

УДК 547.943.7/541.127/128.24/577.161.6/615.272.014.425:547/665-.015.4.07

©Коллектив авторов

## КИНЕТИКА И МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ВИТАМИНА D<sub>3</sub> В ПРОЦЕССЕ ОКИСЛЕНИЯ МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМ И ЛИПИДОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ

*Н.М. Сторожок, Е.Н. Дарюхина, Е.Ю. Цветкова, И.Н. Цымбал*

ГОУ ВПО Тюменская государственная медицинская академия  
625023, г. Тюмень, ул. Одесская, 54; тел.: (3452) 20-74-21,  
факс: (3452) 20-62-00; эл. почта: Nadinstor@mail.ru

Изучена кинетика и механизм действия витамина D<sub>3</sub> в процессе инициированного окисления модельных систем различной сложности в сравнении с активностью антиоксидантов (АО) фенольного строения ( $\alpha$ -токоферола, дибунола), природных хинонов ( $\alpha$ -токоферилхинона, убихинона Q<sub>10</sub>, филлохинона) и  $\beta$ -каротина. Показано, что при введении витамина D<sub>3</sub> увеличиваются начальная и максимальная скорости поглощения кислорода, скорость инициирования, длина цепей, значение кинетического показателя  $k_2/\sqrt{k_6}$ , характеризующего окисляемость системы в целом. При концентрациях холекальциферола, превышающих  $7,5 \times 10^{-6}$  М, наблюдается торможение процесса по сравнению с контролем. Концентрационные зависимости скорости окисления и периодов индукции носят симбатный характер с точками экстремума в области  $(2,5-7,5) \times 10^{-4}$  М. При окислении плазмы крови показано, что скорость накопления диеновых конъюгатов – первичных продуктов окисления – увеличивается пропорционально концентрации витамина D<sub>3</sub>. Витамин D<sub>3</sub> не влияет на кинетику накопления ТБК-активных продуктов. Полученные данные объясняются высокой лабильностью холекальциферола, который может служить дополнительным источником свободных радикалов. Методом хемилюминесценции установлено, что витамин D<sub>3</sub>, в отличие от фенольных АО и  $\beta$ -каротина, не взаимодействует с пероксильными радикалами. При сравнительном анализе кинетических параметров поглощения кислорода показано, что, в отличие от хинонов, являющихся ловушкой алкильных радикалов, витамин D<sub>3</sub> не проявляет антирадикальной активности в отношении радикалов этого сорта. Таким образом, холекальциферол не способствует линейному обрыву цепей окисления, а напротив, инициирует образование свободных радикалов. Эффекты торможения процесса в присутствии витамина D<sub>3</sub> обусловлены квадратичным обрывом разноименных радикалов субстрата и холекальциферола в реакциях кросс-диспропорционирования.

**Ключевые слова:** эргокальциферол (витамин D<sub>2</sub>), холекальциферол (витамин D<sub>3</sub>),  $\alpha$ -токоферол, пероксидное окисление липидов

**ВВЕДЕНИЕ.** Известна группа структурно родственных витаминов D (D<sub>2</sub>-D<sub>7</sub>), регулирующих в организме обмен кальция и фосфора, обеспечивающих их транспорт через слизистую оболочку кишечника и включение в костную ткань [1,2]. Среди секостеринов наиболее активны эргокальциферол (витамин D<sub>2</sub>) и холекальциферол (витамин D<sub>3</sub>), использующиеся для предупреждения и лечения рахита, остеомалации и остеопороза [1,2]. Появились новые данные, свидетельствующие о гормональной активности витаминов группы D, их участии в регуляции транскрипции генов [3].

В литературе обсуждаются системные нарушения, проявляющиеся как при гиповитаминозе, так и при гипervитаминозе D [4-6]. Последний сопровождается нарушением обмена стероидов, блокадой работы ионных насосов, активацией лизосомных ферментов [7,8], повышением проницаемости мембран, снижением резистентности эритроцитов [7,9].

Считают, что многочисленные нарушения при D-гипервитаминозе связаны с активацией пероксидного окисления липидов (ПОЛ). Влияние на процессы окисления ранее детально изучались на примере эргокальциферола (витамина D<sub>2</sub>) [10,11]. Установлено, что при физиологических значениях температуры и pH эргокальциферол образует продукты, участвующие в продолжении цепей свободнорадикального окисления липидов клеточных мембран [12].

Системных исследований воздействия витамина D<sub>3</sub> на процессы ПОЛ ранее не проводилось. Известны работы, в которых показано, что введение холекальциферола на фоне его недостаточности приводит к снижению интенсивности окислительных процессов [13,14]. В качестве доказательств ингибирующего действия витамина D<sub>3</sub> приводятся сведения об антирадикальной активности липидов крови животных, принимающих индивидуальный холекальциферол или его метаболит (экдистерон) [14]. Эти данные противоречат результатам, полученным ранее для витамина D<sub>2</sub>. Установлено, что клинические проявления отравлений эргокальциферолом развиваются на фоне усиления процессов свободнорадикального окисления липидов биомембран и обусловлены иницирующим действием витамина D<sub>2</sub> [10,11]. Для снижения интенсивности ПОЛ при гипервитаминозе D<sub>2</sub> предлагается применение известного природного антиоксиданта (АО) – α-токоферола (α-ТФ) [10].

В связи с противоречивостью литературных данных в настоящей работе ставили целью детально исследовать кинетические закономерности и механизм действия индивидуального холекальциферола при инициированном окислении модельных субстратов и липидов плазмы крови. Оценивали активность витамина D<sub>3</sub> в ключевых элементарных реакциях окисления, описывали его брутто-ингибирующее действие при различных концентрациях. Кинетические закономерности действия холекальциферола сравнивали с активностью природных и синтетических ингибиторов окисления фенольной природы (α-ТФ, дибунола), терпена – β-каротина и хиноидных антиоксидантов (АО) (убихинона - Q<sub>10</sub>, филлохинона и токотриенолхинона).

