

УДК 542.06:542.46:543.64:542.9

## ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ АПОРФИНОВОГО АЛКАЛОИДА ГЛАУЦИНА И ПОЛУЧЕННОГО В СУБКРИТИЧЕСКОЙ ВОДЕ ФЕНАНТРЕНОВОГО АЛКАЛОИДА ДЕС-ГЛАУЦИНА

© *Е.В. Ветрова, Н.И. Борисенко\*, С.С. Хизриева, А.Ф. Бугаева*

*НИИ физической и органической химии Южного федерального университета, пр. Стачки, 194/2, Ростов-на-Дону, 344090 (Россия),  
e-mail: boni@ipoc.rsu.ru*

Антиоксидантную активность апорфинового алкалоида глауцина – 1,2,9,10-тетраметокси-6- $\alpha$ -апорфин (ГЛ), выделяемого из мачка желтого *Glaucium flavum*, и фенантренового алкалоида дес-глауцина – 1-[2-(N-метиламиноэтил)]-3,4,6,7-тетраметоксифенантрен (д-ГЛ), синтезированного в среде субкритической воды, изучали *in vivo* биолюминесцентным методом и в антирадикальной реакции с ДФПГ.

*In vivo* антиоксидантную активность алкалоидов оценивали по снижению индукции биолюминесценции штамма *E. coli* MG1655 (pKatG-lux), вызванной обработкой бактерий H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. При добавлении в тест систему как ГЛ, так и д-ГЛ регистрировали уменьшение фактора индукции биолюминесценции, что указывает на снижении токсического действия H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> на бактериальные клетки за счет антиоксидантной активности алкалоидов. Показатели антиоксидантной активности, определенные в биолюминесцентном тесте, в случае д-ГЛ были значительно выше, чем для изомера – ГЛ. Так, при концентрации д-ГЛ 0,2 мМ величина протекторной активности составила 86%, в то время как для ГЛ при этой же концентрации в 9,5 раз ниже – 9,3 %.

Поведение ГЛ и его фенантренового алкалоида д-ГЛ также сильно различается в реакции с ДФПГ. Дес-глауцин реагирует с ДФПГ намного быстрее и приводит к существенным изменениям в спектре поглощения ДФПГ. Величины EC<sub>50</sub>, полученные в тесте с ДФПГ, для д-ГЛ составила 0,3 мМ, тогда как для ГЛ EC<sub>50</sub> = 5,3 мМ.

Таким образом, показано, что трансформация модельного алкалоида глауцина в его изомер с использованием среды субкритической воды позволяет получить фенантреновый алкалоид дес-глауцин, антиоксидантная активность которого многократно превышает активность исходного природного глауцина.

*Ключевые слова:* антиоксидантная активность, апорфиновые алкалоиды, глауцин, фенантреновые алкалоиды, дес-глауцин, субкритическая вода, биолюминесценция, ДФПГ.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках государственного задания по проекту №1895.*

### **Введение**

В настоящее время растет число исследований физико-химических и фармацевтических свойств вторичных растительных метаболитов высших растений, которые уже в течение длительного времени используются как в народной, так и в традиционной медицине. Из-за их многочисленных фармакологических преимуществ, продемонстрированных временем, такие соединения представляют собой перспективный источник синтеза новых терапевтических соединений для лечения различных заболеваний, кроме того,

*Ветрова Елена Владимировна* – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, e-mail: vetrova-ev@yandex.ru

*Борисенко Николай Иванович* – доктор химических наук, главный научный сотрудник, e-mail: boni@ipoc.rsu.ru

*Хизриева Салима Салимовна* – магистрант, e-mail: hizrieva@sfedu.ru

*Бугаева Анастасия Федоровна* – магистрант, e-mail: as.bugaewa@yandex.ru

могут быть использованы как нутрицевтики – компоненты биологически активных добавок.

