

<https://doi.org/10.30857/2786-5371.2024.5.9>

УДК 547.22:
541.13:541.8:
541.127

¹ЄФІМОВА І. В., ¹СМИРНОВА О. В., ²БЕССАРАБОВ В. І.

¹Інститут фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України, Київ, Україна

²Київський національний університет технологій та дизайну, Україна

ВИВЧЕННЯ ДІЇ БІНАРНИХ АНТИОКСИДАНТНИХ КОМПОЗИЦІЙ З АСКОРБІНОВОЮ КИСЛОТОЮ НА МОДЕЛЬНИХ СИСТЕМАХ

Вступ. Проблематика створення антиоксидантних композицій з покращеними та більш ефективними властивостями набуває актуальності останні роки в зв'язку з ростом розповсюдження грипу, пневмонії та інших респіраторних захворювань, в основі механізму перебігу яких лежать вільнорадикальні процеси. Сумісне використання антиоксидантів сприяє більш ефективному пригніченню вільнорадикальної оксидатії ліпідів мембран (аскорбінова кислота з вітаміном Е, А, флаваноїдами, каротиноїдами, глутатіоном). Розуміння точних характеристик та властивостей природних біопротекторів поглиблює уявлення про базові механізми взаємодії між антиоксидантами. Використання модельних систем дає можливість досліджувати складні та багатогранні оксидатійні процеси, в яких *in vivo* приймає участь аскорбінова кислота. В якості модельних систем зручно використовувати радикально-ланцюгове окиснення органічних субстратів в апротонному середовищі – процес, в якому майже досконало вивчені всі елементарні стадії та отримані їх кінетичні параметри.

Мета. Встановлення фізико-хімічних закономірностей оксидатійних процесів у присутності антиоксидантних композицій аскорбінової кислоти з аніон-радикалом кисню, гуміновою та гіматомелановою кислотами, а також виявлення особливостей регулювання антиоксидантних та прооксидантних властивостей цих супрамолекулярних інгібуючих систем у радикально-ланцюгових процесах.

Методика. Методом вимірювання зміни поглиненого молекулярного кисню було досліджено ініційоване окиснення кумолу в апротонному середовищі в присутності антиоксидантних композицій аскорбінової кислоти з аніон-радикалом кисню, гуміновою та гіматомелановою кислотами.

Результати. В роботі, що представлена, на базі ініційованого радикально-ланцюгового процесу окиснення кумолу в апротонному середовищі (модельна система) досліджено антиоксидантну дію бінарних композицій аскорбінової кислоти з деякими представниками інгібіторів природного походження. Вивчено особливості перебігу окиснення модельної системи в присутності гумінових та гіматомеланових кислот, доведена їх антиоксидантна властивість. Спостерігалось посилення гальмівної дії гумінових речовин на процес оксидатії кумолу зі збільшенням їх концентрації в модельній системі. Також доведено, що зі збільшенням концентрації цих бінарних поєднань у досліджуваній системі протекторна ефективність посилюється. Досліджено вплив супрамолекулярної композиції аскорбінової кислоти та аніон-радикалу кисню на процес оксидатії модельної системи. Показано, що сумісна дія аскорбінової кислоти та супероксид аніону носить гальмівний характер, та цей ефект посилюється зі збільшенням концентрації антиоксидантного комплексу у досліджуваній системі.

Наукова новизна. Виявлено, що при окисненні модельної системи комплексна інгібівна дія антиоксидантної композиції аскорбінової кислоти та гумінових речовин з бурого вугілля має адитивний ефект. Індукційна дія, що викликана присутністю антиоксидантної композиції аскорбінової кислоти з супероксид аніоном, носить синергетичний характер, для якого знайдено оптимальне співвідношення кількості аніон-радикалу кисню та аскорбінової кислоти в антиоксидантній композиції для максимального синергетичного ефекту.

Практична значимість. Експериментально підтверджено медіаторну участь аніон-радикалу кисню в процесах окиснення модельної системи в присутності аскорбінової кислоти, що може зробити внесок у розуміння механізмів протікання багатьох патологічних станів, викликаних вільнорадикальними оксидатійними процесами. Доведено доречність використання приведеної модельної системи для подальшого вивчення антиоксидантної дії гумінових речовин та антиоксидантних композицій на їх основі.

Ключові слова: аскорбінова кислота; антиоксиданти; інгібування; синергізм; адитивність.

Вступ. Вільнорадикальні процеси окиснення, що відбуваються по ланцюговому механізму, є одним із способів існування біосистем та методом підтримування їх життєдіяльності. Перебіг окисдації в біологічних об'єктах визначається вільнорадикальним шляхом, регулювання якого здійснюється за допомогою одного або декількох інгібіторів.

Автори Levy et al. (2020) [12] вважають, що вільно-радикальні процеси відіграють важливу роль при зараженні COVID-19. Відтак в останній час зросла увага до антиоксидантів при лікуванні COVID-19 завдяки їх ймовірній здатності зупиняти запалення, з метою подолання синдрому вивільнення цитокінів активними формами кисню. Існує гіпотеза, що ефективність боротьби з новим коронавірусом підвищиться з використанням ліків з антиоксидантною активністю. Антиоксиданти природного походження, такі як аскорбінова кислота, астаксантин, поліфеноли, мелатонін, кверцетин, глутатіон мають широкий спектр застосування в експериментальних та клінічних дослідженнях онкології, пневмонії, грипу, та інших респіраторних захворювань (Du et al., 2012; Fiedor and Burda, 2014; Halliwell and Gutteridge, 2015) [2, 5, 7]. У дерматології вітамін С відомий через свою участь у синтезі колагену, а також через його антиоксидантну функцію, яка, зрештою, сприяє зменшенню старіння шкіри (Yilmaz and Toledo, 2004) [21].