**МЕТОДИКА.** Кинетику процесса окисления изучали в манометрических установках типа Варбурга. В качестве субстратов использовали кумол, модельные липиды, метилолеат (МО) и липиды плазмы крови. Субстраты растворяли в инертном к окислению растворителе (хлорбензоле) в соотношении 1:1. Реакцию инициировали за счет термического разложения азобисизобутиронитрила (АИБН). Эксперименты проводили при 60°C, концентрация инициатора составляла  $3,0 \times 10^{-3}$  М. Оценивали кинетику окисления МО в присутствии витаминов D<sub>3</sub>, токотриенолхинона, филлохинона (витамина K<sub>1</sub>), убихинона (коэнзима Q<sub>10</sub>).

Антирадикальную активность витамина D<sub>3</sub> исследовали методом термохемилюминесценции в системе инициированного окисления кумола [15].

Кинетику накопления диеновых конъюгатов и малонового альдегида изучали методами, приведенными в [16,17].

В работе использованы α-ТФ, убихинон, филлохинон, дибунол фирмы “Serva” (Германия), витамин D<sub>3</sub>, токотриенолхинон фирмы “Sigma” (Германия). Метилолеат был синтезирован в Институте органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, дважды очищен методом перегонки под вакуумом при остаточном давлении 5 мм рт. ст. Очистку хлорбензола производили методом простой перегонки. Очистку кумола производили по стандартным методикам [18].

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** Формулы использованных в работе соединений приведены на схеме 1. Они относятся к следующим классам: секостероидов (витамин D<sub>3</sub> - I), АО фенольного строения α-ТФ - II, дибунол - III), ингибиторов окисления хиноидного строения (токотриенолхинон - IV, филлохинон (витамин K<sub>1</sub>) - V, убихинон Q<sub>10</sub> - VI), терпенам (β-каротин - VII). Набор указанных АО был необходим для обоснования роли и механизма действия холекальциферола в процессе окисления.

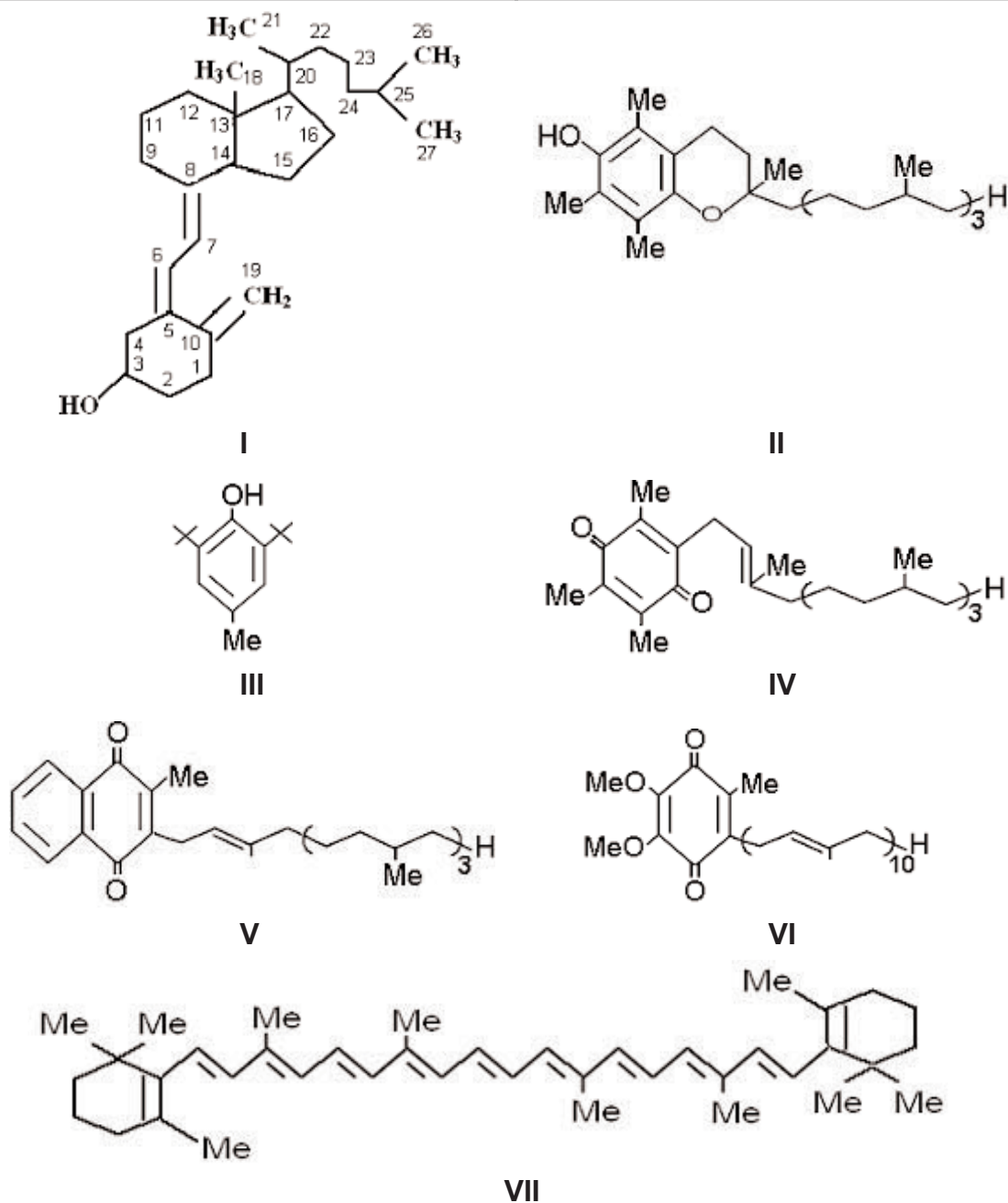
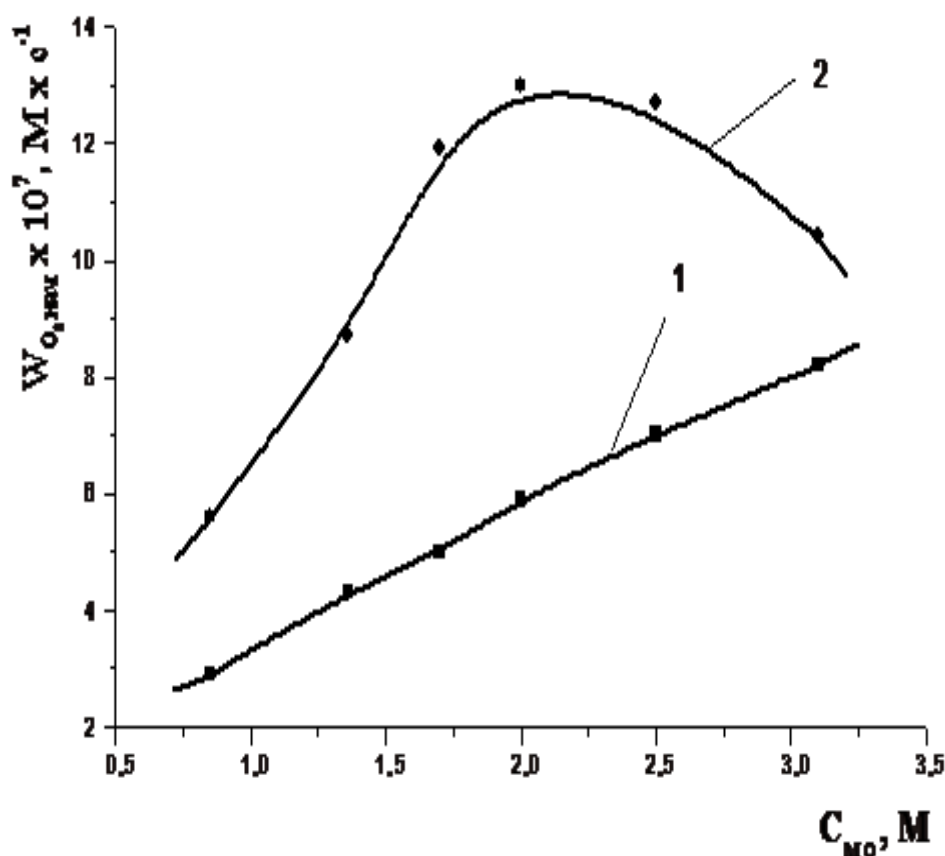


