

**КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ
АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ПО
ИНГИБИРОВАНИЮ АВТООКИСЛЕНИЯ АДРЕНАЛИНА**

О. С. Бровко¹, А. Д. Ивахнов^{1,2}, Т. А. Бойцова*¹

¹*Федеральный исследовательский центр комплексного
изучения Арктики им. академика Н.П. Лаверова УрО РАН*

²*Северный (Арктический) федеральный университет им. М.В. Ломоносова*

Поступила в редакцию 11.02.22 г.

Аннотация. В представленном исследовании рассмотрена возможность корректной количественной оценки антиоксидантной активности антиоксидант-содержащих растворов (модельные водные растворы аскорбиновой кислоты) по степени ингибирования реакции автоокисления адреналина в щелочной среде с применением в качестве аналитического реагента фармацевтического препарата адреналина производства ФГУП «Московский эндокринный завод». Установлено, что фармацевтический препарат адреналина неоднороден даже в пределах одной упаковки (кинетический профиль реакции автоокисления адреналина из разных ампул одной упаковки различен), а также подвержен самопроизвольному разложению под действием кислорода воздуха. Для минимизации этих недостатков предложено проводить усреднение фармацевтического препарата адреналина из нескольких ампул в количестве достаточном для серии запланированных анализов и подкисление усредненного раствора до pH 2 добавлением необходимого количества соляной кислоты. Усредненный препарат адреналина следует хранить в темном месте при температуре + 5 °С и, по возможности, без доступа воздуха. Показано также, что традиционно используемое однократное выполнение анализа холостой пробы не позволяет учесть нестабильность препарата адреналина и приводит к высокой ошибке результата определения антиоксидантной активности. Для получения корректных результатов определения антиоксидантной активности антиоксидант-содержащих растворов предложен подход, основанный на чередовании фотометрирования холостых и исследуемых растворов в ходе выполнения серии определений. Данный подход позволяет получить линейные калибровочные зависимости аналитического сигнала от содержания антиоксидантов в растворе для продолжительности реакции автоокисления 3-5 минут в интервале содержания антиоксидантов 25-100 мг/л в пересчете на аскорбиновую кислоту. Дальнейшее увеличение продолжительности процесса приводит к отклонениям калибровочной зависимости от линейности. Кроме того, отмечено отклонение от линейного характера калибровочных зависимостей при повышенных концентрациях аскорбиновой кислоты (более 100 мг/л), что приводит к необходимости разбавления исследуемых растворов. Таким образом, целесообразно проводить анализ как неразбавленной, так и разбавленной пробы исследуемого раствора с целью гарантированного попадания в линейный диапазон калибровочной зависимости.

Ключевые слова: антиоксидантная активность, автоокисление, адреналин, адренохром, аскорбиновая кислота, количественное определение, стабилизация.

В настоящее время наблюдается интерес к изучению воздействия свободных радикалов на биологические молекулы и их взаимосвязи с заболеваниями человека. Подобное взаимодействие является причиной повреждения и функционального нарушения клеточных структур, что ведет

к возникновению и прогрессированию опасных заболеваний, а также ускорению старения. Антиоксиданты, попадая в организм человека, ингибируют свободные радикалы. Использование в качестве источника антиоксидантов экстрактов растительного сырья приводит к необходимости сравнения их эффективности между собой. Выбор способа оценки антиоксидантной активности

(АОА) препаратов должен обеспечивать корректность получаемых результатов. Являясь интегральным параметром, АОА, определённая с помощью конкретного метода, должна обеспечивать учёт АО различных классов. Известные методы определения АОА дают широкий диапазон результатов, поэтому интерпретировать результаты определения АОА следует с осторожностью.

