

НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

УДК 54.04

**ВЛИЯНИЕ КАРОТИНОИДА АСТАКСАНТИНА НА ПЕРЕКИСНОЕ
ОКИСЛЕНИЕ ФОСФОЛИПИДОВ, ИНДУЦИРУЕМОЕ ИОНАМИ
ДВУХВАЛЕНТНОГО ЖЕЛЕЗА**

**Александра Геннадьевна Дудник¹, Наталья Юрьевна Лотош²,
Евгений Александрович Куликов², Александр Владимирович Леванов³,
Алла Анатольевна Селищева^{2,4}**

¹ Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева,
125047, Россия, Москва

² Национальный исследовательский центр «Курчатовский Институт», 123182,
Россия, Москва

³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химиче-
ский факультет, 119991, Россия, Москва

⁴ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологиче-
ский факультет, 119991, Россия, Москва

Автор, ответственный за переписку: Наталья Юрьевна Лотош,
natalotosh@gmail.com

Аннотация. Изучено влияние каротиноида астаксантина как антиоксиданта на индуцируемое ионами железа перекисное окисление фосфолипидов в составе нано- и микроэмульсий, в которых частицы имели размер 110–130 и 700–900 нм соответственно. Показано, что в отсутствие ионов железа астаксантин снижает содержание малонового диальдегида как в микро-, так и в наноэмульсиях. В присутствии ионов двухвалентного железа в случае микроэмульсий астаксантин в концентрации 30 мкМ уменьшает содержание малонового диальдегида, а в концентрации 5 мкМ оказывает прооксидантный эффект. В составе наноэмульсий астаксантин не оказывает никакого действия. Установлено, что в присутствии ионов двухвалентного железа астаксантин обесцвечивается, так как подвергается деградации и окислению. В случае наноэмульсий константа скорости реакции обесцвечивания значительно выше, чем в микроэмульсиях: $18,5 \times 10^3$ и $2,1 \times 10^3 \text{ М}^{-1} \text{ мин}^{-1}$ соответственно. Таким образом, в составе наноэмульсий астаксантин быстро деградирует и окисляется (в течение 30 мин), а в составе микроэмульсий этот процесс идет медленнее. Обсуждены возможные механизмы взаимодействия астаксантина с ионами железа, которые включают реакции образования как радикалов астаксантина, так и нерадикального комплекса с ионами железа.

Ключевые слова: астаксантин, ионы железа, перекисное окисление липидов, фосфолипиды, эмульсии

DOI: 10.55959/MSU0579-9384-2-2025-66-3-249-260

Финансирование. Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт». Теоретическая часть работы выполнена при поддержке темы государственной регистрации № 121031600197-5 МГУ имени М.В. Ломоносова.

Для цитирования: Дудник А.Г., Лотош Н.Ю., Куликов Е.А., Леванов А.В., Селищева А.А. Влияние каротиноида астаксантина на перекисное окисление фосфолипидов, индуцируемое ионами двухвалентного железа // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2025. Т. 66. № 3. С. 249–260.

ORIGINAL ARTICLE

CAROTENOID ASTAXANTHIN EFFECT ON PHOSPHOLIPID PEROXIDATION INDUCED BY FERROUS IONS

Alexandra G. Dudnik¹, Natalya Yu. Lotosh², Evgeny A. Kulikov²,
Alexander V. Levanov³, Alla A. Selishcheva^{2,4}

¹ D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, 125047, Russia, Moscow

² National Research Center “Kurchatov Institute”, 123182, Russia, Moscow

³ Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry, 119991, Russia, Moscow

⁴ Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, 119991, Russia, Moscow

Corresponding author: Natalya Yu. Lotosh, natalotosh@gmail.com

Abstract. Activation of the process of phospholipid peroxidation in the presence of divalent and trivalent iron ions can cause cell death. It is generally accepted that the addition of different types of antioxidants should lead to inhibition of this process. The purpose of this work was to study the effect of the carotenoid astaxanthin as an antioxidant on phospholipid peroxidation induced by iron ions in the composition of nano- and microemulsions. It was shown that astaxanthin itself, in the absence of iron ions, reduces the content of malondialdehyde in micro- and nanoemulsions, in which the particles had a size of about 700–900 nm and 110–130 nm, respectively. However, in the presence of iron ions, in the case of microemulsions, astaxanthin at a concentration of 30 μM reduces the content of malondialdehyde and at a concentration of 5 μM has a pro-oxidant effect. Astaxanthin has no effect in nanoemulsions. It was found that in the presence of iron ions, astaxanthin becomes discolored, because undergoes degradation and oxidation. In the case of nanoemulsions, the rate constant of the decolorization reaction was significantly higher than in microemulsions: $18.5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ min}^{-1}$ and $2.1 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ min}^{-1}$, respectively. Thus, in the composition of nanoemulsions, astaxanthin quickly degrades and oxidizes (within 30 min), and in the composition of microemulsions this process is slower. Possible mechanisms of interaction of astaxanthin with iron ions are discussed, which include both the formation of astaxanthin radicals and a non-radical complex with iron ions. The complexation constant of astaxanthin K with iron ions was calculated to be $2.5 \times 10^5 (\text{M}^{-1})$.

Keywords: astaxanthin, emulsions, ferrous, lipid peroxidation, phospholipids

Financial Support. The work was carried out within the state assignment of NRC “Kurchatov Institute”. The theoretical part of the work was carried out with the support of Lomonosov Moscow State University state task № 121031600197-5.

For citation: Dudnik A.G., Lotosh N.Yu., Kulikov E.A., Levanov A.V., Selishcheva A.A. Carotenoid Astaxanthin Effect on Phospholipid Peroxidation Induced by Ferrous Ions // Vestn. Mosk. un-ta. Ser. 2. Khimiya. 2025. T. 66. № 3. S. 249–260.

В последнее время каротиноид астаксантин (АСТ) (3,3'-дигидрокси- β , β' -каротин-4,4'-дион) вызывает повышенный интерес в связи с потен-

циальной биологической активностью, которая была обнаружена *in vitro* и *in vivo*. Оказалось, что благодаря антиоксидантной активности АСТ спо-

способен подавлять окислительный стресс [1, 2] и оказывать противовоспалительное действие, что положительно влияет на течение сердечно-сосудистых заболеваний и нейродегенеративных расстройств [3–8]. Возможно, механизм противовоспалительного действия АСТ обусловлен тем, что он способен влиять на некоторые механизмы внутриклеточного переноса сигнала. Так, показано, что АСТ ингибирует транскрипционный фактор Nf-κB [9] и, напротив, активирует транскрипционный фактор Nrf2, тем самым активируя противовоспалительный путь переноса сигнала внутри клетки [10].