Проте, щоб бути ефективними, антиоксиданти повинні залишатися у своїй неокисленій формі. Однак вітамін С є помірно сильним відновником, що робить його нестабільним у водних системах при високих значеннях рН. Він особливо схильний до окисної деградації, і у водних розчинах аскорбінова кислота легко розкладається з утворенням окислених форм, які не мають антиоксидантних властивостей. У результаті збереження стабільності антиоксиданту часто виявлялося складним завданням.

Автори (Fotia and Amorati, 2009) [6] наголошують, що у різних модельних системах (маргарини, лярди, рослинні олії) показано можливість уповільнення аскорбіновою кислотою (АК) радикально-ланцюгових процесів окиснення, виходячи з чого АК відносять до групи антиоксидантів. Водночас, за АК встоялося також визначення «прооксидант», що виникло з урахуванням її здатності прискорювати деякі вільнорадикальні реакції. А саме механізмом прооксидантної дії АК пояснюють відновленням іонів металів, утворенням перекису водню і вільного гідроксильного радикалу при окисненні самої АК. Вільні радикали утворюються також при реакції дегідроаскорбінової кислоти (ДАК) з ароматичними амінами і переносі електрона з моноаніону АК на феноксильні та інші радикали (Deronte, 2013) [3].

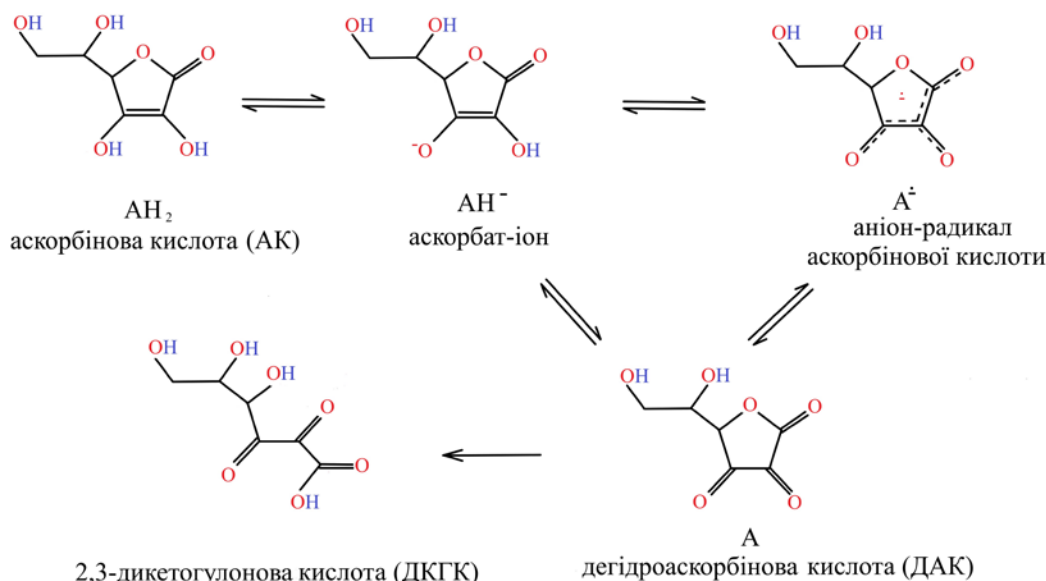
Проблема створення антиоксидантних композицій з покращеними та більш ефективними властивостями набуває актуальності останні роки в зв'язку з розповсюдженням грипу, пневмонії та інших респіраторних захворювань, в основі механізму перебігу яких лежать вільнорадикальні процеси. Сумісне використання антиоксидантів сприяє більш ефективному пригніченню перекисної окисдації ліпідів мембран (аскорбінова кислота з вітаміном Е, А, флаваноїдами, каротиноїдами, глутатіоном). Знання точних характеристик та властивостей природних біологічно активних сполук поглиблює наше розуміння щодо базових механізмів взаємодії між антиоксидантами.

Унікальна властивість аскорбінової кислоти зазнавати зворотню окисдацію значно ускладнює вивчення *in vivo* окислювальних процесів за її участю, проте розгляд цих питань є необхідним та водночас можливим завдяки використанню модельних систем. А саме, на прикладі вивчення закономірностей вільнорадикального окиснення органічних субстратів молекулярним киснем в апротонному середовищі (модельна система) у присутності аскорбінової кислоти, а також бінарних композицій аскорбінової кислоти з деякими представниками інгібіторів природного походження.

Огляд літератури. Аскорбінова кислота (АК), також відома як вітамін С, є одним з першочергових захисників організму від дії вільних радикалів та інших патогенних чинників. Здатність АК пригнічувати перекисне окиснення ліпідів, дає можливість нейтралізувати

окиснювачі, що надходять із забрудненим повітрям, редукувати канцерогенні нітроаміни (Suresh et al., 2000) [18]. Вона також бере участь у виробленні енергії, необхідної для синтезу інтерферону та інших цитокінів, запобігає пероксидації холестеролу і тим самим перешкоджає прогресу атеросклерозу (Kamei et al., 2016) [9].