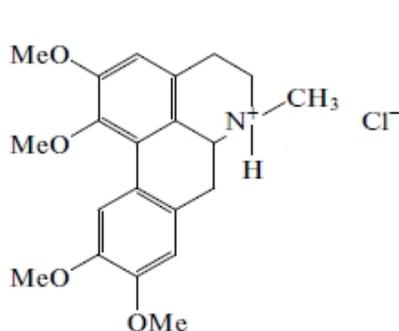
Одной такой перспективной группой соединений растительного происхождения является семейство апорфиновых алкалоидов, включающее такие соединения, как болдин, глауцин и т.д. [1–4]. Строение молекул и химические свойства апорфи-

\* Автор, с которым следует вести переписку.

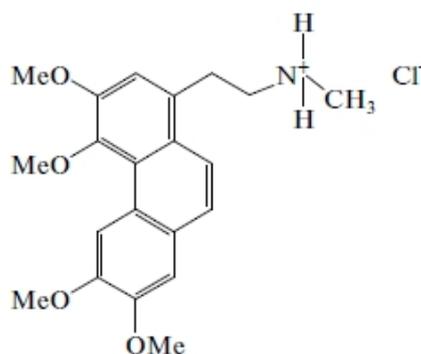
новых алкалоидов обуславливают широкий спектр их биологической активности, в том числе мощные антиоксидантные свойства [3, 4].

Вещества, обладающие антирадикальной активностью, традиционно используются в лечении и профилактике так называемых свободнорадикальных патологий. Известно, что свободные радикалы (СР), в том числе и активные формы кислорода (АФК), непрерывно генерирующиеся в онтогенезе всех живых организмов и вследствие своей высокой реакционной способности являются потенциально опасными. В здоровой клетке их концентрация поддерживается на определенном уровне благодаря генерации и разрушению свободных радикалов внутриклеточными ферментами и низкомолекулярными антиоксидантами. Повышение концентрации СР (АФК) в клетке, так называемый окислительный стресс, приводит к широкому спектру заболеваний [5–9], среди которых воспаления, дисфункции нервной деятельности, старение организма, онкология, диабет, инфаркт и др. В результате этого регулирование окислительно-восстановительного статуса остается перспективным терапевтическим подходом. В связи с этим существенное значение для разработки новых эффективных лекарственных препаратов приобретает поиск перспективных природных и синтетических соединений, обладающих высокой антиоксидантной активностью [10–13], и разработка эффективных методов оценки их биологической активности.

В представленной работе в качестве модельного объекта исследования выбран природный апорфиновый алкалоид глауцин (ГЛ). Глауцин – 1,2,9,10-тетраметокси-6- $\alpha$ -апорфин, выделяемый из мачка желтого *Glaucium flavum*, обладает широким спектром биологической активности [1, 4]. В последнее время активно развиваются исследования по оптимизации методов получения производных апорфина с целью получения новых фармакологически активных препаратов и снижения их токсичности. Известно, что фенантроновые производные, получаемые полусинтетическим путем из упомянутых выше апорфиновых растительных алкалоидов, обладают, как правило, более высокими показателями биологической активности, чем исходные апорфины, и могут демонстрировать новые, отличные от исходных субстанций, применения [3]. При этом фенантроновые растительные алкалоиды в природе представлены значительно слабее, чем их апорфиновые аналоги. Как следствие, это ограничивает использование фенантроновых растительных алкалоидов в лечебной практике. С другой стороны, их использование сдерживается отсутствием недорогих и экологически чистых методов синтеза фенантроновых алкалоидов из их апорфиновых растительных аналогов, представленных в природе достаточно широко.



**Апорфиновый алкалоид глауцин** –  
1,2,9,10-тетраметокси-6- $\alpha$ -апорфин (ГЛ)



**Фенантроновый алкалоид дес-глауцин** – 1-[2-(N-метиламиноэтил)]-3,4,6,7-тетраметоксифенантрен (д-ГЛ)

В этой связи весьма актуальным представляется поиск полусинтетических методов для получения новых субстанций на основе апорфиновых алкалоидов и изучение их антиоксидантных свойств. В качестве альтернативного метода синтетической трансформации природного глауцина в Южном федеральном университете (ЮФУ) разработан метод получения его фенантронового изомера – дес-глауцина (д-ГЛ) (secoglaucine) с использованием субкритической воды (СБВ) [2]. Фенантроновый изомер глауцина – дес-глауцин (1-[2-(N-метиламиноэтил)]-3,4,6,7-тетраметоксифенантрен) обладает высокой фармакологической активностью и меньшим токсическим эффектом по сравнению с глауцином.