АСТ синтезируется в клетках микроводоросли *Haematococcus pluvialis* при воздействии стресса (избыточного освещения, повышенного содержания солей) в виде свободной (неэтерифицированной) формы и в виде моно- и диэфиров [11, 12]. Структурная формула АСТ представлена на рис. 1.

Сложность применения АСТ связана с его малой растворимостью в водной фазе и низкой стабильностью на свету. Так, экстракт АСТ из *H. pluvialis*, содержащий в основном моно- и диэфиры (75 и 20% соответственно), используют в виде масляной формы, что существенно снижает биодоступность препарата. Для стабилизации на свету АСТ или его эфиры капсулируют и добавляют антиоксиданты [8]. Для решения проблемы малой растворимости создают дисперсные системы (мицеллы, наноэмульсии, микроэмульсии), в которых АСТ и его эфиры включены в частицы разной природы и размера [13–15], так как известно, что липосомы из фосфолипидов разного размера (200 и 600 нм) вызывают секрецию разных цитокинов Т-лимфоцитами [16, 17].

В связи с вышесказанным цель настоящей работы состояла в получении систем частиц из фосфолипидов разного размера (нано- и микроэмульсий), содержащих АСТ, определении их физико-химических характеристик (размеров липид-

ных частиц, гомогенности полученной системы), а также исследовании антиоксидантного действия АСТ, включенного в нано- и микроэмульсии фосфолипидов, в присутствии и в отсутствие ионов двухвалентного железа.

Материалы и методы

Для получения двух типов эмульсий (микро- и наноэмульсий) использовали смесь фосфолипидов S75 (Lipoid S75, Ludwigshafen, Germany), которая содержала 75,3% фосфатидилхолина (ФХ), 8,0% фосфатидилэтаноламина (ФЭА), 1,4% лизофосфатидилхолина, 1,0% фосфатидной кислоты, 0,8% фосфатидилинозитола и 0,3% триглицеридов (далее – S75). В эмульсии включали АСТ из *B. trispora* (Sigma Aldrich, Германия), чистота $\geq 97\%$. Семиводный сульфат железа(II) («Химмед», Россия). Дихлорметан (Merck, США) Деионизованную воду Milli-Q 18.2 MΩ·cm получали с помощью очистительной системы Millipore Integral 10.

Приготовление эмульсий. Навески фосфолипидов S75 и АСТ растворяли в дихлорметане. Концентрацию АСТ определяли спектрофотометрически при длине волны 485 нм, используя коэффициент экстинкции $125\ 100\ (\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1})$ [18]. Растворы АСТ и липида смешивали в необходимых количествах, затем растворитель отгоняли на ротонном испарителе (Erpendorf, Германия). Для получения микроэмульсий образовавшуюся липидную пленку диспергировали в воде при 70–75 °С, обрабатывали на гомогенизаторе (Daihan Scientific, Южная Корея) (30 000 об/мин, 1 мин) и на УЗ-бане (65 °С, 15 мин) (Bandelin Sonorex, Германия). Для получения наноэмульсий микроэмульсию подвергали обработке на УЗ-дезинтеграторе Sonics Vibra Cell (Sonics, США) на льду при следующих условиях: амплитуда 30%, энергия 0,05 кДж, импульс 1/1, время 1,5 мин, перерыв 1 мин и повтор цикла. Получали эмульсии как без АСТ, так и содер-

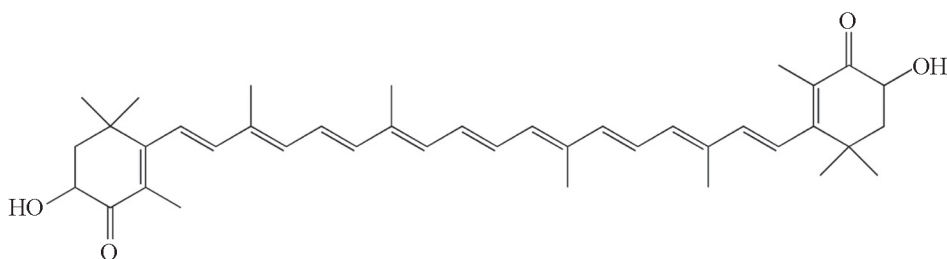


Рис. 1. Химическая структура астаксантина. В этерифицированной форме –ОН-группы замещены на остатки жирных кислот

жащие АСТ. Концентрация липидов в эмульсиях составила 2500 мкМ, концентрация АСТ варьировала от 5 до 30 мкМ.

Размер частиц, дзета-потенциал, индекс полидисперсности (ИП) в наноэмульсиях анализировали методом динамического светорассеяния на приборе Malvern Zetasizer Nano ZSP (Великобритания) при температуре 25 °С. Каждое измерение проводили по три раза, от 12 до 20 циклов в каждом измерении.

Определение малонового диальдегида (МДА) в микро- и наноэмульсиях. О содержании гидроперекисей в эмульсиях фосфолипидов в отсутствие и в присутствии ионов двухвалентного железа судили по содержанию МДА. Эмульсии инкубировали с сульфатом железа(II) в концентрации 0,02 и 0,1 мМ. Каждый образец ставился в триплетах. Реакционную смесь инкубировали 2 ч при 37 °С. Для обнаружения продуктов окисления к 250 мкл образца добавляли 500 мкл 7 мг/мл тиобарбитуровой кислоты («Диаэм», Россия), растворенной в 10%-й трифторуксусной кислоте («Биохиммак», Россия). Инкубировали 30 мин при 90 °С. МДА определяли при 530 и 580 нм. Для расчета использовали коэффициент экстинкции 156 000 М⁻¹см⁻¹ [19].

Спектрофотометрия нано- и микроэмульсий, содержащих АСТ. Деградацию/окисление АСТ (обесцвечивание) изучали на спектрофотометре Shimadzu UV-3600, (Shimadzu, Япония). Фосфолипидные эмульсии, (микро- и наноэмульсии), содержащие АСТ, инкубировали с 0,1 мМ Fe²⁺ при комнатной температуре и через определенные

промежутки времени получали спектр поглощения в интервале длин волн 200–1200 нм. Кинетику обесцвечивания эмульсий изучали на спектрофотометре Varioscan Lux (Thermo Scientific, США) в диапазоне длин волн 360–620 нм и при температуре 37 °С. Кинетические кривые строили при длине волны 485 нм (максимум поглощения АСТ). Измерения проводили в 96-луночной планшете, в течение 60 мин (шаг 10 мин). Концентрация фосфолипидов составляла 2500 мкМ, концентрация АСТ варьировала от 5 до 30 мкМ, Fe²⁺ – от 0,01 до 0,6 мМ.