Автори Wagner and Rimbach (2009) [19] повідомляють, що антиоксидантні властивості АК засновані на її здатності зворотно окислюватись у дегідроаскорбінову кислоту (ДАК). І таким чином, АК, утворені нею проміжні радикальні частинки та ДАК являють собою ефективну редокс-систему (рис. 1), що володіє високою вітамінною активністю.



Джерело: розроблено авторами на основі досліджень Wagner and Rimbach (2009) [19].

Рис. 1. Окислювально-відновна система аскорбінової кислоти

Перехід АК в ДАК двоетапний: на першому етапі з молекули АК (AH_2) утворюється аскорбат-іон AH^- , на другому аскорбат-іон трансформується в аніон-радикал $\text{A}^{\cdot-}$. Далі вони диспропорціонують з утворенням АК та ДАК. Надалі ДАК гідролізується з утворенням 2,3-дикетогулонової кислоти (ДКГК), яка може зазнавати подальших змін. Система АК біологічних об'єктів має вітамінні властивості, але ДКГК, що утворюється з ДАК, вже позбавлена біологічної активності.

Незвичайні біологічні властивості АК, спрямовані на захист від вільно-радикальної деструкції, швидше за все пов'язані з її ефективністю як пастка радикалів і, що важливо, стабільністю її аніон-радикалу.

Авторами Sawyer et al. (1985) [15] опубліковано, що при окисленні АК киснем в апотонному та водному середовищах, реалізованому за ланцюговим механізмом, як проміжний продукт утворюється супероксид-аніон, який взаємодіє з АК та аскорбат-радикалом. Деталі механізму взаємодії АК з АРК в апротонному середовищі представлені схемою:





Джерело: розроблено авторами на основі досліджень Sawyer et al. (1985) [15].

Утворення аніон-радикалу кисню відбувається при окисненні аскорбат-іону молекулярним киснем (реакція 1). Константа швидкості реакції невелика, для апротонного середовища становить $k=0,68\pm 0,21$ л/(моль·с) та для водного – $k=0,32\pm 0,08$ л/(моль·с). Висока швидкість реакції (2) взаємодії АК з аніон-радикалом кисню ($k=2,7\cdot 10^5$ л/(моль·с)) та реакції (3) взаємодії аскорбат-радикалу з суперокід-аніоном ($k\sim 5\cdot 10^4$ л/(моль·с)) обумовлює здатність АК пригнічувати дію аніон-радикалу кисню.

У біологічних об'єктах АК володіє сильно вираженими властивостями, що відновлюють, є ефективною «пасткою» активних форм кисню. І факт утворення аніон-радикалу кисню як проміжного продукту при окисненні АК може бути цікавим у зв'язку з вивченням реакцій супероксид-аніону з активними біологічно субстратами. Дослідження у цьому напрямі мають особливе значення, оскільки, таким чином, може бути встановлений механізм токсичної дії аніон-радикалу кисню в живих організмах та можливі шляхи нейтралізації негативних наслідків, спричинених його присутністю.

В останні часи одним з перспективних напрямків «зеленої» хімії є використання антиоксидантних композицій з рослинної сировини, що визнана як доступне та дешеве природне джерело біологічно активних речовин. Це зумовлено тим, що природні препарати, на відміну від синтетичних, менш токсичні, більш доступні та екологічно безпечні, легко засвоюються організмом людини і надають комплексну лікувальну дію (Ingold and Pratt, 2014) [8].

В літературі (Wawrzyniak et al., 2013) [20] описано синергетичну дію АК та деяких поліфенолів та α -токоферолів. Авторами Zhou and Zheng (1991) [22], а також Kostyuk and Rotarovich (1989) [11] виявлено антагонізм антирадикальної дії композицій дигідрокверцетин – АК, кверцетин – АК. Також описано синергетичну дію АК та убихінона, що спостерігається при інгібуванні окиснення ліноленової кислоти.

Матеріали та методи. В рамках поставленої задачі методом вимірювання зміни поглиненого молекулярного кисню було досліджено окисдацію модельної системи, яка являє собою процес ініційованого азодизобутиронітрилом (АІБН) окиснення модельного субстрату кумолу (ПБ) з додаванням диметилсульфоксиду (ДМСО), який створює середовище, що не містить вільного протону. За перебігом процесу окиснення спостерігали за зміною кількості поглиненого молекулярного кисню з часом при сталому парціальному тиску і температурі на обладнанні, що приведено в літературі (Emanuel et al., 1973) [4]. В роботі використовувалися АІБН, ПБ, ДМСО, очищені за методиками, описаними авторами Armarego and Chai (2003) [1]. Досліджували окиснення модельної системи в присутності антиоксидантних композицій аскорбінової кислоти з аніон-радикалом кисню, гуміновою та гематомелановою кислотами.

Результати дослідження. В даному дослідженні вивчали сумісну дію АК з декількома біологічно активними сполуками в процесах радикально-ланцюгового окиснення кумолу. В якості таких сполук було обрано гумінову (ГК) та гематомеланову (ГМК) кислоти, як представники класу природних поліфенолів, а також аніон-радикал кисню (АРК) – сполука, що утворюється в багатьох біохімічних процесах.

