выпавший осадок ГК отделяли от надосадочной жидкости центрифугированием. Осадок промывали дистиллированной водой до нейтральной реакции среды (pH 6–7). Промытые гуминовые кислоты сушили в сушильном шкафу при $t = 80^\circ\text{C}$ до постоянной массы. Средняя молекулярная масса, полученных таким способом образцов ГК, составляет примерно 20000 [3].

Было исследовано поведение гуминовых кислот в качестве ингибитора радикально-цепного процесса окисления в органической среде. В качестве модельной системы было выбрано инициированное жидкофазное окисление кумола и этилбензола, для которых механизм действия и все элементарные стадии хорошо известны [4]. Изучали инициированное азодиизобутиронитрилом (АИБН) жидкофазное окисление кумола и этилбензола в среде диметилсульфоксида (ДМСО) [5] в присутствии гуминовой кислоты в широком диапазоне её концентраций. За кинетикой процесса окисления следили газовольюметрически, измеряя количество поглощённого кислорода при постоянной температуре 75°C и постоянном парциальном давлении кислорода 760 мм.рт.ст. на установке, описанной в [6]. Процесс выполняли в кинетической области, где скорость

реакции не зависит от скорости перемешивания. В работе использовали азодиизобутиронитрил, кумол, этилбензол, диметилсульфоксид, очищенные по методикам, приведённым в [7]. Концентрация кумола в исследуемой системе составляла 3,59 моль/л, азодиизобутиронитрила — $2,00 \cdot 10^{-2}$ моль/л, этилбензола — 4,09 моль/л, гуминовой кислоты — 0–10,0 г/л.

3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Гуминовые кислоты относят к классу высокомолекулярных ароматических полиоксиполикарбоновых кислот, которые являются природными полиэлектролитами. Макромолекулы ГК состоят из центральной части, которая содержит ароматический углеродный скелет, и периферическую часть, обогащённую функциональными группами. Приведённый на рис. 1 вероятный молекулярный фрагмент периферической части гуминовых кислот по *Stevenson F.J.* [8] содержит все важнейшие структурные составляющие. По данным [9] размер молекулы ГК составляет примерно 18 нм.

Как видно из рис. 2, добавление гуминовой кислоты к окисляемой смеси кумол–АИБН–ДМСО приводит к понижению скорости поглощения кислорода системой на протяжении всего времени эксперимента, причём, с увеличением концентрации ГК в смеси скорость окисления системы существенно уменьшается. Так, система кумол–АИБН–ДМСО поглощает кислород со скоростью $2,77 \cdot 10^{-6}$ моль·л⁻¹·с⁻¹. Введение ГК в количестве 0,1 г/л в реакционную смесь практически не влияет на величину скорости окисления. При [ГК] = 1,0 г/л величина скорости поглощения кислорода системой уменьшается до $1,72 \cdot 10^{-6}$ моль·л⁻¹·с⁻¹, а при [ГК] = 10,0 г/л процесс окисления системы прекращается.

Аналогичный эффект влияния концентрации ГК на скорость поглощения кислорода наблюдается и для системы, где окисляемым субстратом был этилбензол.

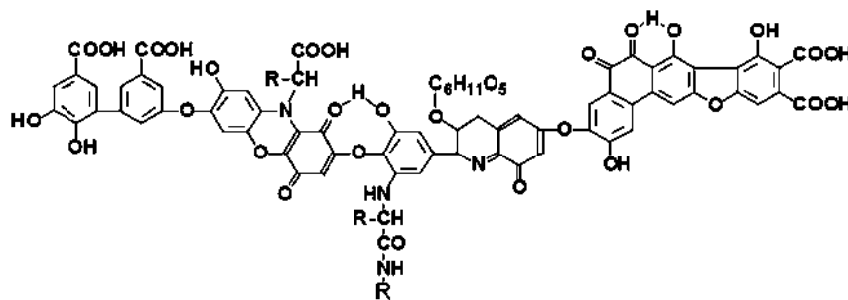


Рис. 1. Схема строения периферической части макромолекулы гуминовой кислоты по *Stevenson F.J.* [7].