Цель данной работы – изучение антиоксидантной активности апорфинового алкалоида глауцина (ГЛ) и полученного в субкритической воде фенантронового алкалоида – дес-глауцина (д-ГЛ).

### Экспериментальная часть

*Получение фенантренового алкалоида дес-глауцина.* Глауцин был произведен Чимкентским химфармацевтическим заводом (Казахстан) и представляет собой рацемическую смесь. ДФПГ фирмы Aldrich. Дес-глауцин (96%) получен по методике, описанной авторами в работе [2]: путем химической модификации глауцина в среде субкритической воды при температуре 250 °С.

Эксперимент состоял в следующем. Раствор 0,3 г (0,001 моля) гидрохлорида глауцина в 6 мл (0,33 моля) воды нагревали в реакторе объемом 10 см<sup>3</sup> в течение 2 ч при температуре 250 °С. Теплый раствор отфильтровывали от механических примесей. Образовавшийся после осаждения кристаллический осадок зеленого цвета отфильтровывали и промывали.

*In vivo антиоксидантная активность алкалоидов в условиях окислительного стресса индуцированного перекисью водорода (биолюминесцентный анализ).* *In vivo* антиоксидантная активность алкалоидов ГЛ и д-ГЛ изучена в условиях окислительного стресса индуцированного H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> для модельного биолюминесцентного штамма *Escherichia coli* MG1655 (*pKatG-lux*), разработанного в Государственном НИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов (Москва) [14], предоставленного лабораторией экспериментального мутагенеза НИИ биологии ЮФУ. Принцип метода и процедура анализа подробно описаны в работах [14–15]. Измерения выполнены на микропланшетном люминометре ЛМ-01А («Immunotech», Чехия).

Эффективность действия алкалоидов характеризовали протекторной (антиоксидантной) активностью алкалоидов (А, %), которую рассчитывали как процент (%) уменьшения *in vivo* токсической активности H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в присутствии алкалоида [15]:

$$A = \left(1 - \frac{I_a}{I_p}\right)100\%,$$

где I<sub>a</sub> и I<sub>p</sub> – факторы индукции биолюминесценции в условиях окислительного стресса, индуцированного перекисью водорода в присутствии протектора (антиоксиданта) и без него соответственно.

*Антирадикальная активность алкалоидов в тесте с ДФПГ.* Антирадикальная активность глауцина и дес-глауцина изучена в реакции с ДФПГ (1,1-дифенил-2-пикрилгидразил) [16]. Спектры поглощения глауцина и дес-глауцина имеют нулевое поглощение в области свыше 400 нм и позволяют анализировать изменения в спектре поглощения ДФПГ без дополнительной корректировки.

Для приготовления растворов использовали этанол. Для анализа к 2 мл ДФПГ (0,1 мМ) добавляли 1 мл ГЛ или д-ГЛ в различных концентрациях и измеряли величину оптической плотности на длине волны λ = 517 нм на спектрофотометре СПЕКС ССП 705 (производитель ЗАО «Спектроскопические системы», РФ). Антирадикальную активность (Radical Scavenging Activity (RSA)) рассчитывали по формуле [16]

$$RSA = \frac{D_{t=0} - D_{t=30}}{D_{t=0}},$$

где D<sub>t=0</sub> и D<sub>t=30</sub> – величина оптической плотности ДФПГ в начальный момент реакции и через 30 мин после начала реакции с алкалоидом.