Гальмування процесів окиснення антиоксидантними композиціями можна розділити на декілька типів: антагонізм (коли інгібітори нейтралізують дію друг друга), адитивність інгібування (гальмуюча дія суміші дорівнює сумі антиоксидантних впливів кожного з

компонентів) і синергізм (перевищення суми індукційних ефектів кожного антиоксиданту). Найбільший інтерес з практичної точки зору викликає явище синергізму в процесах інгібування окисації. Ефект синергізму спостерігають у випадках, коли до складу антиоксидантної композиції входять представники різних класів інгібіторів, до структури молекул яких входять різні функціональні групи. Завдяки чому ці речовини мають відмінності у антирадикальних та антиоксидантних властивостях, а саме переривають окисацію за різними механізмами. Відомі випадки, коли деякі речовини (синергісти) не мають антиоксидантних властивостей, але посилюють дію окремих інгібіторів в процесах окиснення. Захисний комплекс біологічних об'єктів представлено різноманітними композиціями антиоксидантів та синергістів.

На рис. 2 представлено кінетичні криві окиснення ПБ в присутності АК та АРК. Спостерігається виражений період індукції, що зумовлений інгібівною дією цих антиоксидантів. У випадку використання двох інгібіторів АК та АРК (крива 4), величина періоду індукції перевищує це значення для систем, в яких данні антиоксиданти діяли індивідуально (криві 2 і 3). Синергетичний ефект дії зберігається при варіюванні концентрацій АК та АРК в досліджуваній системі.

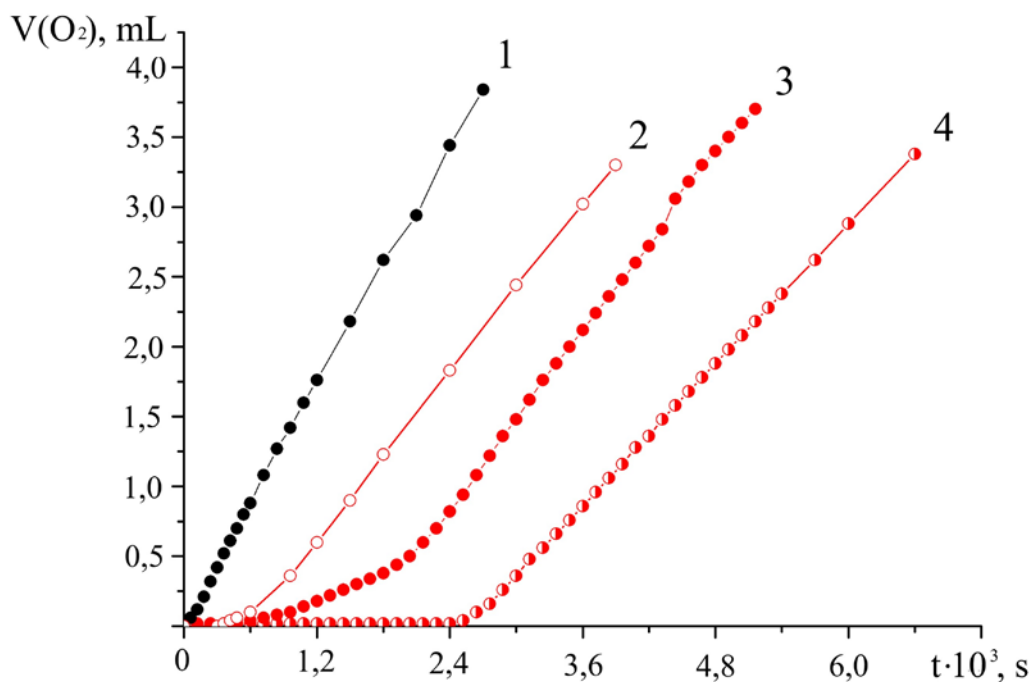


Рис. 2. Зміна кількості поглиненого кисню ($V(O_2)$, мл) з часом (t , с) в процесі окиснення модельної системи (1) внаслідок присутності АРК (2), АК (3) та їх сумісної дії (4)

Гумінові речовини отримують з торфу, ґрунтового гумусу, бурого вугілля, сапропелів та сланців. Саме вони завдяки своїй хімічній активності є найбільш пріоритетні з точки зору цінової політики створення бази сировини для впровадження нанотехнологій (Souza and Braganca, 2018; Klucakova, 2018) [10, 17]. Такі функціональні групи, як гідроксильні, карбоксильні, хіноїдні, аміногрупи, роблять їх універсальними об'єктами для вирішення хіміко технологічних завдань різноманітного плану (Nenadis et al., 2007; Mignone et al., 2012) [13, 14]. В останні роки особливий інтерес викликають інгібітори комбінованої дії, відомі як поліфункціональні стабілізатори. Наявність у структурі молекул таких інгібіторів гідроксильної (-OH), сульфідної (-SH), аміної (-NH₂) та хіноїдних груп передбачає пролонгування антиоксидантної дії за рахунок можливості комбінованого впливу функціональних груп на процес інгібування окиснення, обумовлює їх біологічну активність і

передбачає здатність до прооксидантної або антиоксидантної дії. Проте в літературі немає детальних досліджень властивостей цих гумінових речовин.