Схема 1. Структурные формулы соединений.

В присутствии витамина  $D_3$  исследовали и сопоставляли между собой кинетику окисления систем возрастающей сложности. Анализировали закономерность изменения кинетических параметров процесса в опытах с различными количествами модельного субстрата (МО) и в экспериментах, дополнительно содержащих равную концентрацию холекальциферола, соответствующую  $2,5 \times 10^{-4}$  М. На рисунке 1 представлена зависимость изменения начальной скорости окисления от концентрации субстрата в опытах с витамином  $D_3$  и без него. Из данных этого рисунка следует, что скорость процесса прямо пропорциональна количеству МО (рис. 1, кривая 1). Кривая для композиции (МО + витамин  $D_3$ ) располагается выше кривой 1 (рис. 1, кривая 2). Таким образом,

## ВЛИЯНИЕ D<sub>3</sub> НА ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ

введение холекальциферола приводит к ускорению реакции. Можно выделить диапазон концентраций МО  $(1,75-2,50) \times 10^{-4}$  М, при которых добавка витамина D<sub>3</sub>, по массе не превышающая 0,01–0,02%, вдвое увеличивает величину начальной скорости окисления. Эти данные указывают на то, что холекальциферол способствует дополнительному иницированию процесса. Из рисунка 1 видно, что кривая 2 носит экстремальный характер. Появление экстремума связано, по всей вероятности, с тем, что с ростом концентрации субстрата в системе нарастает количество свободных радикалов, образуемых при окислении МО и витамина D<sub>3</sub>, которые вступают между собой в реакции перекрестного обрыва цепей (кросс-диспропорционирования). Снижение скорости процесса является следствием квадратичного обрыва цепей, приводящего к гибели разноименных радикалов.



**Рисунок 1.**

Зависимость изменения начальной скорости окисления систем при различной концентрации метилолеата (МО) (1), а также окисления МО с постоянной концентрацией витамина D<sub>3</sub> ( $2,5 \times 10^{-4}$ ) М (2);  $C_{AIBN} = 3,0 \times 10^{-3}$  М.