Для статистического расчета использовали пакеты программ Excel и Statistica 10 (Stat Soft, 2010). Результаты представлены в виде среднего значения ± стандартное отклонение.

Результаты и обсуждение

Получение и свойства микроэмульсий и наноэмульсий

Для получения микро- и наноэмульсий использовали препарат S75, содержащий смесь двух фосфолипидов: 75% ФХ и 8% ФЭА. Наноэмульсии получали ультразвуковым диспергированием микроэмульсий фосфолипидов. Были получены эмульсии без АСТ и содержащие АСТ. Размер частиц был равен 130±10 нм, дзета-потенциал для наноэмульсий из S75 и S75:АСТ составлял –30,5±1,1 и –25,0±1,1 мВ соответственно (рис. 2, таблица).

Микроэмульсии были более неоднородные по сравнению с наноэмульсиями (ИП более 0,5 и менее 0,3 соответственно) и состояли из двух

Размеры по интенсивности (I), численность фракций в % и ИП микро- и наноэмульсий, содержащих и не содержащих АСТ

№	Состав эмульсий	Содержание АСТ, мкМ	Размеры частиц по интенсивности <i>I</i> (нм) и их содержание в % (среднее ± SD)						
			пик 1	%	пик 2	%	пик 3	%	ИП
	Микроэмульсии								
1	S75	–	732±91	74±4	100±12	23±3	5148±324	3,6±2,6	0,54±0,05
2	S75:АСТ	5	138±4	57±1	988±444	39±2	4806±213	4,8±1,6	0,55±0,09
3	S75:АСТ	30	888±96	73±3	111±18	23±2	5132±255	4,4±1,9	0,79±0,22
	Наноэмульсии								
1	S75	–	126 ±7	98±3	19±2	2,6±1,1	–	–	0,25±0,004
2	S75:АСТ	5	106±14	96±3	18±3	5,4±0,9	–	–	0,29±0,04
3	S75:АСТ	30	108±2	97±2	13±4	3,3±1,7	–	–	0,27±0,01

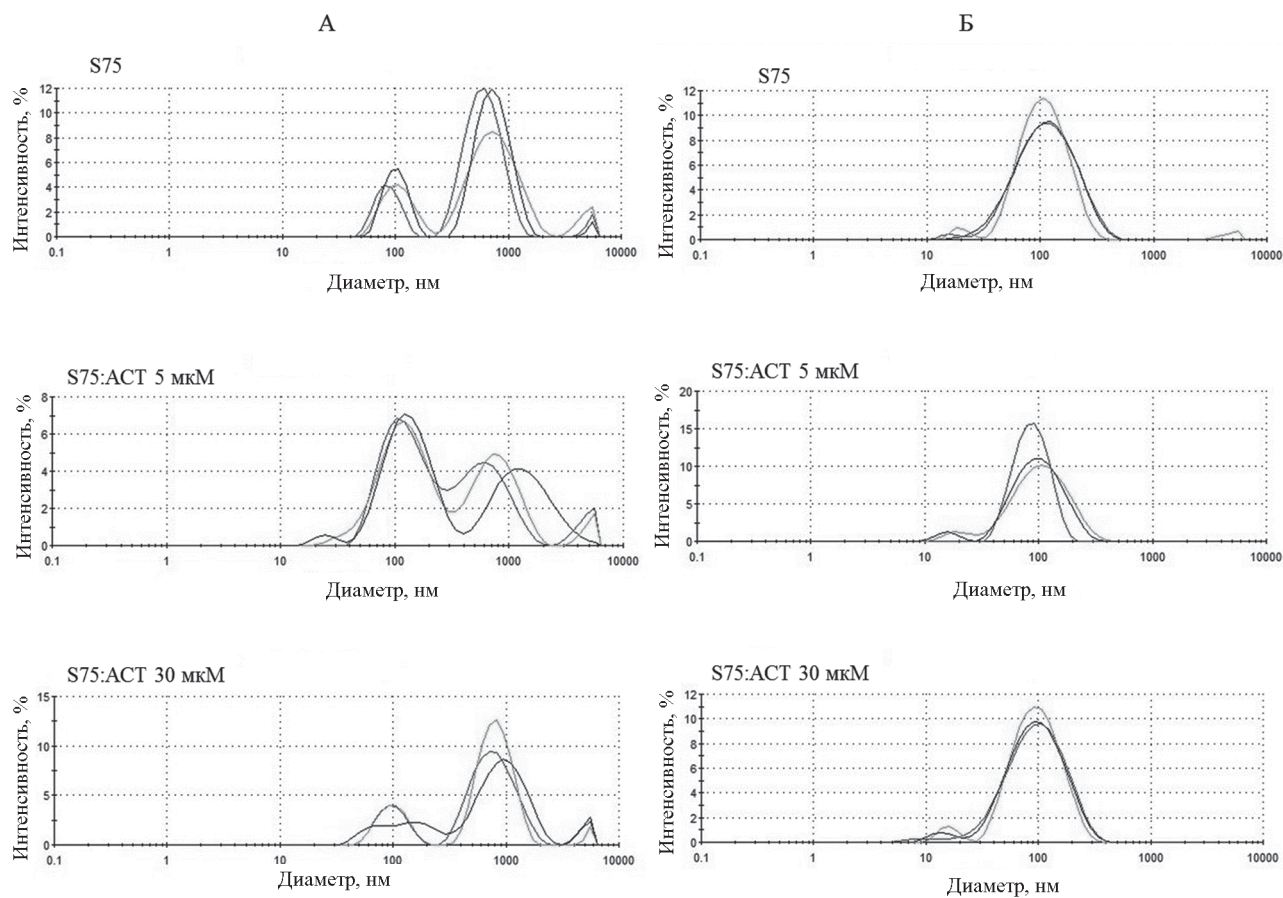


Рис. 2. Профили распределения частиц в эмульсиях по размерам в зависимости от типа эмульсии и содержания АСТ: А – микроэмульсии, Б – наноэмульсии (данные представлены для трех измерений)