В даній роботі вивчено процес радикально-ланцюгової оксидації ПБ в апротонних розчинниках у присутності ГК та суміші ГК та АК. На рис. 3. представлені характерні кінетичні криві, що описують ці процеси. Виявлено, що ГК гальмує окиснення вуглеводня напротязі перебігу всього процесу (крива 2). Крім того, уповільнення збільшується пропорційно до зростання концентрації ГК в модельній системі. При додаванні АК та ГК до окислювальної суміші спостерігали індукційний ефект, що був обумовлений присутністю АК, та зменшення швидкості поглинання кисню після виходу з періоду індукції, що є наслідком присутності ГК (крива 4). Аналогічну антиоксидантну дію та адитивність при інгібуванні з АК проявляє ГМК.

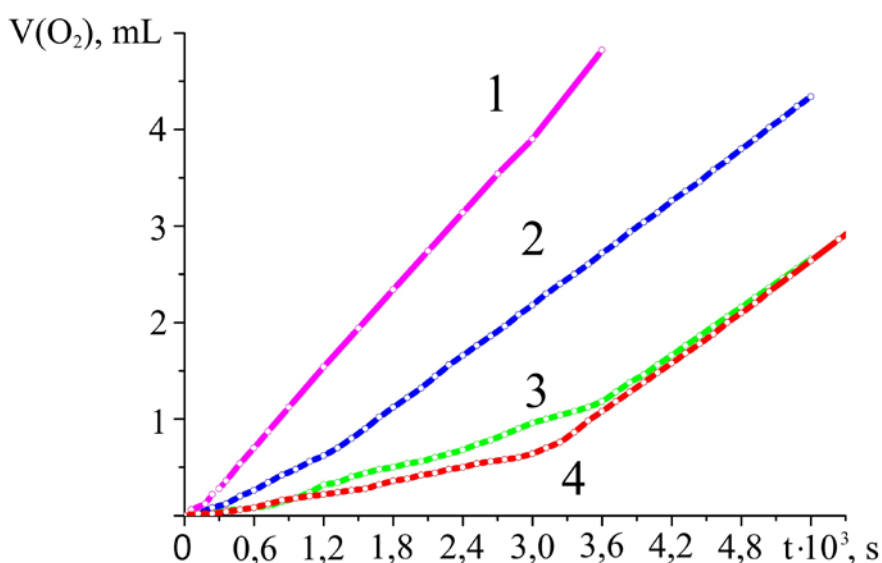


Рис. 3. Зміна кількості поглиненого кисню ($V(O_2)$, мл) з часом (t , с) в процесі окиснення модельної системи (1) внаслідок присутності ГК (2), АК (4) та їх сумісної дії (3)

Спільне введення інгібітору, що обриває ланцюгову реакцію, та речовини, що руйнує гідропероксиди, широко використовують для більш ефективного гальмування окисних процесів у поліолефінах, каучуках, мастилах та інших матеріалах. Як акцептор пероксидного радикалу застосовують різноманітні феноли, бісфеноли, ароматичні аміни, а для руйнування гідропероксидів вводять арилфосфіти, етери тіопропіонової кислоти, діалкілдітіопропіонати, тіофосфати цинку та нікелю та інші аналогічні сполуки (Fotia and Amorati, 2009) [6].

В таблиці 1 показано значення величини швидкості поглинання кисню (W) при окисненні модельних систем у присутності різних інгібіторів та їх комбінацій. В присутності аскорбінової кислоти зафіксували гальмівний ефект, величина якого зростає ростом концентрації АК в модельній системі, а також невелике зменшення швидкості оксидації після виходу з періоду індукції. В присутності ГК спостерігали зменшення швидкості окиснення на протязі всього перебігу процесу, яке прямопропорційно залежить від росту концентрації ГК в реакційній суміші. В присутності гумінової та аскорбінової кислот в досліджуваній системі спостерігали адитивність інгібуючої дії цих двох антиоксидантів. Аналогічні ефекти відбуваються при заміні ГК на ГМК.

У випадку використання АРК в якості інгібітору спостерігали наявність індукційного ефекту, величина періоду індукції збільшується з ростом концентрації супероксиду в системі, та фіксується, як і у випадку з АК, невеличке зменшення швидкості поглинання кисню після виходу з нього. При одночасному введенні АК та АРК в реакційну суміш виявлена синергізм

дії цих двох антиоксидантів в процесі інгібування окиснення. Синергетична ефективність інгібування АК та АРК складає 1,19.

Таблиця 1

**Значення величини швидкості поглинання кисню (W) та періоду індукції (τ)
моделними системами в залежності від антиоксидантної композиції**

Антиоксидантна композиція	$\tau \cdot 10^3$, с	$W \cdot 10^6$, моль/(л·с)
-	0	2,79
АК	1,68	2,53
ГК	0	1,72
ГмК	0	1,84
АРК	0,60	2,75
АК+ГК	1,62	1,77
АК+ГмК	1,68	1,88
АК+АРК	2,94	2,77

Висновки:

1. На базі ініційованого радикально-ланцюгового процесу окиснення кумолу в апротонному середовищі (модельна система) досліджено антиоксидантну дію бінарних композицій аскорбінової кислоти з деякими представниками інгібіторів природного походження. Вивчено особливості перебігу окиснення модельної системи в присутності гумінових та гіматомеланових кислот, доведена їх антиоксидантна властивість. Спостерігалось посилення гальмівної дії гумінових речовин на процес окисдації кумолу зі збільшенням їх концентрації в модельній системі. Доведено доречність використання приведеної модельної системи для подальшого вивчення антиоксидантної дії гумінових речовин та антиоксидантних композицій на їх основі. Виявлено, що комплексна інгібівна дія антиоксидантної композиції аскорбінової кислоти та гумінових речовин з бурого вугілля має адитивний ефект. Також доведено, що зі збільшенням концентрації цього бінарного поєднання у досліджуваній системі протекторна ефективність посилюється.