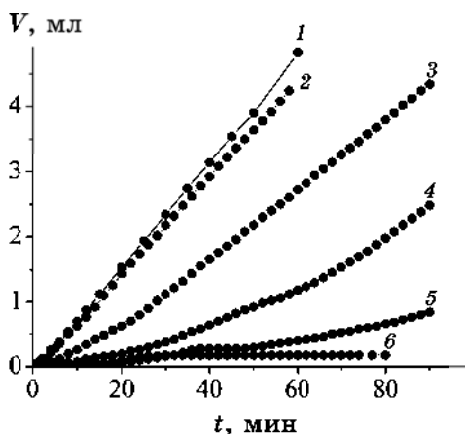


Рис. 2. Кинетические кривые окисления кумола в присутствии гуминовой кислоты при варьировании её концентрации, [ГК], г/л: 1 — 0; 2 — 0,1; 3 — 1,0; 4 — 2,0; 5 — 5,0; 6 — 10,0.

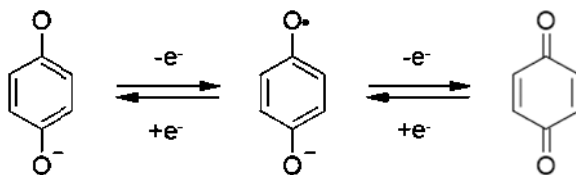
На рисунке 3 представлены кинетические параметры окисления исследуемых систем от концентрации гуминовой кислоты. Показанные на рис. 3, *a* логарифмические анаморфозы хорошо описываются линейным уравнением (1), параметры которого определены для обоих субстратов и представлены в таблице:

$$\ln W = aC_{\text{ГК}} - b, \quad (1)$$

где $\ln W$ — логарифм скорости поглощения кислорода системой; $C_{\text{ГК}}$ — концентрация гуминовой кислоты, [ГК], г/л.

Изменение параметра *a* в уравнении (1) для разных субстратов может быть связано со структурой данных субстратов и, соответственно, с их способностью к окислению.

В работах [10, 11] предполагается, что ответственными за реакции переноса электрона с участием макромолекул гуминовых кислот являются хиноидные фрагменты, которые при одноэлектронном восстановлении образуют свободные радикалы (семихиноны). Схема окислительно-восстановительного взаимодействия хинонов:



Помимо хиноидных фрагментов, вклад в окислительно-восстановительную ёмкость гуминовых кислот могут вносить и фенольные гидроксилы, которые окисляются до феноксильных ради-

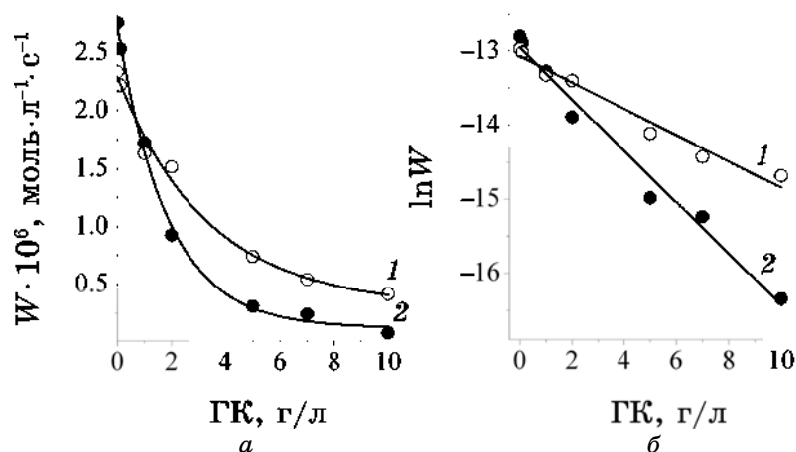


Рис. 3. Кинетические параметры окисления углеводородных систем: *a* — зависимость скорости поглощения кислорода $W \cdot 10^6$, моль \cdot л $^{-1}$ \cdot с $^{-1}$, от концентрации гуминовой кислоты, [ГК], г/л; *b* — зависимость логарифма скорости поглощения кислорода ($\ln W$) от концентрации гуминовой кислоты, [ГК], г/л. 1 — система кумол–АИБН–ДМСО–ГК; 2 — система этилбензол–АИБН–ДМСО–ГК.

ТАБЛИЦА. Параметры уравнения (1) для разных объектов.

Субстрат	<i>a</i>	<i>b</i>	r^2 , коэффициент корреляции
Кумол этилбензол	-0,35	12,96	0,987
	-0,18	13,07	0,990

калов. Такое предположение выдвинуто в работе [12] на основании схожести зависимостей окислительно-восстановительной ёмкости от рН для фенолов и гуминовых кислот.