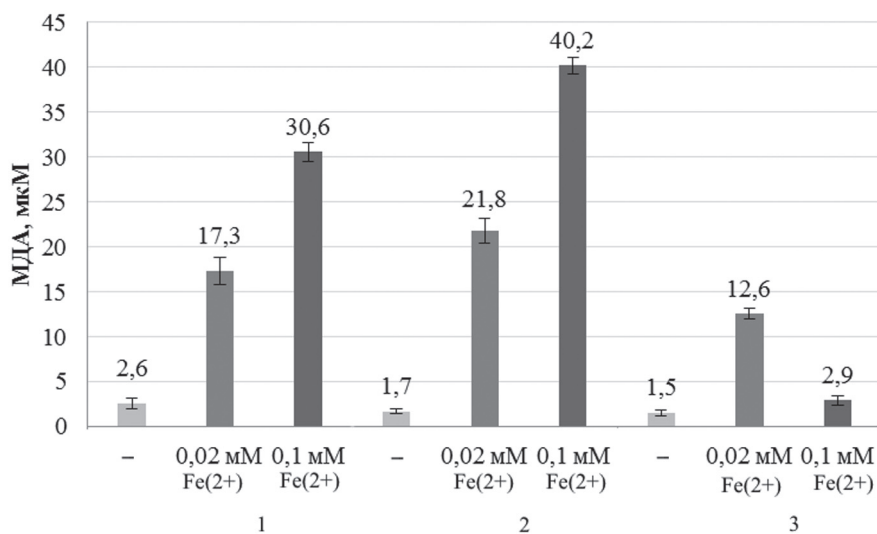


Рис. 3. Содержание МДА в микроэмульсиях в отсутствие и в присутствии 0,02 и 0,1 мМ Fe^{2+} (1 – S75 2500 мкМ; 2 – S75:Аст 2500:5 мкМ; 3 – S75:Аст 2500:30 мкМ)

основных фракций частиц размером 100–140 и 700–900 нм. Все микроэмульсии содержали также малочисленную фракцию частиц размером более 4000 нм. При введении в фосфолипиды 5 мкМ АСТ увеличивалась доля частиц с диаметром около 100 нм, при этом сохранялись фракции частиц до 1000 нм. При повышении концентрации АСТ до 30 мкМ наблюдали увеличение размеров частиц и ИП (рис. 2, таблица).

В случае наноэмульсий введение АСТ практически не влияло на основную фракцию размером порядка 100 нм. ИП имел тенденцию к увеличению с ростом концентрации АСТ, однако сохранялся в пределах 0,3, что свидетельствует о гомогенности системы.

Поскольку эмульсии являются динамической системой, при измерении размеров могли фиксироваться немногочисленные фракции, которые различаются по размерам, что носило случайный характер. Если наличие этих фракций не подтверждалось результатами всех трех измерений, они не учитывались при статистической обработке данных. Размеры частиц в эмульсиях и доля фракции частиц в процентах, а также ИП приведены в таблице (по результатам трех измерений).

Определение продуктов перекисного окисления липидов (МДА)

Микроэмульсии. Сравнивали образование МДА в микроэмульсиях в отсутствие ионов железа и в присутствии 0,02 и 0,1 мМ Fe^{2+} . Из данных, представленных на рис. 3, следует, что в микроэмульсиях при содержании фосфоли-

пидов 2500 мкМ исходное содержание МДА и, следовательно, гидроперекисей невелико и не превышает 3–5 мкМ. Включение в микроэмульсии 5 или 30 мкМ АСТ снижает этот показатель, что указывает на взаимодействие АСТ с липопероксильными радикалами. Эти данные соответствуют ранее полученным результатам, согласно которым АСТ взаимодействует с липидными радикалами [20, 21].

Присутствие ионов железа сопровождалось значительным повышением образования МДА по сравнению с его содержанием в исходном препарате, и этот эффект зависел от концентрации ионов железа. Включение в эмульсии 5 мкМ АСТ не только не уменьшало содержание, но, напротив, увеличивало, т.е. оказывало прооксидантное действие. Только 30 мкМ АСТ вызывало значительный антиоксидантный эффект: при концентрации железа 0,02 мМ МДА снижалось на 28%, а при 0,1 мМ – на 90% (рис. 3).

Наноэмульсии. При изучении исходных наноэмульсий обнаружено повышенное содержание МДА по сравнению с микроэмульсиями (рис. 4), что является результатом ультразвуковой дезинтеграции, используемой для приготовления наноэмульсий, так как высокая мощность ультразвука приводит к ускорению перекисного окисления липидов. Установлено, что введение АСТ в наноэмульсию фосфолипидов в отсутствие ионов железа сопровождается снижением «базового» содержания МДА: 5 мкМ АСТ снижают МДА на >50%, а 30 мкМ – на 80% (рис. 4).

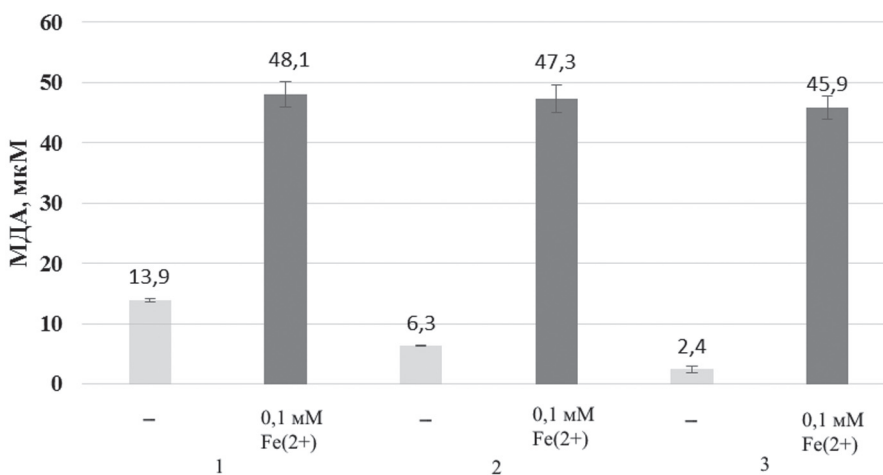


Рис. 4. Содержание МДА в наноэмульсиях в отсутствие и присутствии 0,1 мМ Fe^{2+}
(1 – S75 2500 мкМ; 2 – S75:Аст 2500:5 мкМ;
3 – S75:Аст 2500:30 мкМ)

Окисление наноэмульсий, как и микроэмульсий, в присутствии Fe^{2+} сопровождается значительным увеличением образования гидроперекисей и, соответственно МДА, однако, в отличие от микроэмульсий, включение АСТ в концентрации 5 и 30 мкМ в наноэмульсии никак не влияет на этот показатель, т.е. не оказывает антиоксидантного действия (рис. 4).

Итак, в отсутствие ионов железа АСТ подавляет образование МДА как в микро-, так и в наноэмульсиях. При введении ионов железа в систему фосфолипид – каротиноид перекисное окисление липидов (ПОЛ) интенсифицируется, и действие АСТ как антиоксиданта становится неоднозначным. В системе микроэмульсий он проявляет антиоксидантные свойства только в концентрации 30 мкМ, при том, что в концентрации 5 мкМ АСТ оказывает прооксидантный эффект; в составе наноэмульсий АСТ не оказывает какого-либо ингибирующего действия на образование продуктов ПОЛ.