### Обсуждение результатов

*Антиоксидантная активность алкалоидов in vivo.* На первом этапе изучено влияние алкалоидов на кинетику биолюминесценции штамма *E. coli* MG1655 (*pKatG-lux*) в отсутствии окислительного стресса (без добавления H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Какого-либо токсического действия ГЛ и д-ГЛ в отношении биолюминесценции не зарегистрировано.

В условиях окислительного стресса как ГЛ, так и д-ГЛ приводили к уменьшению индукции биолюминесценции, следовательно, снижению токсического действия H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> на бактериальные клетки. Для ГЛ и д-ГЛ получены высокие значения протекторной активности (А) (рис. 1), величина которой определяется активностью алкалоида в нейтрализации АФК (активных форм кислорода), генерируемых H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [14]. В случае дес-глауцина протекторная активность *in vivo* была значительно выше, чем для изомера – глауцина. Так, при концентрации д-ГЛ 0,2 мМ величина А составила 86%, в то время как для ГЛ при этой же концентрации в 9,5 раз ниже – 9,3%.

Для д-ГЛ получены достаточно высокие значения протекторной активности по сравнению с другими ранее изученными антиоксидантами. В частности, по литературным данным [17] для биолюминесцентного теста протекторная активность для аскорбата составляет 49%, для урата – 66%, а известного синтетического антиоксиданта аллантаина – 93% (рис. 2).

Таким образом, результаты анализа биологической активности алкалоидов с использованием биолюминесцентной тест-системы показали отсутствие токсичности ГЛ и д-ГЛ в отношении биолюминесценции генетически модифицированного штамма *E. coli* MG1655 (pKatG-lux), а также высокую антиоксидантную активность в условиях окислительного стресса, вызванного действием  $H_2O_2$ . Значения антиоксидантной (протекторной) активности, определенные в тесте *in vivo*, в случае фенантренового алкалоида дес-глауцина, полученного в субкритической воде, были существенно выше, чем для изомера (глауцина).

Антирадикальная активность алкалоидов в тесте с ДФПГ. Поведение апорфинового алкалоида ГЛ и фенантренового алкалоида д-ГЛ в реакции с ДФПГ сильно отличаются. На рисунке 3 представлена кинетика изменения оптической плотности ДФПГ при добавлении одинаковых концентраций ГЛ и д-ГЛ (1 мМ). Скорость реакции д-ГЛ с ДФПГ значительно выше, снижение оптической плотности ДФПГ составила 83% за 5 мин реакции, в то время как в реакции с ГЛ всего 6%.

Высокая скорость изменения оптической плотности ДФПГ указывает на большую скорость реакции д-ГЛ в реакции нейтрализации свободного радикала ДФПГ по сравнению с изомером ГЛ.

На рисунке 4 представлены величины антиоксидантной активности (RSA), полученные для разных концентраций ГЛ и д-ГЛ. Значения антиоксидантной активности в тесте с ДФПГ для фенантренового алкалоида дес-глауцина, синтезированного в среде субкритической воды в результате трансформации глауцина, значительно выше исходного апорфинового алкалоида.

Из полученной зависимости установлена эффективная концентрация алкалоида ( $EC_{50}$ ), которая необходима для уменьшения количества свободных радикалов ДФПГ в 2 раза (табл.). Величина  $EC_{50}$  для д-ГЛ составила 0,3 мМ, для ГЛ – 5,3 мМ соответственно.

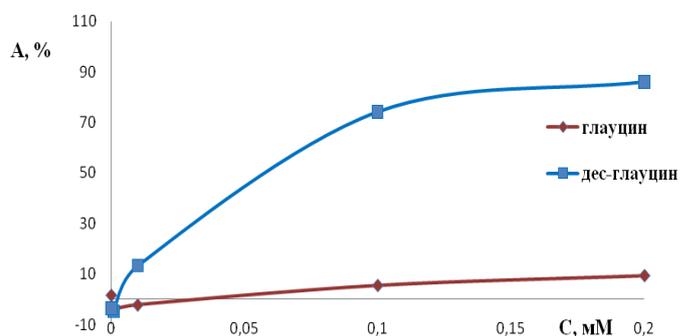


Рис. 1. Антиоксидантная активность ГЛ и д-ГЛ, полученная в биолюминесцентном тесте *in vivo* в условиях окислительного стресса, вызванного действием  $H_2O_2$