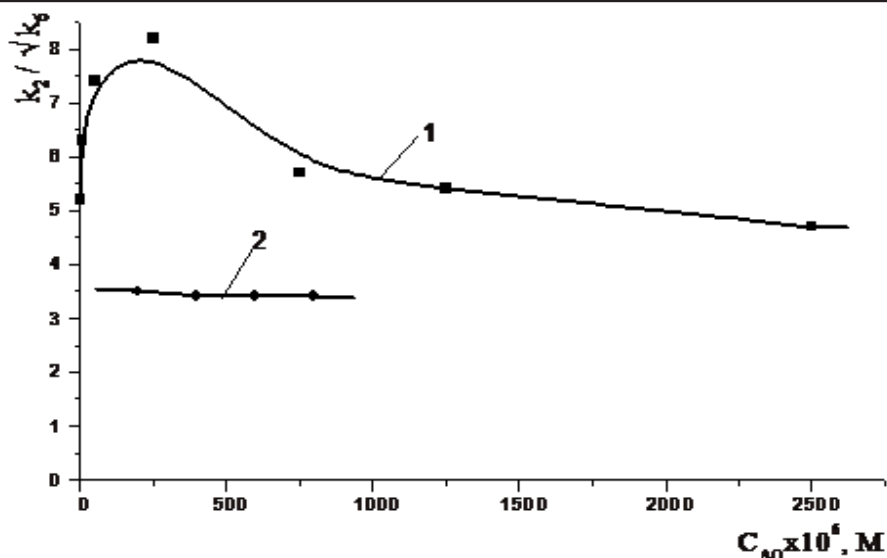
В дальнейшем изучали окисление систем, включающих равное количество МО и различные концентрации витамина D<sub>3</sub>, изменяющиеся в диапазоне от  $2,5 \times 10^{-6}$  до  $3,6 \times 10^{-3}$  М. Было показано, что как на начальной стадии реакции, так и в развившемся процессе скорость окисления превосходила величину этого показателя в контроле (МО) (табл. 1). Зависимость начальной и максимальной скорости поглощения кислорода от концентрации витамина D<sub>3</sub> экстремальна, положение максимума соответствует концентрации  $2,5 \times 10^{-4}$  М (табл. 1).

Таблица 1. Кинетические параметры инициированного окисления метилолеата в присутствии витамина D<sub>3</sub> и хинонов C<sub>АИБН</sub> = 3,0×10<sup>-3</sup> М.

№ п/п	Концентрация АО, С(АО)×10 <sup>6</sup> , М	Концентрация субстрата, М	Период индукции, мин	W <sub>О2инд</sub> ×10 <sup>7</sup> , М×с <sup>-1</sup>	W <sub>О2max</sub> ×10 <sup>7</sup> , М×с <sup>-1</sup>	W <sub>О2</sub> АО / W <sub>О2</sub> МО	v = W <sub>О2</sub> / W <sub>i</sub>	k <sub>2</sub> / √k <sub>6</sub> ×10 <sup>-3</sup>
<b>метилолеат + холекальциферол (витамин D<sub>3</sub>)</b>								
1	контроль	0,85	25	4,9	8,0	1,00	18,0	4,4
2	2,5	0,85	22	6,2	9,4	1,17	20	5,2
3	7,5	0,85	35	6,6	11,4	1,42	25,3	6,3
4	50,0	0,85	50	6,8	13,3	1,66	29,5	7,4
5	250,0	0,85	76	8,7	14,7	1,83	32,6	8,2
6	750,0	0,85	66	8,5	10,2	1,27	22,6	5,7
7	1250,0	0,85	50	6,3	9,8	1,22	21,7	5,4
8	2500,0	0,85	40	5,2	8,6	1,1	19,2	4,7
<b>метилолеат + α-токоферилхинон</b>								
1	контроль	0,85	25	4,9	8,0	1,0	18,0	4,4
2	50,0	0,85	32	3,2	6,3	0,78	14,0	3,5
3	100,0	0,85	40	-	6,2	0,77	13,8	3,4
4	250,0	0,85	60	2,0	6,0	0,75	14,0	3,5
5	500,0	0,85	80	1,8	5,8	0,72	13,8	3,4
<b>метилолеат + филлохинон (витамин K<sub>1</sub>)</b>								
1	контроль	0,85	25	4,9	8,0	1,0	18,0	4,4
2	80,0	0,85	30	2,5	8,9	1,11	19,7	4,9
3	200,0	0,85	40	1,2	8,4	1,05	18,6	4,6
4	500,0	0,85	50	1,1	6,6	0,82	14,6	3,7
5	1000,0	0,85	70	0,97	6,4	0,8	14,2	3,6
<b>метилолеат + убихинон (Q<sub>10</sub>)</b>								
1	контроль	0,85	25	4,9	8,0	1,0	18,0	4,4
2	200,0	0,85	39	4,6	7,0	0,87	15,5	3,8
3	500,0	0,85	55	4,2	6,4	0,8	14,2	3,5
4	800,0	0,85	80	3,5	5,4	0,67	12,0	3,0
5	1000,0	0,85	90	3,1	6,5	0,81	14,4	3,6
6	1200,0	0,85	98	2,9	5,3	0,66	11,7	2,9

Было изучено влияние витамина D<sub>3</sub> на скорость инициирования процесса. Установлено, что холекальциферол способствует увеличению скорости инициирования. Так, при его соотношениях к массе субстрата, равных 0,2% и 0,4%, скорость инициирования возрастает в 1,6 и 2,0 раза соответственно. Введение в систему витамина D<sub>3</sub> приводит к росту длины цепей и окисляемости системы, характеризуемой кинетическим показателем k<sub>2</sub>/√k<sub>6</sub> (табл. 1). Эти данные указывают на то, что витамин D<sub>3</sub> привносит в систему дополнительное количество свободных радикалов. В сравнении проанализирован характер зависимости величины k<sub>2</sub>/√k<sub>6</sub> от концентрации реперного ингибитора – дибунола, взаимодействующего, как известно, с пероксильными радикалами, ведущими процесс окисления (рис. 2). Из рисунка 2 видно, что классический антиоксидант, обеспечивающий линейный обрыв цепей окисления, не влияет на скорость инициирования, поскольку в отличие от витамина D<sub>3</sub>, является ловушкой, а не источником свободных радикалов.