Поведение АСТ в составе нано- и микроэмульсий в присутствии Fe^{2+}

В ходе эксперимента было обнаружено, что при инкубации наноэмульсий, содержащих АСТ, в присутствии 0,1 мМ Fe^{2+} происходит быстрое (в течение 10–30 мин) снижение оптической плотности АСТ (обесцвечивание) (максимум при длине волны 485 нм), в то время как в микроэмульсиях аналогичного состава снижение оптической плотности наблюдалось гораздо позднее (через 120 мин) (рис. 5).

На спектрах АСТ в составе нано- и микроэмульсий (рис. 5) и на спектрах контрольных эмульсий без АСТ (рис. 5, врезка) после инкубации с 0,1 мМ Fe^{2+} в течение 30 мин видно увеличение оптической плотности в области 220–360 нм и уменьшение оптической плотности АСТ на 485 нм. Увеличение оптической плотности в области 230–360 нм можно объяснить интенсификацией процесса перекисного окисления липидов, а также образованием продуктов распада изопреновой цепи (апо-продуктов) из каротиноида и окислением образующихся продуктов [22].

Кинетика обесцвечивания АСТ в составе нано- и микроэмульсий в зависимости от концентрации ионов Fe^{2+} приведена на рис. 6. Согласно этим данным, в наноэмульсиях очень быстро снижается оптическая плотность АСТ в присутствии ионов Fe^{2+} . Это объясняет, почему в составе наноэмульсий в присутствии ионов железа АСТ не выполняет свои функции антиоксиданта: он

быстро исчезает из системы (обесцвечивается) из-за окисления/деградации полиеновой цепи. Наряду с этим возможно еще образование нового продукта, например комплекса с железом [23, 24]. Константы скоростей деструкции и окисления АСТ k ($\text{M}^{-1}\text{мин}^{-1}$) рассчитывали на основе экспериментальных данных по начальным отрезкам кинетических кривых (без учета лаг-периода) или по всему участку кинетической кривой, если она на всем протяжении сохраняла линейность (рис. 6) по формуле для константы скорости реакции второго порядка

$$k = (1/t) [1/C - 1/C_0],$$

где C_0 – начальная концентрация АСТ, C – концентрация через определенный промежуток времени, t – время. В случае микроэмульсий константу скорости рассчитывали только для диапазона концентраций железа 0,01–0,08 мМ, так как при больших концентрациях эмульсии разрушались, АСТ выпадал в осадок и зависимость становилась нелинейной (рис. 6, А). Для указанных концентраций железа использовали временной участок 60 мин. В случае наноэмульсий расчет проводили для участка кривой до 30 мин (при концентрации железа 0,2–0,6 мМ временной участок составлял 10 мин), поскольку к этому времени эмульсии полностью обесцвечивались. Полученные значения констант скоростей АСТ в обеих липидных системах (нано- и микроэмульсиях) при разных концентрациях железа представлены на рис. 7, где показано, что константы скорости деструкции и окисления АСТ зависят от концентрации железа сложным образом: сначала в диапазоне концентраций Fe^{2+} от 0,01 до 0,04 мМ значения констант возрастают, но при дальнейшем увеличении концентрации железа не меняются в наноэмульсиях или уменьшаются в микроэмульсиях. Расчет максимальных значений констант скорости показал, что в случае наноэмульсий константа скорости была значительно выше, чем в микроэмульсиях: $18,5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{мин}^{-1}$ и $2,1 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{мин}^{-1}$ соответственно (рис. 7). Максимальная константа скорости (k) для наноэмульсий была достигнута в диапазоне концентраций Fe^{2+} 0,04–0,2 мМ, а для микроэмульсий – при 0,01 мМ.

Следует отметить, что зависимость скорости окислительной деструкции АСТ от концентрации ионов железа наблюдается при близких значениях концентрации АСТ (~15 мкМ) и ионов железа (10–40 мкМ). Как следует из рис. 3, увеличение концентрации ионов железа приводит к