В настоящее время получил распространение метод определения АОА различных объектов: биологические жидкости организма [1, 2], вода [3], экстракты лекарственных растений (трав [4-6], листьев [7-10]), овощей [11], плодов [14, 15], ягод [12, 16, 17], лишайников [13] по регистрации степени ингибирования реакции автоокисления адреналина (АД) в щелочной среде. Этот метод был предложен Сиротой Т.В. в 1999 году [18]. Определение проводится следующим образом: в спектрофотометрическую кювету к 2 мл карбонатного буфера (рН 10,65) при комнатной температуре вносят 100 мкл аптечного препарата 0.1% раствора АД (230 мкМ) и производят фотометрирование при длине волны 347 нм относительного буферного раствора в течение 3 минут (холостая проба). В аналогичных условиях проводят опыт с добавкой исследуемого раствора (анализируемая проба). АОА (%) рассчитывают по формуле:

$$АОА = \frac{(ОП_1 - ОП_2) \times 100}{ОП_1},$$

где ОП₁, ОП₂ – оптическая плотность холостой и анализируемой пробы, соответственно.

В качестве аналитического реагента в методе [18] предложен фармацевтический препарат АД, выпускаемый ФГУП «Московский эндокринный завод», который содержит помимо АД следующие вспомогательные вещества: хлорид и метабисульфит натрия, хлоробутанол, эдетат

динатрия (трилон Б), глицерин, хлороводородную кислоту и воду для инъекций. Для предохранения препарата от окисления ампулы заполнены газообразным азотом, рН раствора 2.5 - 4. В продаже имеются и препараты других производителей. Адреналин, выпускаемый ООО «Гротекс» в г. Санкт Петербург (СОЛЮфарм), содержит в своем составе кроме тартрата АД те же вспомогательные вещества за исключением пиросульфита натрия. Выпускается также препарат «Адреналин гидрохлорид-Виал» (производитель Шаньдун Шэнлу Фармасьютикал Ко., Лтд. Китай), состав которого несколько отличается от препаратов, рассмотренных выше. Применение в качестве аналитического реагента фармацевтического препарата не лишено, на наш взгляд, некоторых недостатков.

Для проведения одного определения требуется 200 мкл раствора АД (холостая и анализируемая проба). Учитывая, что объём раствора АД в одной ампуле составляет 1 мл, то одной ампулы достаточно для нескольких определений, а при большом количестве исследуемых образцов возникает необходимость использования для анализа нескольких ампул, что возможно только при однородности содержимого этих ампул.

При проведении анализа ампулу с АД вскрывают, и происходит контакт содержимого ампулы с кислородом воздуха. Несмотря на кислую среду раствора АД и наличие в нём стабилизатора (метабисульфит натрия), возможно окисление АД под действием кислорода воздуха, приводящее к образованию промежуточных продуктов, отличных от адренохрома (АХ), но существенно влияющих на кинетические закономерности реакции автоокисления АД. Процесс окисления АД (I) в щелочной среде ступенчатый (рис. 1) и происходит под действием генерируемых супероксид-ионов.