## ВЛИЯНИЕ D<sub>3</sub> НА ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ

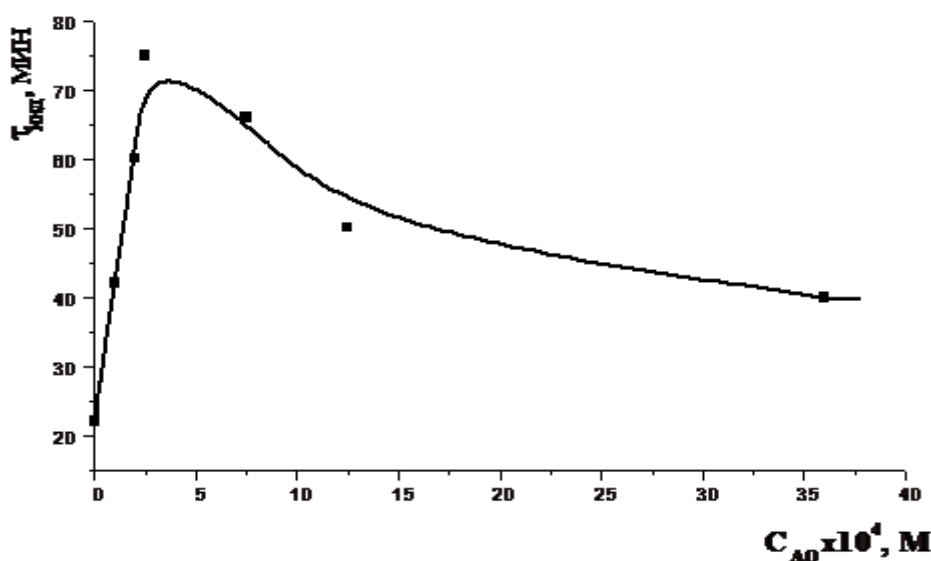


**Рисунок 2.**

Зависимость изменения окисляемости метилолеата (МО), содержащего витамин D<sub>3</sub> (1) и дибунол (2) от их концентрации,  $C_{AIBN} = 3,0 \times 10^{-3} M$ .

С ростом концентрации витамина D<sub>3</sub> на кинетических кривых поглощения кислорода появляются периоды индукции, превосходящие латентный период индивидуального МО. Эти данные свидетельствуют о торможении процесса (табл. 1). В связи с этим представлялось важным проанализировать взаимосвязь брутто-ингибирующих эффектов и концентрации витамина D<sub>3</sub>.

Установлено, что указанная зависимость имеет форму кривой с экстремумом (рис. 3). Обращает внимание, что форма и масштаб изменений периодов торможения повторяют зависимость скорости окисления от концентрации холекальциферола в системе окисления. Следовательно, максимальные эффекты торможения соответствуют опытам, протекающим с наиболее высокой скоростью (табл. 1). Симбатный характер изменения указанных кинетических параметров позволяет предположить, что торможение окисления является отражением реакций кросс-диспропорционирования.



**Рисунок 3.**

Зависимость величины периодов индукции от концентрации витамина D<sub>3</sub> при инициированном окислении метилолеата (МО),  $C_{AIBN} = 3,0 \times 10^{-3} M$ .



В то же время известно, что для большинства синтетических АО существует положительная корреляционная связь между концентрацией и величиной периодов индукции [19]. Для ряда природных АО ( $\beta$ -каротина, витаминов А и Е) установлен экстремальный характер указанной зависимости [20]. Таким образом, форма концентрационной кривой для витамина  $D_3$ , внешне напоминает описанные в литературе зависимости для  $\alpha$ -ТФ и  $\beta$ -каротина [20]. Для указанных природных АО нами была изучена взаимосвязь между количеством ингибитора и величиной периодов индукции. Полученные результаты воспроизводят литературные данные (рис. 4). Анализ концентрационных зависимостей для указанных природных соединений и витамина  $D_3$  показал, что кривые различаются как положением точек экстремума, так и эффективностью брутто-ингибирующего действия (рис. 3, табл. 2). Сопоставление данных таблицы 2 показывает, что в точках экстремума кривых, периоды индукции для витамина  $D_3$ ,  $\beta$ -каротина и  $\alpha$ -токоферола соотносятся как 1:1,3:13,0. Видно, что наибольшее тормозящее действие холекальциферола в сравнении с  $\alpha$ -токоферолом не превышает 8%. Таким образом, эффекты торможения, проявляющиеся в присутствии витамина  $D_3$ , незначительны по величине и обусловлены, по всей вероятности, соокислением холекальциферола и основного субстрата окисления (МО) в результате квадратичного обрыва цепей окисления при кросс-диспропорционировании свободных радикалов.

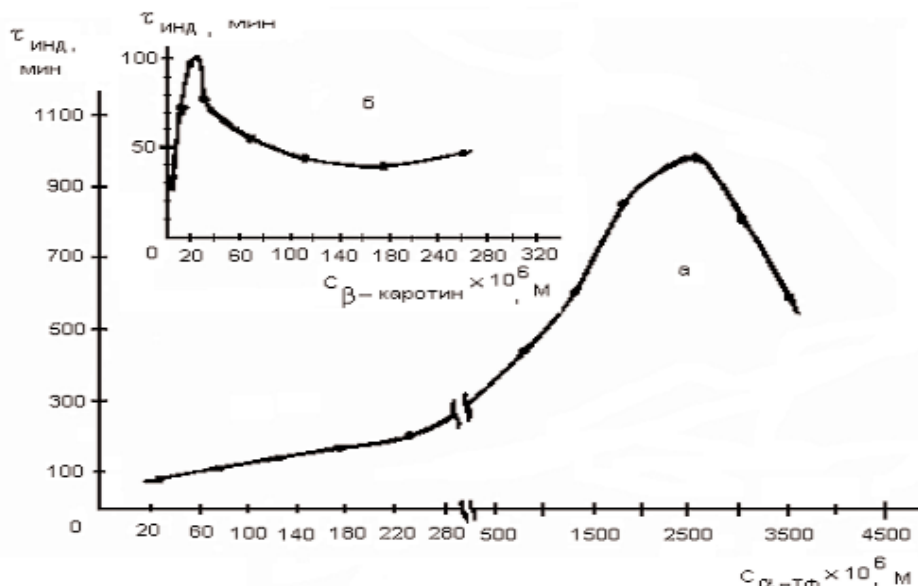


Рисунок 4

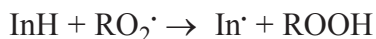
Зависимость изменений периодов индукции от концентрации  $\alpha$ -токоферола (а) и  $\beta$ -каротина (б) при инициированном окислении метилолеата (МО),  $C_{MO}=0,85$  М,  $C_{АИБН} = 3,0 \times 10^{-3}$  М.

