

## **Аналитические системы для хемилюминесцентного определения активных форм азота и ингибиторов свободнорадикальных реакций на примере оксида графена**

*Чермашенцев Г.Р.<sup>1</sup>, Михеев И.В.<sup>1</sup>, Созарукова М.М.<sup>1,2</sup>, Измайлов Д.Ю.<sup>3</sup>, Проскурнина Е.В.<sup>4</sup>, Проскурнин М.А.<sup>1</sup>*

*chermashentsev96@mail.ru*

<sup>1</sup> Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия

<sup>2</sup> Институт общей и неорганической химии РАН имени Н.С. Курнакова РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup> Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия

<sup>4</sup> Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова, Москва, Россия

Оксид графена (ОГ) — водорастворимый материал, обладающий широким набором кислородсодержащих функциональных аддендов, которые имеют потенциал регулирования про- или антиоксидантных свойств. Учитывая свойства ОГ как антиоксидантного агента и потенциального фармпрепарата, важно изучение его влияния на продукты клеточного метаболизма, в частности по отношению к активным формам (АФ) — высоко реакционноспособным частицам, нарушающим внутриклеточные процессы. Эти соединения включают оксид азота (NO), пероксид водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), супероксидный анион-радикал (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) и другие. Разработка аналитической модели генерации АФ и изучение в этих моделях про- и антиоксидантных свойств ОГ являются самостоятельной целью.

Одним из высокочувствительных методов оценки свободных радикалов является хемилюминометрия (ХЛ), где выбор молекулярного зонда позволяет добиться высокой селективности по отношению к свободному радикалу.

В работе оптимизирована хемилюминометрическая методика определения оксидантной активности в системе «люминол/NO(насыщ. водн. р-р.)/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>» и проведен анализ радикал-перехватывающих свойств водных дисперсий оксида графена (синтез по методу Хаммерса). Получение NO(насыщ. водн. р-р.) проводили *in situ* генерацией.

Показано, что на оксидантную активность влияет степень очистки от окислителей, применяемых в синтезе оксида графена, а также массовое распределение исследуемых фракций. Для удаления примесей применяли диффузный диализ с использованием коммерчески доступных диализных мембран, количественной характеристикой которых являлась отсечка по молекулярной массе. Диализ позволил эффективно разделить компоненты раствора по их размеру и молекулярной массе.

Продемонстрировано, что кластеры большого размера и массы (>3.5 кДа) имели ярко выраженную прооксидантную активность, а фракции с кластерами от 0.5 до 3.5 кДа ингибировали действие активных форм в системе. Для образцов с антиоксидантной активностью рассчитан коэффициент полуподавления:  $s_{0.5} = 0.3$  мг/л.

Профиль хемилюминесцентных кривых описан с помощью программного обеспечения Kinetic Analyzer (разработчик — к.б.н. Д.Ю. Измайлов). Предварительная формулировка кинетической модели реакций позволила оценить эффективные константы скоростей радикал-перехватывающих процессов. Кинетическая схема включала три ключевые реакции: (1) взаимодействия нитрит-ионов и (2) оксида азота(II) с пероксидом водорода с образованием пероксинитрит-иона, (3) хемилюминесцентная реакция взаимодействия ХЛ зонда, люминола, с пероксинитрит-ионом.

Работа выполнена в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова АААА-А21-121011590089-1.