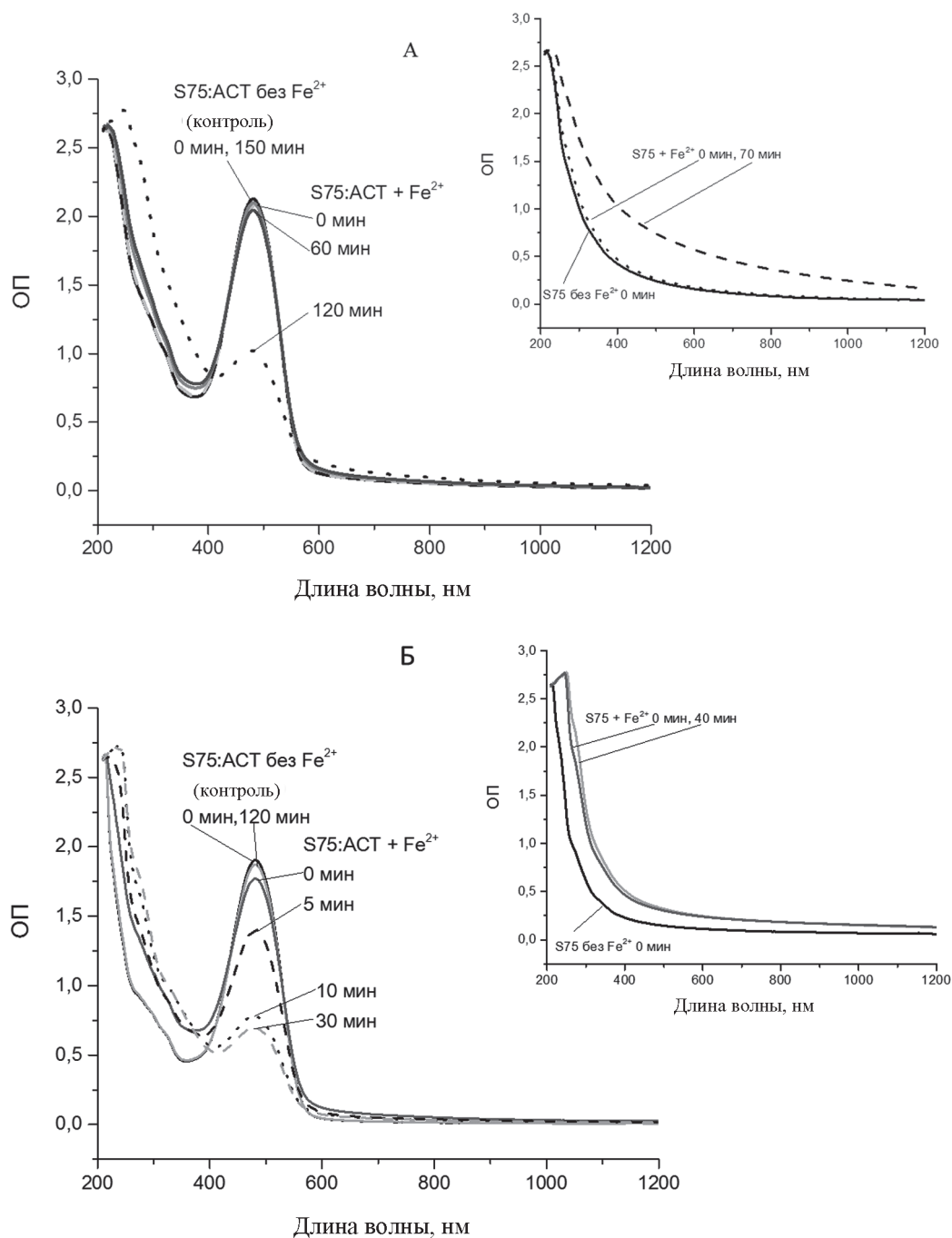


Рис. 5. Изменение оптической плотности АСТ в микроэмульсиях S75:АСТ 18 мкМ (А) и в наноэмульсиях S75:АСТ 16 мкМ (Б) при инкубации с 0,1 мМ Fe^{2+} . На врезках показаны спектры эмульсий S75 без АСТ до (0 мин) и после реакции с железом. Длина оптического пути 1 см

повышению содержания липопероксирадикала, с которым взаимодействует АСТ и скорость его деградации/окисления увеличивается. Однако при дальнейшем увеличении концентрации ионов железа (100–600 мкМ) в наноэмульсиях скорость реакции уже не зависит от концентрации ионов железа, а в микроэмульсиях происходит образование осадка. Эти данные позволяют сделать

предположение о том, что при высокой концентрации ионов железа становится значимым их взаимодействие с АСТ. В микроэмульсиях снижается исходная концентрация АСТ, а скорость его деструкции, соответственно, уменьшается. Для понимания механизма воздействия АСТ на процесс ПОЛ, индуцируемый ионами железа, рассмотрим совокупность реакций, описыва-

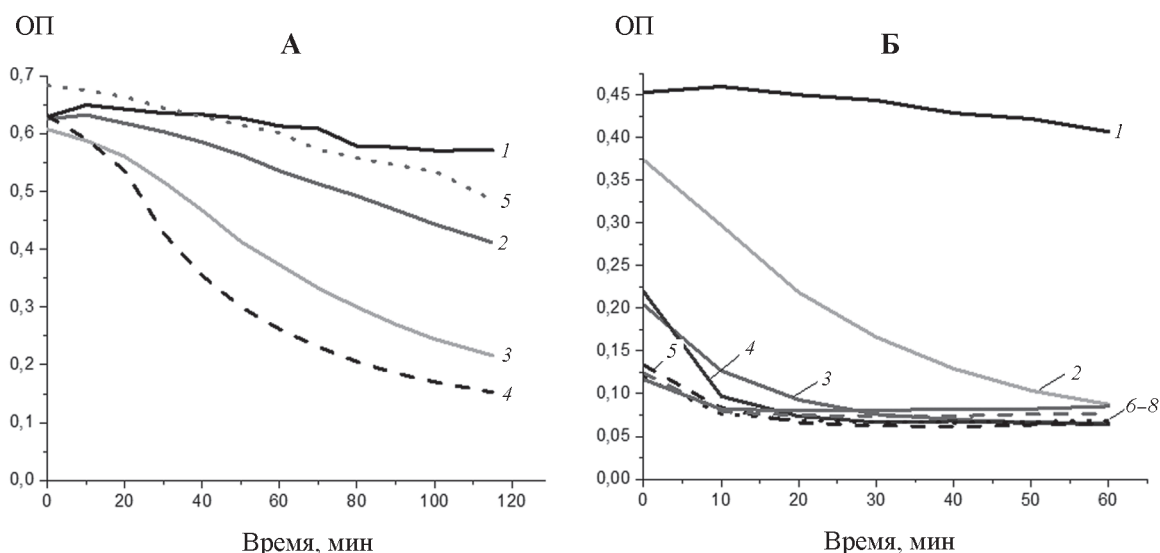
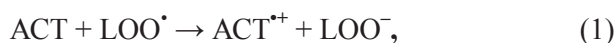
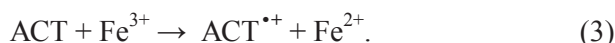


Рис. 6. Кинетика обесцвечивания АСТ (485 нм) в микроэмульсиях S75:АСТ 2500:15 мкМ (А) и наноэмульсиях S75:АСТ 2500:11 мкМ (Б) при инкубации с Fe^{2+} в разной концентрации, мМ: 1 – без Fe^{2+} ; 2 – 0,01; 3 – 0,02; 4 – 0,04; 5 – 0,08; 6 – 0,2; 7 – 0,4; 8 – 0,6 (графики построены по средним значениям триплетов; длина оптического пути 0,3 см)

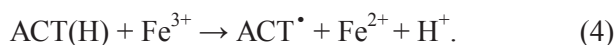
ющих ПОЛ, их ингибирование каротиноидом и взаимодействие ионов железа с каротиноидом. Согласно [25–27], ПОЛ, индуцируемое ионами железа, представляет собой многостадийный процесс в ходе которого происходит образование липопероксид-радикала ($\text{LOO}^\bullet$) и липоперекиси (LOOH). Присутствующий в системе ингибитор, в нашем случае АСТ, вызывает обрыв цепи в ходе ПОЛ, взаимодействуя с липопероксильным радикалом с переносом либо электрона (реакция 1), либо протона (реакция 2):



Кроме того, АСТ также взаимодействует с ионами железа. Такое взаимодействие может протекать по разным механизмам. Например, если АСТ отдает электрон иону трехвалентного железа, то он превращается в катион-радикал $\text{АСТ}^{+\bullet}$ [24] (реакция 3):



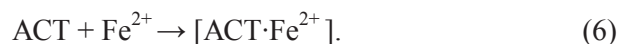
Если от молекулы АСТ отрывается водород, то образуется нейтральный радикал, ион железа получает электрон, а образовавшийся протон уходит в воду (реакция 4):



Далее может быть образован аддукт радикальной природы с ионами Fe^{2+} или Fe^{3+} (реакция 5):



Известно, что АСТ обладает хелатирующими свойствами и может образовывать комплексы с двухвалентными металлами в органических растворителях [23] (реакция 6). Предположительно, АСТ в составе эмульсий так же может образовывать комплекс с ионами Fe^{2+} .