Таблица 2. Кинетические параметры действия природных антиоксидантов различного строения,  $C_{MO} = 0,85$  М,  $C_{АИБН} = 3,0 \times 10^{-3}$  М.

№ п/п	Вещество	$C_{\text{max}}$ , М	Диапазоны эффективных концентраций, $C \times 10^{-4}$ , М	$\tau_{\text{инд}}$ при $C_{\text{max}}$ , мин	$k_7 \times 10^4$ , $M^{-1} \times c^{-1}$	$k_7 \times 10^4$ , $M^{-1} \times c^{-1}$ (литературная)
1	холекальциферол (витамин $D_3$ )	$2,5 \times 10^{-4}$	2,0 - 7,5	76	-	-
2	$\beta$ -каротин	$2,6 \times 10^{-5}$	0,20 - 0,40	100	1,4	1,0-1,5
3	$\alpha$ -токоферол	$2,5 \times 10^{-3}$	12,5 - 35,0	980	360	330

Как видно, приведенные выше данные противоречат выводам работ [13,14], в которых витамину D<sub>3</sub> приписываются антиоксидантные свойства. В связи с этим считали необходимым более подробно изучить действие витамина D<sub>3</sub> в модельных системах, в которых тестируют антирадикальную активность ингибиторов окисления.

Известно, что важнейшей характеристикой АО является константа k<sub>7</sub>, характеризующая эффективность взаимодействия ингибитора с пероксильными радикалами, ведущими процесс окисления.



7.

В настоящей работе хемилюминесцентным методом было оценено значение констант k<sub>7</sub> для α-токоферола и β-каротина, для которых получены величины, близкие литературным данным (табл. 2) [21,22]. Исследование в тех же условиях действия холекальциферола показало, что он не взаимодействует с пероксильными радикалами. Следовательно, витамин D<sub>3</sub> не является ингибитором окисления, способным, как большинство классических АО, обрывать цепи окисления по реакции 7.

Ранее было показано, что соединения хиноидного строения могут присоединять алкильные радикалы по оксо-группе и двойной связи, оказывая таким образом ингибирующее действие на процесс окисления. Их действие как ловушки алкильных радикалов проявляется на начальных стадиях и кинетически выражается снижением начальной скорости процесса [23].

По химическому строению холекальциферол (I) представляет собой полиненасыщенное соединение, содержащее три сопряженные двойные связи (схема 1). Возможно, что он может присоединять алкильные радикалы, а благодаря эффекту делокализации образующиеся радикалы малоактивны. Для проверки этой гипотезы сопоставили характер влияния витамина D<sub>3</sub> и природных хинонов: токотриенолхинона (IV), филлохинона (V), убихинона (коэнзима Q<sub>10</sub>) (VI) на кинетические параметры окисления. Зависимость изменений периодов индукции от концентрации указанных хинонов приведена на рисунке 5. Видно, что периоды индукции прямо пропорциональны концентрации природных хинонов. Соединения эффективно ингибируют процесс окисления субстрата. Их действие в сравнимых концентрация значительно превосходит эффект витамина D<sub>3</sub>, но уступает α-ТФ (табл. 1).

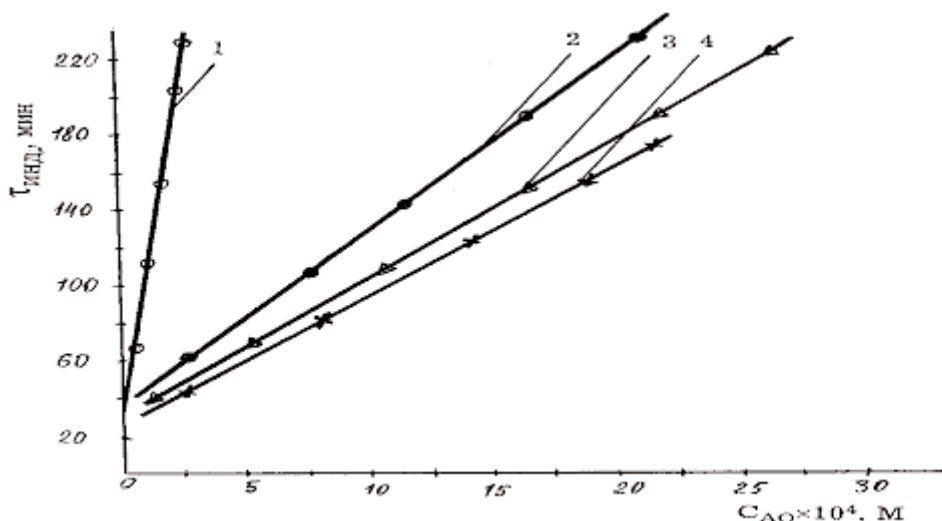


Рисунок 5.

Зависимость величины периодов индукции окисления метилолеата (МО) от концентрации ингибиторов: 1 - α-токоферола; 2 - α-токотриенолхинона; 3 - убихинона (Q<sub>10</sub>); 4 - витамина К<sub>1</sub>; C<sub>АИБН</sub> = 3,0 × 10<sup>-3</sup> М.



Изучение влияния исследуемых хинонов на начальную скорость окисления показало снижение ее величины с ростом их концентрации (табл. 1). Скорость окисления в присутствии холекальциферола, как было показано выше, напротив, возрастает (рис. 1).