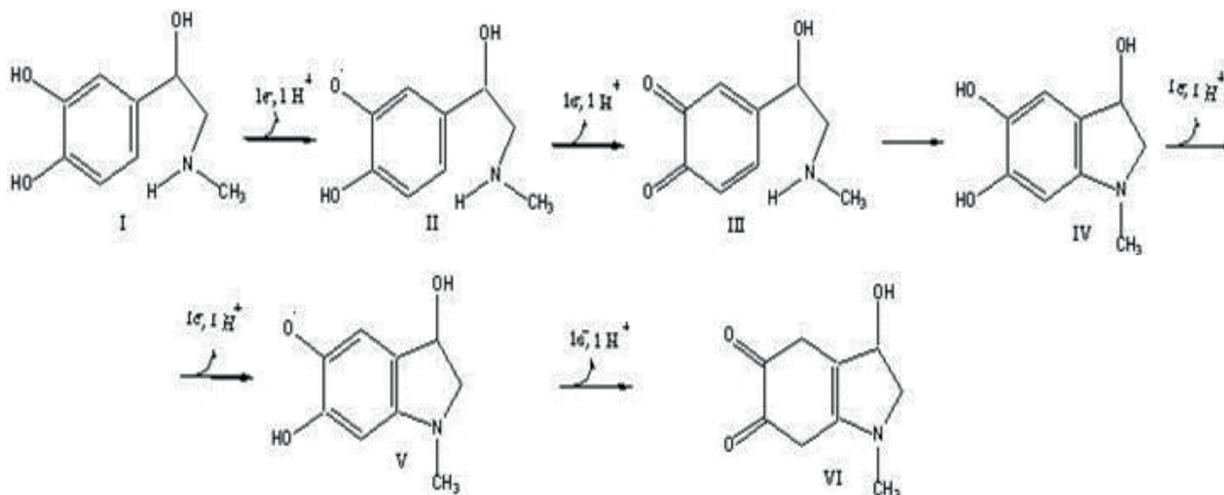


Рис. 1. Схема механизма окисления адреналина в щелочной среде

Поскольку при проведении реакции интенсивность поглощения при 347 нм возрастает и не уменьшается при появлении поглощения при 480 нм (характерно для АХ), логично предположить, что поглощение при 347 нм присуще не только АХ (VI), но и одному или всем промежуточным продуктам – II - V [10].

Окисление АД с образованием окрашенных продуктов в кислой среде возможно под действием сильных окислителей (пероксид водорода, периодат-ион и др.) [19]. Возможно, что такой способностью обладает и кислород воздуха, что может негативно сказываться на устойчивости раствора АД как аналитического реагента.

Возникает неопределенность и с продолжительностью фотометрической регистрации реакции автоокисления АД. В работе [18] рекомендовано проводить определение в течение 3 – 5 минут. Авторы [20] указывали на необходимость подбора определенного временного интервала для каждого конкретного объекта, но в этом случае метод теряет свою универсальность. В работе [8] показано, что период индукции можно считать величиной, определяющей АОА экстрактов. В работе [4] определение АОА растительных экстрактов рассчитывается по оптической плотности, замеренной на 10 минуте процесса ингибирования без обоснования выбранной продолжительности.

Цель исследования – изучение стабильности фармацевтического препарата адреналина как аналитического реагента, возможности его стабилизации и разработка методических рекомендаций количественного определения АОА по ингибированию автоокисления адреналина.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Спектральные исследования реакции автоокисления АД проводили в 0.2 М карбонатном буфере (рН 10.65, карбонат натрия квалификации х.ч.) с использованием спектрофотометра UV-1800 (*Shimadzu*, Япония) при комнатной температуре. Образование АХ регистрировали при длине волны 347 нм. Реакцию начинали внесением раствора АД в буферный раствор при постоянном перемешивании. Использовали 0.1% раствор АД производства ФГУП «Московский эндокринный завод» (номер серии 61120, срок годности до 11.2023). В качестве модельного вещества-антиоксиданта применяли аскорбиновую кислоту (АК) квалификации х.ч. (массовая доля основного вещества 99.72%, CSPC-Китай, партия 200-066-2

от 25.11.2019), все растворы готовили на бидистиллированной воде.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета ПО MS Excel, 2010, Microsoft, США. Представленные данные являются средними значениями, полученными в независимых экспериментах при 3 – 6 параллельных измерениях в каждом опыте, отклонение между усредняемыми величинами не превышало 5%отн.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При проведении эксперимента были исследованы следующие параметры: однородность АД, как аналитического реагента, в пределах одной упаковки фармацевтического препарата; учет нестабильности и возможность стабилизации фармацевтического препарата АД и разработка рекомендаций по количественному определению АОА.