2. Досліджено протекторний вплив супрамолекулярної композиції аскорбінової кислоти та аніон-радикалу кисню на процес окисдації модельної системи. Показано, що сумісна дія аскорбінової кислоти та супроксид аніону носить гальмівний характер, та цей ефект посилюється зі збільшенням концентрації антиоксидантного комплексу у досліджуваній системі. Визначена індукційна дія носить синергетичний характер, для якої знайдено оптимальне співвідношення кількості аскорбінової кислоти та аніон-радикалу кисню в антиоксидантній композиції для максимального синергетичного ефекту. Експериментально підтверджено участь аніон-радикалу кисню як медіатора в процесах окиснення модельної системи в присутності аскорбінової кислоти, що може зробити внесок у розуміння механізмів протікання багатьох патологічних станів, викликаних вільнорадикальними окисдаційними процесами.

References

1. Armarego, W. L. F., Chai, Ch. L. L. (2003). Purification of Laboratory Chemicals. Elsevier Science B. V., 608 p.
2. Du, J., Cullen, J. J., Buettner, G. R. (2012). Ascorbic acid: Chemistry, biology and the treatment of cancer. *Biochim. Biophys. Acta*, 1826(2): 443–457. DOI: 10.1016/j.bbcan.2012.06.003.

Література

1. Armarego W. L. F., Chai Ch. L. L. Purification of Laboratory Chemicals. Elsevier Science B. V., 2003. 608 p.
2. Du J., Cullen J. J., Buettner G. R. Ascorbic acid: Chemistry, biology and the treatment of cancer. *Biochim. Biophys. Acta*. 2012. Vol. 1826(2). P. 443–457. DOI: 10.1016/j.bbcan.2012.06.003.

3. Deponte, M. (2013). Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes. *Biochim. Biophys. Acta*, 1830(5): 3217–3266. DOI: 10.1016/j.bbagen.2012.09.018.
4. Emanuel, N. M., Zaikov, G. Ye., Mayzus, Z. K. (1973). Rol' sredi v radikal'no-tsepnykh reaktsiyakh okisleniya organicheskikh soyedineniy. M.: Nauka. 297 p.
5. Fiedor, J., Burda, K. (2014). Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients*, 6(2): 466–488. DOI: 10.3390/nu6020466.
6. Fotia, M. C., Amorati, R. (2009). Non-phenolic radical-trapping antioxidants. *J. Pharm. Pharmacol.*, 61(11): 1435–1448. DOI:10.1211/jpp/61.11.0002.
7. Halliwell, B., Gutteridge, J. M. (2015). Free radicals in biology and medicine. 5th edn. Oxford University Press, Oxford. 944 p.
8. Ingold, K. U., Pratt, D. A. (2014). Advances in radical-trapping antioxidant chemistry in the 21st century: a kinetics and mechanisms perspective. *Chemical reviews*, 114(18): 9022–9046. DOI: <https://doi.org/10.1021/cr500226n>.
9. Kamei, M., Nishimura, H., Takahashi, T., Takahashi, N., Inokuchi, K., Mato, T., Takahashi, K. (2016). Anti-influenza virus effects of cocoa. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(4): 1150–1158. DOI: 10.1002/jsfa.7197.
10. Klucakova, M. (2018). Conductometric study of the dissociation behavior of humic and fulvic acids. *Reactive and Functional Polymers*, 128: 24–28. DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2018.04.017.
11. Kostyuk, V. A., Potapovitch, A. I. (1989). Superoxide-driven Oxidation of Quercetin and a Simple Sensitive Assay for Determination of Superoxide Dismutase. *Biochem. Int.*, 19(5): 1117–1124.
12. Levy, E., Delvin, E., Marcil, V., Spahis, S. (2020). Can phytotherapy with polyphenols serve as a powerful approach for the prevention and therapy tool of novel coronavirus disease 2019 (COVID-19)? *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 319(4): 689–708. DOI: 10.1152/ajpendo.00298.2020.
13. Mignone, R. A., Martin, M. V., Vieyra, F. E. M., Palazzi, V. I., de Mishima, B. L., Martire, D. O., Borsarelli, C. D. (2012). Modulation of Optical Properties of Dissolved Humic Substances by their Molecular Complexity. *Photochem.*
3. Deponte M. Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes. *Biochim. Biophys. Acta*. 2013. Vol. 1830(5). P. 3217–3266. DOI: 10.1016/j.bbagen.2012.09.018.
4. Emanuel N. M., Zaikov G. Ye., Mayzus Z. K. Rol' sredi v radikal'no-tsepnykh reaktsiyakh okisleniya organicheskikh soyedineniy. M.: Nauka, 1973. 297 p.
5. Fiedor J., Burda K. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients*. 2014. No. 6(2), P. 466–488. DOI: 10.3390/nu6020466.
6. Fotia M. C., Amorati R. Non-phenolic radical-trapping antioxidants. *J. Pharm. Pharmacol.* 2009. Vol. 61(11). P. 1435–1448. DOI:10.1211/jpp/61.11.0002.
7. Halliwell B., Gutteridge J. M. Free radicals in biology and medicine. 5th edn. Oxford University Press, Oxford, 2015. 944 p.
8. Ingold K. U., Pratt D. A. Advances in radical-trapping antioxidant chemistry in the 21st century: a kinetics and mechanisms perspective. *Chemical reviews*. 2014. No. 114(18). P. 9022–9046. DOI: <https://doi.org/10.1021/cr500226n>.
9. Kamei M., Nishimura H., Takahashi T., Takahashi N., Inokuchi K., Mato T., Takahashi K. Anti-influenza virus effects of cocoa. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2016. No. 96(4). P. 1150–1158. DOI: 10.1002/jsfa.7197.
10. Klucakova M. Conductometric study of the dissociation behavior of humic and fulvic acids. *Reactive and Functional Polymers*. 2018. Vol. 128. P. 24–28. DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2018.04.017.
11. Kostyuk V. A., Potapovitch A. I. Superoxide-driven Oxidation of Quercetin and a Simple Sensitive Assay for Determination of Superoxide Dismutase. *Biochem. Int.* 1989. Vol. 19(5). P. 1117–1124.
12. Levy E., Delvin E., Marcil V., Spahis S. Can phytotherapy with polyphenols serve as a powerful approach for the prevention and therapy tool of novel coronavirus disease 2019 (COVID-19)? *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*. 2020. Vol. 319(4). P. 689–708. DOI: 10.1152/ajpendo.00298.2020.
13. Mignone R. A., Martin M. V., Vieyra F. E. M., Palazzi V. I., de Mishima B. L., Martire D. O., Borsarelli C. D. Modulation of Optical Properties of Dissolved Humic Substances by their Molecular Complexity. *Photochem.*