Из экспериментальных данных было определено, что скорость деградации АСТ зависит от размеров частиц, в которые он включен. В случае микроэмульсий АСТ, часть которого находится в более глубоких слоях липидных мембран, менее доступен для ионов железа. В наноэмульсиях АСТ расположен в бислое, полностью доступен для ионов железа и обесцвечивается быстрее. Способность АСТ образовывать комплексы с железом, вероятно, также зависит от размеров фосфолипидных эмульсий. Образование комплекса будет предметом дальнейших исследований.

Обсуждение результатов

Известно, что ПОЛ, индуцируемое ионами железа, развивается в организме человека в условиях понижения содержания основного антиоксиданта-глутатиона. Это приводит к гибели клетки, и такой тип смерти клетки называется ферроптозом. В настоящее время делаются попытки этим способом ускорить гибель трансформированных клеток, вводя в культуру липосомы, содержащие ионы $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ [28]. Для эффективного ингибиро-

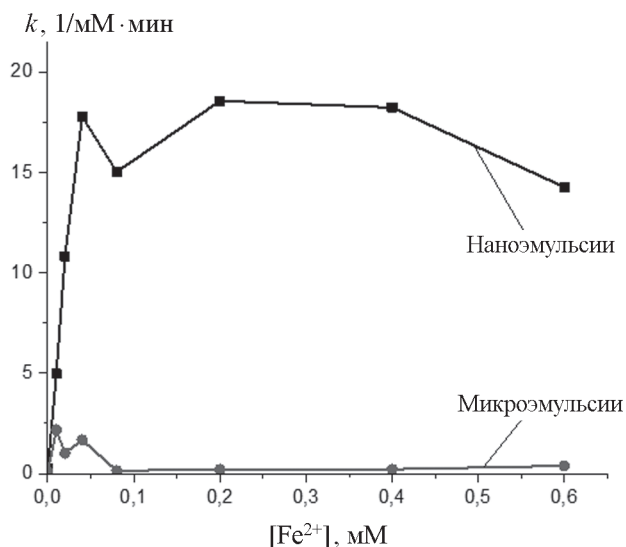


Рис. 7. Константы скорости деструкции и окисления АСТ (обесцвечивания) в составе нано- и микроэмульсий в системе Fe^{2+} -индуцированного ПОЛ в зависимости от концентрации Fe^{2+} (начальная концентрация АСТ для нано- и микроэмульсий 15 и 11 мкМ соответственно; обесцвечивание АСТ наблюдали при длине волны 485 нм)

вания процесса ПОЛ широко применяются антиоксиданты. В настоящем исследовании изучали действие каротиноида АСТ в качестве антиоксиданта в двух модельных системах (в микро- и наноэмульсиях из фосфолипидов), в которых ионы $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ индуцируют процесс ПОЛ. Оказалось, что только в микроэмульсиях АСТ оказывает антиоксидантное действие, в то время как при включении в наноэмульсии он не обладает каким-либо воздействием на ПОЛ. Дело в том, что в составе наноэмульсий быстро происходят деструкция и окисление АСТ, а в микроэмульсиях эти процессы протекают более медленно.

При сравнении двух используемых систем (микро- и наноэмульсий), следует констатировать, что в микроэмульсиях, состоящих из больших агрегатов, имеющих много фосфолипидных бислоев, намотанных друг на друга, атаксантин располагается как в нижних, так и в верхних слоях. Но с внешней водной фазой, в которой растворяют соли железа, контактируют только верхние слои. В наноэмульсиях, представляющих собой систему из мелких частиц, имеющих один бислой, гидрофобный атаксантин находится в бислое, который контактирует с водной фазой. Согласно протоколу, ионы железа добавлялись в реакционную среду после образования микро- или наночастиц и, следовательно, могли контактировать только с наружным слоем частиц, площадь которого в наноэмульсиях много больше, чем в микроэмульсиях. Поэтому окисление липидов в присутствии ионов железа должно происходить в системе наноэмуль-

сий с большей скоростью, чем в микроэмульсиях, что и наблюдается в эксперименте. Соответственно, увеличивается содержание липопероксильных радикалов, которые образуются в липидах, диспергированных в водной фазе в присутствии ионов железа, и с которыми реагирует АСТ, согласно результатам исследований, представленным в [20]. К сожалению, авторы этой работы лишь обсуждали возможность образования различных радикалов АСТ, но не приводили доказательств в пользу их существования, как это, например, было сделано для каротина.

Надо отметить, что проблема взаимодействия пероксильных радикалов с каротином в органических растворителях изучена очень подробно [26] и образование различных радикалов каротина (катион-радикала, нейтрального радикала и радикального аддукта) доказано методом флеш-фотолиза [29].

В отличие от вторичных радикалов, более подробно изучено взаимодействие АСТ со всеми видами активных форм кислорода: синглетным кислородом [30], супероксид-анион-радикалом и гидроксил-радикалом [31]. Антиоксидантная активность АСТ и его эфиров по отношению к первичным активным формам кислорода была продемонстрирована на примере фотоокисления линолевой кислоты в органических растворителях [30, 32]. Следует отметить, что по сравнению с другими каротиноидами АСТ наиболее эффективно взаимодействует с синглетным кислородом.

Другой системой для определения антиоксидантной активности АСТ по отношению к пероксильным радикалам, которые образуются в фосфолипидах, является использование азосоединений, способных превращаться в стабильные радикалы. В таких условиях сравнивали способность ряда каротиноидов (каротина, зеаксантина, кантаксантина, астаксантина и ликопена) реагировать с гидроперекисями фосфолипидов по сравнению с контролем, которым служил токоферол. Установлено, что наиболее активным антиоксидантом в ряду каротиноидов оказался каротин, одним из наименее активных – АСТ [33]. Из приведенных примеров ясно, что представление об эффективности антиоксидантного действия зависит от того, какая система используется для определения и с каким типом активных форм кислорода или липидным радикалом взаимодействует АСТ.

Иной тип антиоксидантной активности АСТ может быть обусловлен его способностью связываться с ионами переходных металлов, в том числе железа. При этом возможны различные варианты, описанные реакциями (1)–(4):

а) непосредственное взаимодействие АСТ и ионов железа с образованием катион-радикала или нейтрального радикала;

б) взаимодействие нейтрального радикала и АСТ с образованием радикального аддукта;

в) образование комплекса с одним или двумя ионами железа.