Таким образом, незначительное торможение окисления при введении в систему витамина  $D_3$  связано не с линейным обрывом цепей окисления, обусловленным гибелью алкильных или пероксильных радикалов на молекулах ингибитора, а определяется квадратичным обрывом цепей в реакциях кросс-диспропорционирования.

Учитывая литературные данные об ингибировании витамином  $D_3$  и его метаболитами окисления липопротеинов низкой плотности [13,14], изучили характер влияния холекальциферола на кинетику окисления липидов плазмы крови. Плазма крови по сравнению с модельным субстратом (МО) является более сложной системой. Однако, сопоставление результатов позволяет получить дополнительные сведения о роли витамина  $D_3$  в процессе окисления. Изучали кинетику накопления первичных и вторичных продуктов окисления липидов: диеновых конъюгатов (ДК) и малонового альдегида (МДА). Было показано, что добавки витамина  $D_3$  к плазме крови приводят к увеличению накопления диеновых конъюгатов в процессе иницированного АИБН окисления смеси (рис. 6 а). Установлено, что скорость накопления диеновых конъюгатов пропорциональна концентрации холекальциферола. При этом не выявлено изменения под влиянием витамина  $D_3$  кинетики накопления ТБК-активных продуктов (рис. 6 б).

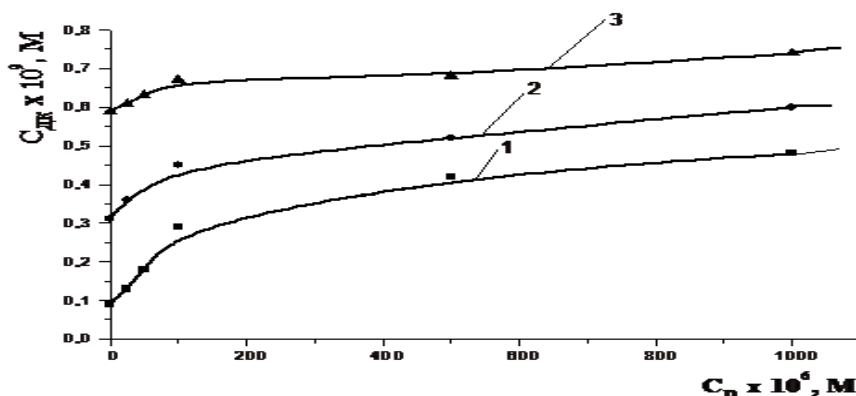


Рисунок 6а.

Зависимость накопления диеновых конъюгатов при иницированном окислении плазмы крови в присутствии витамина  $D_3$  от его концентрации через 60 мин (1), 90 мин (2) и 120 мин (3),  $C_{АИБН}=3,0 \times 10^{-3} M$ .

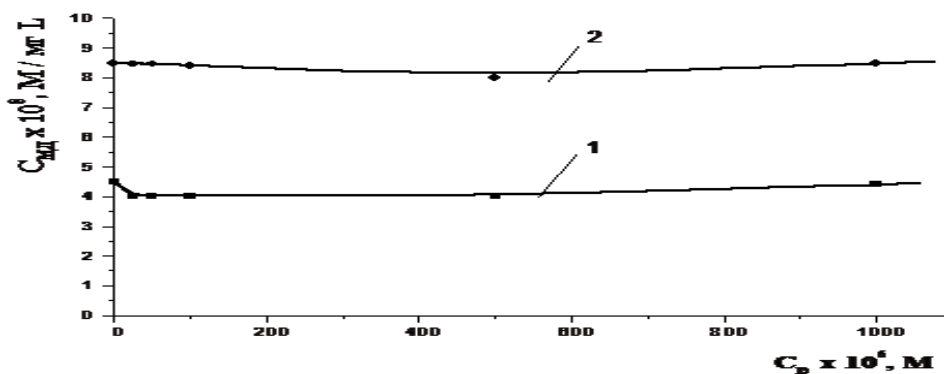


Рисунок 6б.

Зависимость накопления малонового альдегида от концентрации витамина  $D_3$  через 90 мин (1), 120 мин (2) при иницированном окислении плазмы крови,  $C_{АИБН}=3,0 \times 10^{-3} M$ .

Таким образом, влияние холекальциферола проявляется на начальных стадиях процесса и обусловлено его инициирующим действием. Эти данные подтверждают результаты, полученные в независимых экспериментах при изучении окисления модельного субстрата (МО) (рис. 1, табл. 1).

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ.** Совокупность полученных данных позволяет заключить, что холекальциферол не только не является АО, но представляет собой наиболее легкоокисляемый компонент исследуемой системы. В его присутствии протекают процессы соокисления, при высоких концентрациях холекальциферола возможно торможение процесса, связанное с квадратичным обрывом цепей при кросс-диспропорционировании свободных радикалов.

На основании полученных нами данных можно считать, что описываемые в работах [13,14] эффекты ингибирования окисления липопротеинов низкой плотности, микросомальной и митохондриальной фракций печени крыс при введении *in vivo* экспериментальным животным холекальциферола на фоне его недостаточности, обусловлены действием не собственно витамина D<sub>3</sub>, а его метаболитов, образующихся в организме в результате реакций гидроксилирования. Ингибирующим действием, в частности, может обладать 1,25-дигидроксивитамин D<sub>3</sub>. К настоящему времени прямых исследований, посвященных изучению действия этого соединения, мы не обнаружили. Имеются лишь данные, косвенно подтверждающие антиоксидантные свойства метаболитов холекальциферола [24]. Это предположение может быть также дополнительно подкреплено работами по изучению антиоксидантной активности тритерпеноидов (ряда бетулоновой и глицирретовой кислот). Показано, что введение гидроксильных групп в 3 и 17 положения циклической структуры лупана способствует существенному увеличению антиоксидантной активности соединений [25].