Известно [13], что большое количество биохимических реакций в живом организме протекает при участии свободных радикалов, которые обладают исключительно высокой химической активностью. При патологических процессах равновесие образования и утилизации свободных радикалов нарушается и приводит к резкому возрастанию их уровня в организме. При этом могут поражаться клеточные структуры, нарушаться процессы жизнедеятельности и др. Биологически активные вещества с антиоксидантной активностью способны нейтрализовать путём прямого взаимодействия различные формы активного кислорода и другие свободные радикалы, которые образуются в процессе метаболизма.

Присутствие в гуминовых кислотах хиноидных группировок, карбоксильных групп и фенольных гидроксильных групп (см. рис. 1) определяет их физиологическую активность [14]. Так, хиноидные

группировки, являясь катализаторами окислительно-восстановительных реакций, оказывают биологическое воздействие на ростовые процессы. Активные кислые группы в составе ГК влияют на адаптогенные свойства и на стойкость живого организма к кислородному голоданию. Кроме того, гуминовые вещества, являясь природными соединениями, доступны, безвредны, обладают минимальным количеством побочных эффектов и могут представлять альтернативный метод лечения различных заболеваний растительными средствами [15].

4. ВЫВОДЫ

Изучено инициированное жидкофазное окисление кумола и этилбензола кислородом в присутствии гуминовой кислоты.

Показано, что добавление ГК к реакционной смеси кумол–ДМСО–инициатор вызывает торможение процесса окисления углеводородного субстрата, причём, наблюдаемый эффект усиливается с увеличением концентрации ГК. В пользу кинетического режима протекания реакции свидетельствуют полученные линейные анаморфозы зависимости скорости окисления углеводорода от концентрации ГК. При замене кумола на этилбензол наблюдаемые закономерности сохраняются. Это значит, что гуминовая кислота из бурого угля является эффективным ингибитором радикально-цепного окисления, т.е. проявляет выраженные антиоксидантные свойства.

Высокая антиоксидантная активность гуминовых кислот позволяет использовать их в медицине как перспективные наноразмерные антиоксиданты природного происхождения и как основа для разработки новых классов лекарственных препаратов и новых наноматериалов для биомедицинских целей.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Л. И. Валугев, Т. А. Валугева, Н. А. Платэ, *Успехи биол. наук*, **43**: 307 (2003).
2. М. В. Гостищева, *Химико-фармакологическое исследование нативных гуминовых кислот торфов Томской области* (Автореферат дис. ... канд. фарм. наук) (Пермь: 2008).
3. М. Н. Ребачук, Л. С. Степаненко, О. Б. Максимов, *Химия тверд. топлива*, № 2: 10 (1972).
4. И. А. Опейда, Р. В. Кучер, *Укр. хим. журн.*, **36**: 1040 (1970).
5. О. В. Смирнова, И. В. Ефимова, И. А. Опейда, *Журнал приклад. химии*, **82**, вып. 1: 99 (2009).
6. Н. М. Эмануэль, Г. Е. Заиков, З. К. Майзус, *Роль среды в радикально-цепных реакциях окисления органических соединений* (Москва: Наука: 1973).
7. W. L. F. Armarego and C. L. L. Chai, *Purification of Laboratory Chemicals* (Amsterdam–Boston: Elsevier Science & Technol.: 2003).
8. F. J. Stevenson, *Humus Chemistry. Genesis, Composition, Reactions* (New York:

- Wiley Interscience: 1982).
9. С. Г. Мамылов, О. И. Ломовский, Н. В. Юдина, *IV Всерос. конф. «Добыча, подготовка, транспорт нефти и газа»* (Томск: Изд-во ИОА СО РАН: 2007).
 10. С. Steelink and G. Tollin, *Biochim. Biophys. Acta*, **59**: 25 (1962).
 11. J. T. Nurmi and P. G. Tratnyek, *Environ. Sci. Technol.*, **36**: 617 (2002).
 12. A. Matthiessen, *Vom Vasser.*, **84**: 229 (1995).
 13. А. Ленинджер, *Биохимия* (Москва: Мир: 1974).
 14. С. Н. Чуков, В. Д. Талашкина, М. А. Надпорожская, *Почвоведение*, № 2: 169 (1995).
 15. И. В. Федько, М. В. Гостищева, Р. Р. Исмадова, *Химия растительного сырья*, № 1: 49 (2005).