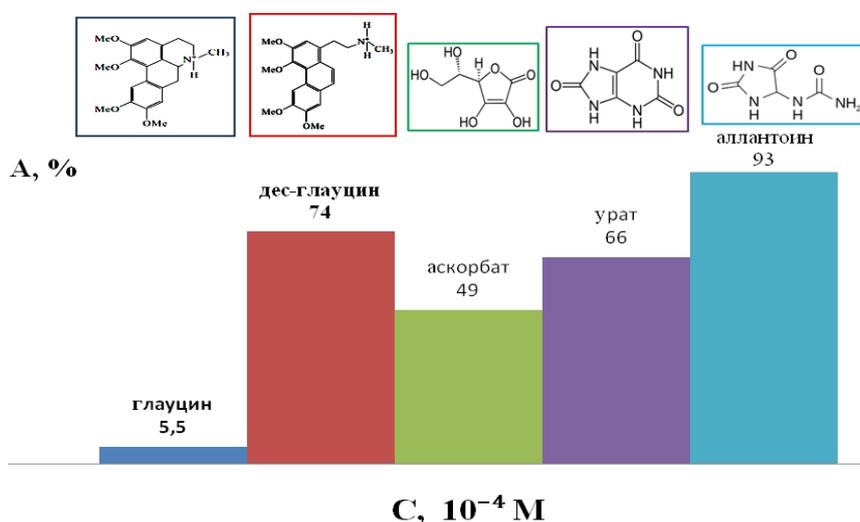


Рис. 2. Сравнение антиоксидантной активности ГЛ и д-ГЛ с известными антиоксидантами [17]

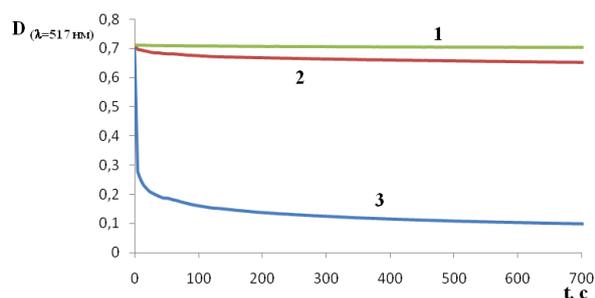


Рис. 3. Кинетика изменения оптической плотности ДФПГ (1-контроль) на длине волны  $\lambda=517$  нм в присутствии ГЛ 1 мМ (2) и д-ГЛ 1 мМ (3)

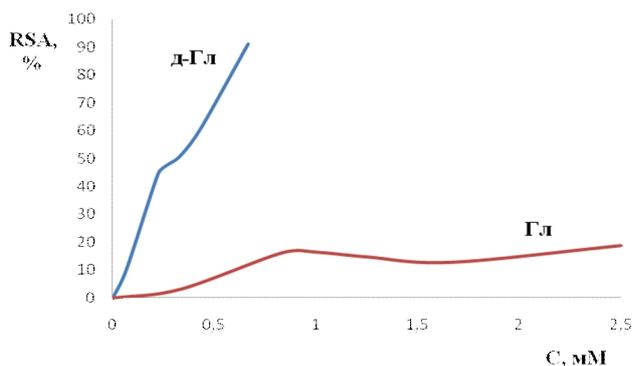


Рис. 4. Зависимость антиоксидантной активности (RSA) ГЛ и д-ГЛ в реакции с ДФПГ от концентрации алкалоидов

Эффективные концентрации ( $EC_{50}$ ) антиоксидантной активности для ГЛ и д-ГЛ, полученные в тест-реакции с ДФПГ и биолюминесцентной тест-системе *in vivo*

| Вещество | Реакция с ДФПГ | Протекторная активность в биолюминесцентном тесте <i>in vivo</i> |
|----------|----------------|--|
|          | $EC_{50}$ , мМ | $EC_{50}$ , мМ   |
| ГЛ       | 5,3            | 0,9  |
| д-ГЛ     | 0,3            | 0,05   |