Возможность образования комплекса показана для АСТ и ионов меди [23]. Взаимодействие каротиноида с ионами Fe^{3+} в присутствии пероксида (реакция Фентона) изучено на примере каротина [24]. При подробном рассмотрении этой реакции отмечена возможность прооксидантного действия АСТ, который при образовании катион-радикала способствует повышению содержания двухвалентного железа, восстанавливая Fe^{3+} до Fe^{2+} . Анализ литературных данных показал, сколь сложно использование каротиноидов в качестве антиоксидантов, которые, с одной стороны, могут оказывать прооксидантное действие, а с другой стороны, связывать избыточное содержание ионов железа, которое приводит к повышению продукции свободных радикалов, повреждающих белки, фосфолипиды и нуклеиновые кислоты. В результате интенсивный процесс ПОЛ, инициируемый повышенным содержанием железа, может вызвать гибель клеток (ферроптоз).

Полученные в данном исследовании результаты показывают, что наличие антиоксидантной способности соединения зависит от системы, в которой находится каротиноид, а также от метаболических путей его превращений, характерных для исследуемой системы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Al-Amin M.M., Akhter S., Hasan A.T., et al. // *Metab. Brain Dis.* 2015. Vol. 30. N 5. P. 1237.
2. Chen Q., Tao J., Li G., et al. // *Eur. J. Pharmacol.* 2018. Vol. 840. P. 33.
3. Kim S.H., Kim H. // *Nutrients.* 2018. Vol. 10. N 9. P. 1137.
4. Fakhri S., Abbaszadeh F., Dargahi L., Jorjani M. // *Pharmacol. Res.*, 2018. Vol. 136. P. 1.
5. Kohandel Z., Farkhondeh, T., Aschner M., et al. // *Biomed Pharmacother.* 2022. Vol. 145. P. 1.
6. Galasso C., Orefice I., Pellone P., et al. // *Mar. Drugs.* 2018. Vol. 16. N 8. P. 1.
7. Pashkow F.J., Watumull D.G., Campbell C.L. // *Am. J. Cardiol.* 2008. Vol. 101. N 10 SUPPL.
8. Ambati R.R., Moi P.S., Ravi S., Aswathanarayana R.G. // *Mar. Drugs.* 2014. Vol. 12. N 1. P. 128.
9. Chang M.X., Xiong F. // *Molecules.* 2020. Vol. 25. N 22. P. 5342.
10. Kohandel Z., Farkhondeh T., Aschner M., Samarghandian S. // *Biomed. Pharmacother.* 2021. Vol. 137. P. 111374.
11. Focsan A.L., Polyakov N.E., Kispert L.D. // *Antioxidants.* 2017. Vol. 6. N 4. P. 1.
12. Boussiba S., Fan L., Vonshak A. // *Methods Enzymol.* 1992. Vol. 213. N C. P. 386.
13. Tamjidi F., Shahedi M., Varshosaz J., Nasirpour A. // *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2014. Vol. 26. P. 366.
14. Su W., Polyakov N.E., Xu W., Su W. // *Int. J. Pharm.* 2021. Vol. 605. P. 120799.
15. Shen Q., Quek S.Y. // *J. Food Eng.* 2014. Vol. 123. P. 165.
16. Farace C., Sánchez-Moreno P., Orecchioni M., et al. // *Sci. Rep.* 2016. Vol. 6. July 2015. P. 1.
17. Matsuoka Y., Onohara E., Kojima N., Kuroda Y. // *Int. Immunopharmacol.* 2021. Vol. 99. August. P. 108068.
18. De Bruijn W., Weesepeel Y., Vincken J.P., Gruppen H. // *Food Chem.* 2016. Vol. 194. P. 1108.
19. Аджиев Д.Д. // *Вестник Вогис.* 2010. Vol. 14. N 4. P. 674.
20. Goto S., Kogure K., Abe K., et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2001. Vol. 1512. N 2. P. 251.
21. Dose J., Matsugo S., Yokokawa H., et al. // *Int. J. Mol. Sci.* 2016. Vol. 17. N 1. P. 1.
22. Weesepeel Y., Gruppen H., De Bruijn W., Vincken J.P. // *J. Agric. Food Chem.* 2014. Vol. 62. N 42. P. 10254.
23. Polyakov N.E., Focsan A.L., Bowman M.K., Kispert L.D. // *J. Phys. Chem. B.* 2010. Vol. 114. N 50. P. 16968.

24. Polyakov N.E., Kruppa A.I., Leshina T.V., et al. // Free Radic. Biol. Med. 2001. Vol. 31. N 1. P. 43.
25. Измайлов Д.Ю., Владимиров Ю.А. // Биологические мембраны. 2003. Vol. 20. N 4. P. 349.
26. El-Agamey A., Lowe G.M., McGarvey D.J., et al. // Arch. Biochem. Biophys. 2004. Vol. 430. N 1. P. 37.
27. Driomina E.S., Sharov V.S., Vladimirov Y.A. // Free Radic. Biol. Med. 1993. Vol. 15. N 3. P. 239.
28. He Y.J., Liu X.Y., Xing L., et al. // Biomaterials. 2020. Vol. 241. N 119911.
29. Han R.M., Zhang J.P., Skibsted L.H. // Molecules. 2012. Vol. 17. N 2. P. 2140.
30. Kobayashi M., Sakamoto Y. // Biotechnol. Lett. 1999. Vol. 21. N 4. P. 265.
31. Nishino A., Yasui H., Maoka T. // J. Oleo Sci. 2017. Vol. 66. N 1. P. 77.
32. Sy C., Caris-Veyrat C., Dufour C., et al. // Food Funct. 2013. Vol. 4. N 5. P. 698.
33. Woodall A.A., Lee S.W.M., Weesie R.J., et al. // Biochim. Biophys. Acta. 1997. Vol. 1336. N 1. P. 33.

Информация об авторах:

Александра Геннадьевна Дудник – студентка РХТУ им. Д.И. Менделеева (agdudnik@mail.ru);

Наталья Юрьевна Лотош – науч. сотр. НИЦ «Курчатовский институт» (natalotosh@gmail.com);

Евгений Александрович Куликов – мл. науч. сотр. НИЦ «Курчатовский институт» (www.kulikov.e.a.93@mail.ru);

Александр Владимирович Леванов – доцент кафедры физической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (chem.alexander@yandex.ru);

Алла Анатольевна Селищева – вед. науч. сотр. биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова; инженер-исследователь НИЦ «Курчатовский институт» (aselo@yandex.ru).

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических стандартов

В данной работе отсутствуют исследования человека и животных.

Статья поступила в редакцию 12.01.2024;
одобрена после рецензирования 16.04.2024;
принята к публикации 25.12.2024.