

DRPH-ТЕСТ ЯК ЕФЕКТИВНИЙ МЕТОД ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ

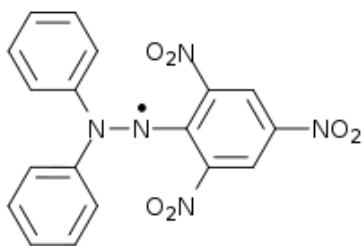
Листван К.В.¹, Листван В.В.²

¹ Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України

² Житомирський державний університет імені Івана Франка, listvan@ukr.net

Одним з найважливіших напрямів практичного застосування органічної хімії є синтез сполук, що мають ту чи іншу біологічну активність. Біологічно активні речовини – основа сучасної фармації, потребують їх однак також сільське господарство, ветеринарія, парфумерно-косметична галузь та багато інших. Виявлення більшості видів біологічної активності – антимікробної, протигрибкової, протипухлинної – потребує проведення експерименту на біологічних об'єктах: культурах бактерій, грибів, рослинних та тваринних клітин тощо і можливе лише у спеціалізованих лабораторіях, що вимагає кооперації хіміків – синтетиків з науковими закладами біологічного чи медичного профілю.

Однак деякі види потенційного впливу на живий організм можуть бути виявлені із застосуванням традиційних для хімії методів. До таких належить, зокрема, антиоксидантна активність – тематика, що активно вивчається протягом останніх десятиріч. У сучасній літературі антиоксидантна активність пов'язується, передусім, зі здатністю речовини поглинати вільні радикали. Антирадикальну дію зручно вивчати, застосовуючи стабільні вільні радикали, до яких належить, зокрема, DRPH – 2,2-дифеніл-1-пікрилгідрозил радикал.



DRPH – кристалічна речовина, що має інтенсивне фіолетово-чорне забарвлення, розчиняється лише у органічних розчинниках. В кристалічному вигляді стійкий, в розчинах чутливий до дії світла. Використовується, зокрема,

при вивченні електронного спінового резонансу, оскільки додатковий електрон надає даній речовині парамагнітних властивостей.

Метод DPPH демонструє загальну антирадикальну активність досліджуваної речовини. Принцип методу полягає у вимірюванні інтенсивності забарвлення спиртового розчину даного стабільного радикалу до і після додавання досліджуваної речовини або суміші речовин. Спиртовий розчин DPPH має пурпурно-синє забарвлення, при додаванні нього розчину речовини з радикал-поглинаючою активністю радикал відновлюється. Відновлена форма має світло-жовте забарвлення, відповідно інтенсивність забарвлення розчину зменшується пропорційно до зменшення концентрації вільного радикалу. Оптична густина розчину вимірюється спектрофотометрично, при довжинах хвиль від 500 до 550 нм, оскільки саме при таких довжинах хвиль різниця в поглинанні світла між початковою і відновленою формами DPPH є найбільшою. Порівняння величин оптичної густини контрольного розчину, що містить лише невідновлений радикал, і досліджуваних розчинів дозволяє обчислити відсоток інгібування забарвлення DPPH, на його основі - побудувати графік залежності величин інгібування забарвлення від концентрації досліджуваної речовини. За графіком встановлюється така концентрація речовини, котра викликає 50% інгібування забарвлення вільного радикалу - EC_{50} . Дана величина є кількісним виразом антиоксидантної активності речовини або суміші речовин (екстракту) і дозволяє порівнювати між собою здатність різних речовин до вловлювання вільних радикалів.

Метод є універсальним і підходить для визначення здатності до поглинання вільних радикалів як чистих речовин, так і екстрактів різного походження.

Ми досліджували взаємодію з DPPH цілої низки синтезованих нами органічних сполук різних класів – фосфонієвих солей, алкіліденфосфоранів, ненасичених та біс-ненасичених кетонів, похідних індандіону тощо. Проведені дослідження та їх результати дозволили зробити висновок про те, що метод є

простим, зручним у використанні і придатним для застосування у більшості наукових закладів хімічного профілю.

1. *Marsden S. Blois*. Antioxidant determination by the use of a stable free radical //Nature, 1958.- Vol.181.- P.1199-1200.

2. *W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier and C. Berset*. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity //LWT - Food Science and Technology, 1995.- Vol.28.- P. 25–30.