- Photochem. Photobiol.*, 88(4): 792–800. DOI: 10.1111/j.1751-1097.2012.01135.x.
14. Nenadis, N., Lazaridou, O., Tsimidou, M. Z. (2007). Use of Reference Compounds in Antioxidant Activity Assessment. *J. Agric. Food Chem.*, 55(14): 5452–5460. DOI: 10.1021/jf070473q.
15. Sawyer, D. T., Calderwood, T. S., Johlman, C. L. (1985). Oxidation by Superoxide Ion of Catechols, Ascorbic Acid, Dehydrophenazine, and Reduced Flavins to Their Respective Anion Radicals. A Common Mechanism via a Sequential Proton – Hydrogen Atom Transfer. *J. Org. Chem.*, 50: 1409–1412.
16. Sen, C. K., Packer, L. (2000). Handbook of oxidants and antioxidants in exercise. Elsevier Science B.V., 1207 p.
17. Souza, F., Braganca, S. R. (2018). Extraction and characterization of humic acid from coal for the application as dispersant of ceramic powders. *Journal of Materials Research and Technology*, 7 (3): 254–260. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2017.08.008>.
18. Suresh, A. K., Sharma, M. M., Sridhar, T. (2000). Engineering Aspects of Industrial Liquid-Phase Air Oxidation of Hydrocarbons. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 39(11): 3958–3997. DOI:10.1021/ie0002733.
19. Wagner, A. E., Rimbach, G. (2009). Ascorbigen: chemistry, occurrence, and biologic properties. *Clinics in Dermatology*, 27(2): 217–224. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2008.01.012.
20. Wawrzyniak, A., Górnicka, M., Hamułka, T. (2013). α -Tocopherol, ascorbic acid, and β -carotene protect against oxidative stress but reveal no direct influence on p53 expression in rats subjected to stress. *Nutr. Res.*, 33(10): 868–875. DOI: 10.1016/j.nutres.2013.07.001.
21. Yilmaz, Y., Toledo, R. T. (2004). Major flavonoids in grape seeds and skins: antioxidant capacity of catechin, epicatechin, and gallic acid. *J. Agric. Food Chem.*, 52(2): 255–260. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/jf030117h>.
22. Zhou, Y.-C., Zheng, R. L. (1991). Phenolic compounds and an analog as superoxide anion scavengers and antioxidants. *Biochem. Pharmac.*, 42(6): 1177–1179. DOI: 10.1016/0006-2952(91)90251-y.
- Photobiol.* 2012. Vol. 88(4). P. 792–800. DOI: 10.1111/j.1751-1097.2012.01135.x.
14. Nenadis N., Lazaridou O., Tsimidou M. Z. Use of Reference Compounds in Antioxidant Activity Assessment. *J. Agric. Food Chem.* 2007. Vol. 55(14). P. 5452–5460. DOI: 10.1021/jf070473q.
15. Sawyer D. T., Calderwood T. S., Johlman C. L. Oxidation by Superoxide Ion of Catechols, Ascorbic Acid, Dehydrophenazine, and Reduced Flavins to Their Respective Anion Radicals. A Common Mechanism via a Sequential Proton – Hydrogen Atom Transfer. *J. Org. Chem.* 1985. Vol. 50. P. 1409–1412.
16. Sen C. K., Packer L. Handbook of oxidants and antioxidants in exercise. Elsevier Science B.V., 2000. 1207 p.
17. Souza F., Braganca S. R. Extraction and characterization of humic acid from coal for the application as dispersant of ceramic powders. *Journal of Materials Research and Technology*. 2018. No. 7 (3). P. 254–260. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2017.08.008>.
18. Suresh A. K., Sharma M. M., Sridhar T. Engineering Aspects of Industrial Liquid-Phase Air Oxidation of Hydrocarbons. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2000. Vol. 39(11). P. 3958–3997. DOI:10.1021/ie0002733.
19. Wagner A. E., Rimbach G. Ascorbigen: chemistry, occurrence, and biologic properties. *Clinics in Dermatology*. 2009. No. 27 (2). P. 217–224. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2008.01.012.
20. Wawrzyniak A., Górnicka M., Hamułka T. α -Tocopherol, ascorbic acid, and β -carotene protect against oxidative stress but reveal no direct influence on p53 expression in rats subjected to stress. *Nutr. Res.* 2013. No. 33 (10). P. 868–875. DOI: 10.1016/j.nutres.2013.07.001.
21. Yilmaz Y., Toledo R. T. Major flavonoids in grape seeds and skins: antioxidant capacity of catechin, epicatechin, and gallic acid. *J. Agric. Food Chem.* 2004. No. 52 (2). P. 255–260. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/jf030117h>.
22. Zhou Y.-C., Zheng R. L. Phenolic compounds and an analog as superoxide anion scavengers and antioxidants. *Biochem. Pharmac.* 1991. No. 42 (6). P. 1177–1179. DOI: 10.1016/0006-2952(91)90251-y.