Для сравнения в таблице представлены величины  $EC_{50}$ , полученные для антиоксидантной активности ГЛ и д-ГЛ в биолюминесцентной тест-системе. Величины  $EC_{50}$  для ГЛ и д-ГЛ, полученные в тесте *in vivo*, были в 6 раз ниже, чем в тесте с ДФПГ, что указывает на более высокую чувствительность биолюминесцентной системы к антиоксидантной активности алкалоидов. Данные таблицы 1 демонстрируют значительный потенциал биолюминесцентного теста для оценки антиоксидантной активности растительных апорфиновых и фенантреновых алкалоидов и их производных.

### Заключение

Таким образом, изучена антиоксидантная активность апорфинового алкалоида глауцина, как выделяемого из мачка желтого *Glaucinum flavum*, так и полученного в среде субкритической воды фенантренового алкалоида дес-глауцина с использованием биолюминесцентного биосенсора на основе штамма *E. coli* MG1655 (pKatG-lux) и в тесте с ДФПГ.

Показано, что трансформация модельного апорфинового алкалоида – ГЛ в его фенантреновый изомер с использованием среды субкритической воды позволяет получить дес-глауцин, антиоксидантные свойства которого многократно превышают активность исходного апорфинового глауцина.

В результате сравнения протекторной активности фенантренового алкалоида с изученными ранее антиоксидантами установлено, что активность дес-глауцина в реакциях нейтрализации АФК, генерируемых  $H_2O_2$ , значительно выше, чем для известных антиоксидантов аскорбата и урата, и сопоставима с аллантином.

Полученные результаты открывают перспективы использования представленных алкалоидов в качестве дополнительной неферментативной антиоксидантной системы для защиты живых организмов в условиях окислительного стресса.

Предлагаемый подход может быть с успехом использован для получения редко встречающихся в природе растительных фенантреновых алкалоидов и их производных из широко представленных в растительном мире алкалоидов апорфинового ряда, а также изучению их антиоксидантных свойств и биологической активности. Результаты исследований открывают перспективы создания новых фармацевтических субстанций посредством недорогого и экологически чистого синтеза фенантреновых алкалоидов и их производных в среде субкритической воды.