Таким образом, совокупность полученных нами данных показывают, что индивидуальный холекальциферол не является антиоксидантом, он вовлекается в реакцию подобно субстрату и способствует дополнительному инициированию окисления. Возможно, по истечении некоторого времени образующиеся при его гидроксилировании метаболиты смогут несколько затормозить процесс, однако, целесообразно при отравлениях витамином D применять все же эффективные ингибиторы, например  $\alpha$ -токоферол. В дальнейших работах нами ставится задача исследования в процессе окисления совместного действия холекальциферола и витамина E.

## ЛИТЕРАТУРА.

1. *Спиричев В.Б., Конь И.Я.* (1989) Итоги науки и техники. Физиология человека и животных. ВИНТИ, **37**, 96-110.
2. *Бауман В.К.* (1989) Биохимия и физиология витаминов D. Зинатне. Рига.
3. *Marcinkowska E.* (2001) Biol. Signals Recept., **10** (6), 341-349
4. *Струков В.И., Барлыбаева Н.А.* (1980) Педиатрия, №3, 56-57.
5. *Астахова А.В.* (1995) Клин. фармакол. тер., **4** (1), 92-95.
6. *Ермоленко В.М., Спиричев В.Б., Рождественская Т.М., Блажевич Н.В., Струнин С.Е., Переверзева О.Г.* (1984) Тер. арх., **56** (7), 120-125.
7. *Блажевич Н.В., Спиричев В.Б.* (1966) Вопр. мед. химии, **12**, 424-429.
8. *Конь И.Я.* (1971) Влияние ретинола и эргокальциферола на стабильность мембран и активность ферментов митохондрий и лизосом. Автореф. дисс. канд. наук, Москва.
9. *Блажевич Н.В.* (1975) В сб.: Биоантиокислители. Наука, Москва, с. 61-64.
10. *Спиричев В.Б.* (1977) Биохимические механизмы гипервитаминоза D. Автореф. дисс. докт. наук, Институт биол. и мед. химии АМН СССР, Москва.
11. *Спиричев В.Б., Газдаров А.К., Баркова Л.Б. и др.* (1975) В сб.: Биоантиокислители. Наука, Москва, с. 92-95.

12. Спиричев В.Б., Милосердова А.Г., Зиновьева Т.А., Богословский Н.А., Кожина З.П. (1971) Биохимия, **36** (3), 489-496.
13. Кузьменко А.И., Морозова Р.П., Николенко И.А., Донченко Г.В. (1999) Укр. биохим. ж., **71**(5), 80-84.
14. Кузьменко А.И., Морозова Р.П., Николенко И.А. и др. (1997) Биохимия, **62**, 712-715.
15. Шляпинтох В.Я., Карпухина О.Н., Постников Л.М. и др. (1972) Хемилюминесцентные методы исследования медленных химических процессов. Наука, М.
16. Shenstone F.S. (1971) Spectrometric indentification of organic compounds. Ultraviolet and visible spectroscopy of lipids. New York, pp.77-91.
17. Smith J.B., Ingeman C.M., Silver M.J. (1976) J. Lab. Clin. Med., **88** (1), 167-172.
18. Соломко Н.Н., Цепалов В.Ф. (1968) Кинетика и катализ, **9** (4), 766-771.
19. Сторожок Н.М., Крысин А.П., Гуреева Н.В. (2001) Вопр. мед. химии, **47**, 517-525.
20. Кутузова И.В., Сторожок Н.М., Рудакова И.П., Тенцова А.И. (1997) Фармация, №4, 17-18.
21. Кухтина Е.Н., Храпова Н.Г., Бурлакова Е.Б. и др. (1983) Докл. АН СССР, **272**, 729-732.
22. Ozhogina O.T., Kasaikina O.T. (1995) Free Rad. Biol. Med., **19** (5), 575.
23. Рогинский В.А. (1988) Фенольные антиоксиданты. Наука, М.
24. Brasitus T.A., Dudeja P.K., Eby B. and Lau K. (1986) J. Biol. Chem., **261**, 16404-16409.
25. Цымбал И.Н. (2004) Сб.: Актуальные проблемы теоретической, экспериментальной и клинической медицины. Академия, Тюмень, с. 88-89.

Поступила: 22. 10. 2004

#### KINETICS AND ACTION MECHANISM OF VITAMIN D<sub>3</sub> IN THE PROCESS OF LIPID AND BLOOD PLASMA OXIDATION IN MODEL SYSTEM

*N.M. Storozhok, E.N. Daryuhina, E.U. Ztvetkova, U.N. Zhymbal*

SGI HPE Tyumen State Medical Academy

Odesskaya st., 54, Tyumen, 625023 Russia; tel.: (3452) 20-74-21; fax: (3452) 20-62-00;  
e-mail: Nadinstor@mail.ru

Kinetics and mechanism of vitamin D<sub>3</sub> action were investigated in the process of initiated oxidation of various modeling systems in comparison with activity of various antioxidants such as:  $\alpha$ -tocopherol, dibunol,  $\alpha$ -tocopheryl quinone, ubiquinone Q<sub>10</sub>, philloquinone and  $\beta$ -carotene. Vitamin D<sub>3</sub> addition increased initial and maximal rates of oxygen consumption. The length of circuits, value of a kinetic parameter  $k_2/\sqrt{k_6}$ , describing oxidability of system as a whole was also increased. Cholecalciferol concentrations exceeding  $7,5 \times 10^{-6}$  M inhibited these processes. Increase of conjugated dienes was proportional to vitamin D<sub>3</sub> concentration. Vitamin D<sub>3</sub> did not influence kinetics of accumulation of TBA-reactive products. These results may be explained by high lability of cholecalciferol, which may represent an additional source of free radicals.

**Key words:** ergocalciferol (vitamin D<sub>2</sub>), cholecalciferol (vitamin D<sub>3</sub>),  $\alpha$ -tocopherol, lipid peroxidation.