EFIMOVA IRYNA

Candidate of Chemical Sciences, Senior Researcher,
L. M. Litvinenko Institute of Physical-Organic
and Coal Chemistry of the National Academy
of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0002-4374-2990>
Scopus Author ID: 7005360428

SMYRNOVA OLHA

Junior Researcher,
L. M. Litvinenko Institute of Physical-Organic
and Coal Chemistry of the National Academy
of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0003-4143-7535>
Scopus Author ID: 57190883897
E-mail: 79osmi@gmail.com

BESSARABOV VOLODYMYR

Doctor of Technical Sciences, Professor,
Department of Industrial Pharmacy,
Kyiv National University of Technologies and Design, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0003-0637-1729>
Scopus Author ID: 36917184700
Researcher ID: D-3425-2017;
E-mail: v.bessarabov@kyivpharma.eu

¹EFIMOVA I. V., SMYRNOVA O. V., BESSARABOV V. I.

¹L. M. Litvinenko Institute of Physical-Organic and Coal Chemistry
of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

²Kyiv National University of Technologies and Design, Ukraine

**STUDY OF THE ACTION OF BINARY ANTIOXIDANT COMPOSITIONS
WITH ASCORBIC ACID ON MODEL SYSTEMS**

Abstract. The issue of creating antioxidant compositions with improved and more effective properties has become relevant in recent years due to the increasing prevalence of influenza, pneumonia and other respiratory diseases, the mechanism of which is based on free radical processes. The combined use of antioxidants contributes to more effective inhibition of free radical oxidation of membrane lipids (ascorbic acid with vitamin E, A, flavonoids, carotenoids, glutathione). Understanding the exact characteristics and properties of natural bioprotectors deepens the understanding of the basic mechanisms of interaction between antioxidants. The use of model systems makes it possible to study complex and multifaceted oxidation processes in which ascorbic acid participates in vivo. As model systems, it is convenient to use radical-chain oxidation of organic substrates in an aprotic environment - a process in which all elementary stages have been almost perfectly studied and their kinetic parameters have been obtained.

Purpose. To establish the physicochemical regularities of oxidation processes in the presence of antioxidant compositions of ascorbic acid with an oxygen radical anion, humic and hematmelanic acids, as well as to identify the possibility of regulating the antioxidant and prooxidant properties of these supramolecular inhibitory systems in radical chain processes.

Methodology. The initiated oxidation of cumene in an aprotic medium in the presence of antioxidant compositions of ascorbic acid with an oxygen radical anion, humic and hematmelanic acids was investigated by measuring the change in absorbed molecular oxygen.

Findings. In the presented work, based on the initiated radical-chain oxidation process of cumene in an aprotic environment (model system), the antioxidant effect of binary compositions of ascorbic acid with some representatives of inhibitors of natural origin was studied. The peculiarities of the oxidation course of the model system in the presence of humic and hematmelanic acids were studied, and their antioxidant properties were proven. An increase in the inhibitory effect of humic substances on the oxidation process of cumene was observed with an increase in their concentration in the model system. It was also proven that with an increase in the concentration of these binary compounds in the studied system, the protective efficiency increases. The effect of the supramolecular composition of ascorbic acid and the oxygen radical anion on the oxidation process of the model system was studied. It was shown that the combined effect of ascorbic acid and superoxide anion is inhibitory, and this effect increases with an increase in the concentration of the antioxidant complex in the studied system.

Originality. It was found that during the oxidation of the model system, the complex inhibitory effect of the antioxidant composition of ascorbic acid and humic substances from brown coal has an additive effect.

The induction effect, caused by the presence of the antioxidant composition of ascorbic acid with superoxide anion, is synergistic in nature, for which the optimal ratio of the amount of oxygen radical anion and ascorbic acid in the antioxidant composition for maximum synergistic effect was found.

Practical value. *The mediator participation of the oxygen radical anion in the oxidation processes of the model system in the presence of ascorbic acid has been experimentally confirmed, which can contribute to the understanding of the mechanisms of many pathological conditions caused by free radical oxidation processes. The relevance of using the given model system for further studying the antioxidant action of humic substances and antioxidant compositions based on them has been proven.*

Keywords: *ascorbic acid; antioxidants; inhibition; synergism; additivity.*