**Список литературы**

1. Турмухамбетов А.Ж., Мукушева Г.К., Сейдахметова Р.Б., Шульц Э.Э., Шакиров М.М., Багрянская И.Ю., Гатиллов Ю.В., Адекенов С.М. Синтез и антимикробная активность четвертичных солей алкалоида глауцина // Химико-фармацевтический журнал. 2009. Т. 43. №5. С. 24–27.
2. Borisenko S.N., Bicherov A.V., Pavlyuk O.V., Rudnev M.I., Borisenko N.I., Vetrova E.V., Minkin V.I., Borisenko R.N., Lekar A.V. Development of a method for des-glucine production in a subcritical water medium // Russian Journal of Physical Chemistry B. 2009. Vol. 3. N8. Pp. 1131–1133.
3. O'Brien P., Carrasco-Pozo C., Speisky H. Boldine and its antioxidant or health-promoting properties // Chemico-Biological Interactions. 2006. Vol. 159. Pp. 1–17.
4. Spasova M., Philipov S., Milkova T. Amino acid derivatives of aporphinic alkaloid glaucine and their antioxidant activity // Advances in experimental medicine and biology. 2009. Vol. 611. Pp. 267–268.
5. Ames B.N., Shigenaga M.K., Hagen T.M. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1993. Vol. 90. Pp. 7915–7922.
6. Antioxidants in Disease Mechanisms and Therapy, ed. Sies H. San Diego: Academic Press, 1996. 707 p.
7. Wright J.S., Johnson E.R., DiLabio G.A. Predicting the Activity of Phenolic Antioxidants: Theoretical Method, Analysis of Substituent Effects, and Application to Major Families of Antioxidants // J. Am. Chem. Soc. 2001. Vol. 123. Pp. 1173–1183.
8. Bauerova K., Bezek S. Role of Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Etiopathogenesis of Rheumatoid Arthritis // Gen. Physiol. Biophys. 1999. Vol. 18. Focus Issue. Pp. 15–20.
9. Bauer V., Bauer F. Reactive Oxygen Species as Mediators of Tissue Protection and Injury // Gen. Physiol. Biophys. 1999. Vol. 18. Focus Issue. Pp. 7–14.
10. Perron N.R., Brumaghim J.L. A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding // Cell Biochem. Biophys. 2009. Vol. 53. Pp. 75–100.
11. Федина П.А., Яшин А.Я., Черноусова Н.И. Определение антиоксидантов в продуктах растительного происхождения амперометрическим методом // Химия растительного сырья. 2010. №2. С. 91–97.
12. Федосеева А.А., Лебедкова О.С., Каниболоцкая Л.В., Шендрик А.Н. Антиоксидантная активность настоев чая // Химия растительного сырья. 2008. №3. С. 123–127.
13. Кузьмин С.М., Чуловская С.А., Тесакова М.В., Семейкин А.С., Парфенюк В.И. Замещенные тетрафенилпорфирины как перспективные молекулярные системы с высокой антиоксидантной активностью // Макрогетероциклы. 2014. Т. 7. №3. С. 218–224.
14. Zavgalsky G.B., Kotova V.Yu., Manukhov I.V. Action of 1,1-dimethylhydrazine on bacterial cells is determined by hydrogen peroxide // Mutation Research. 2007. Vol. 634. Pp. 172–176.
15. Чистяков В.А., Празднова Е.В., Гутникова Л.В., Сазыкина М.А., Сазыкин И.С. Супероксидустраняющая активность производного пластохинона 10-(6'-пластохинонил) децил-трифенилфосфония (SkQ1) // Биохимия. 2012. Т. 77. №7. С. 932–935.
16. Karadag A., Ozcelik B., Saner S. Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities // Food Anal. Methods. 2009. Vol. 2. Pp. 41–60.
17. Чистяков В.А. Биохимические механизмы неспецифической защиты клетки от окислительного стресса : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Ростов-на-Дону, 2011. 44 с.

*Поступило в редакцию 23 июня 2016 г.*

*После переработки 23 ноября 2016 г.*

Vetrova E.V., Borisenko N.I.\*, Hizrieva S.S., Bugaeva A.F. THE STUDY OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE APORPHINE ALKALOID OF GLAUCINE AND THE PHENANTHRENE ALKALOID OF SECO-GLAUCINE OBTAINED IN SUBCRITICAL WATER

*Institute of Physical and Organic Chemistry of Southern Federal University, pr. Stachki, 194/2, Rostov-on-Don, 344090 (Russia), e-mail: boni@ipoc.rsu.ru*

Antioxidant activity of aporphine alkaloid of glaucine – 1,2,9,10-tetramethoxy-6- $\alpha$ -aporphine (GL), that extracted from *Glaucinum flavum*, and phenanthrene alkaloid of seco- glaucine – 1-[2- (N-methylaminoethyl)]-3,4,6,7-tetramethoxy-fenantrén (seco-GL), that synthesized in medium of subcritical water were studied by bioluminescent test (*in vivo*) and in anti-radical reaction with DPPH.

Antioxidant activity of alkaloids were evaluated *in vivo* by bioluminescence of recombinant strain of *E. coli* MG1655 (pKatG-lux), induced with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The influence of GL or seco-GL led to reduced of factor induction of bioluminescence, indicating reducing the toxic effect of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on the bacterial cells due to the antioxidant activity of alkaloids. Antioxidant activity of seco-GL in bioluminescent assay was significantly higher than that of the isomer - GL. Thus, at a concentration of 0,2 mM seco-GL protective activity value was 86%, while for the GL at the same concentration in 9,5 times lower – 9,3%.

Behavior GL and seco-GL were very different in the reaction with DPPH. Seco- glaucine reacted with DPPH much faster and leads to significant changes in the absorption spectrum of DPPH. Values of EC<sub>50</sub>, obtained in the test with DPPH for seco-GL was 0,3 mM, while for GL EC<sub>50</sub>= 5,3 mM.

Thus, the transformation (in medium of subcritical water) of the model alkaloid - glaucine into its isomer seco-glaucine provided production of a phenanthrene alkaloid of seco- glaucine, whose antioxidant activity is many times higher than the natural activity of the original glaucine.

**Keywords:** antioxidant activity, aporphine alkaloids, glaucine, phenanthrene alkaloids, seco-glaucine, subcritical water, bioluminescence, DPPH.

### References

1. Turmukhambetov A.Zh., Mukusheva G.K., Seidakhmetova R.B., Shul'ts E.E., Shakirov M.M., Bagrianskaia I.Iu., Gatilov Iu.V., Adekenov S.M. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*, 2009, vol. 43, no. 5, pp. 24–27. (in Russ.).
2. Borisenko S.N., Bicherov A.V., Pavlyuk O.V., Rudnev M.I., Borisenko N.I., Vetrova E.V., Minkin V.I., Borisenko R.N., Lekar A.V. *Russian Journal of Physical Chemistry B*, 2009, vol. 3, no. 8, pp. 1131–1133.
3. O'Brien P., Carrasco-Pozo C., Speisky H. *Chemico-Biological Interactions*, 2006, vol. 159, pp. 1–17.
4. Spasova M., Philipov S., Milkova T. *Advances in experimental medicine and biology*, 2009, vol. 611, pp. 267–268.
5. Ames B.N., Shigenaga M.K., Hagen T.M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, vol. 90, pp. 7915–7922.
6. *Antioxidants in Disease Mechanisms and Therapy*, ed. Sies H., San Diego: Academic Press, 1996, 707 p.
7. Wright J.S., Johnson E.R., DiLabio G.A. *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, vol. 123, pp. 1173–1183.
8. Bauerova K., Bezek S. *Gen. Physiol. Biophys.*, 1999, vol. 18, focus issue, pp. 15–20.
9. Bauer V., Bauer F. *Gen. Physiol. Biophys.*, 1999, vol. 18, focus issue, pp. 7–14.
10. Perron N.R., Brumaghim J.L. *Cell Biochem. Biophys.*, 2009, vol. 53, pp. 75–100.
11. Fedina P.A., Iashin A.Ia., Chernousova N.I. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2010, no. 2, pp. 91–97. (in Russ.).
12. Fedoseeva A.A., Lebedkova O.S., Kanibolotskaia L.V., Shendrik A.N. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2008, no. 3, pp. 123–127. (in Russ.).
13. Kuz'min S.M., Chulovskaia S.A., Tesakova M.V., Semeikin A.S., Parfeniuk V.I. *Makroeterotsikly*, 2014, vol. 7, no. 3, pp. 218–224. (in Russ.).
14. Zavgil'skiy G.B., Kotova V.Yu., Manukhov I.V. *Mutation Research*, 2007, vol. 634, pp. 172–176.
15. Chistiakov V.A., Prazdnova E.V., Gutnikova L.V., Sazykina M.A., Sazykin I.S. *Biokhimiia*, 2012, vol. 77, no. 7, pp. 932–935. (in Russ.).
16. Karadag A., Ozcelik B., Saner S. *Food Anal. Methods*, 2009, vol. 2, pp. 41–60.
17. Chistiakov V.A. *Biokhimiicheskie mekhanizmy nespetsificheskoi zashchity kletki ot oksiditel'nogo stressa. Av-toref. dis. ... doktora biol. nauk.* [Biochemical mechanisms of nonspecific protection of cells from oxidative stress. Author. Dis. ... Dr. biol. sciences]. Rostov-na-Donu, 2011, 44 p. (in Russ.).

Received June 23, 2016

Revised November 23, 2016

\* Corresponding author.