Однородность и стабильность препарата АД

Применение АД в качестве аналитического реагента при определении АОА подразумевает его высокую однородность по физико-химическим свойствам, влияющим на аналитический сигнал. В упаковке (5 ампул) препарат АД (1 мг/мл) расфасован в ампулы по 1 мл. Одной ампулы достаточно для девяти определений (холостая проба и максимально 8 анализируемых проб). Таким образом, в течение рабочего дня возможно проведение значительно большего числа анализов, чем при использовании одной ампулы и возникает необходимость либо использования отдельных ампул для каждой серии измерений, либо усреднения содержимого нескольких ампул. Первый вариант возможен при условии совпадения кинетических профилей реакции автоокисления АД в растворах из разных ампул. Для установления необходимости усреднения образцов, были проведены холостые опыты с растворами АД, взятыми из пяти ампул, вскрытых непосредственно перед определением. Установлено (рис. 2, А), что АД из различных ампул имеет различный кинетический профиль реакции автоокисления.

Для количественной оценки степени неоднородности растворов выполнена статистическая обработка полученных результатов и определены средние квадратичные погрешности (S) и относительные средние отклонения (RMD, %) для ОП, развивающихся к 3, 5 и 10 минуте автоокисления АД для уровня доверительной вероятности 0.95

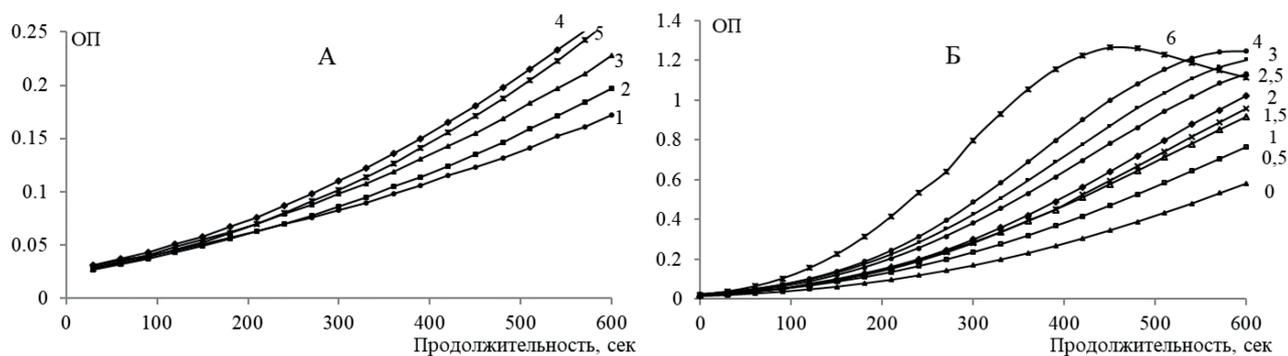


Рис. 2. Кинетика процесса окисления раствора АД: из 5 ампул одной упаковки (А) и при различной продолжительности хранения: 0; 0.5; 1; 1.5; 2; 2.5; 3; 4 и 6 часов (Б)

(табл. 1). С увеличением продолжительности автоокисления с 3 до 10 минут возрастает RMD для развиваемой ОП с 4.0 до 10.4%. Учитывая, что ошибка определения ОП при длине волны 347 нм для спектрофотометра не превышает 0.5%отн., полученные величины RMD свидетельствуют о неудовлетворительной сходимости результатов, получаемых при использовании в качестве аналитического реагента растворов АД из различных ампул. Таким образом, возникает необходимость в усреднении растворов АД из нескольких ампул, необходимых для выполнения требуемого числа анализов.

Ключевым фактором в использовании вещества в качестве аналитического реагента является его стабильность, т.е. постоянство свойств с течением времени. Для проверки устойчивости препарата АД во времени, были поставлены кинетические эксперименты по автоокислению АД (усреднённый раствор из 6 ампул). Для минимизирования процессов окисления усреднённый раствор в течение эксперимента хранился в темноте при температуре +5 °С. Установлено (рис. 2 Б), что препарат АД нестабилен, скорость автоокисления существенно увеличивается в течение рабочего дня. В растворе АД после его контакта с кислородом воздуха активно протекают окислительные процессы, приводящие к образованию промежуточных соединений, которые не являются АХ, т.к. ОП в нулевой момент реакции автоокисления АД в щелочной среде практически постоянна. В то же время эти соединения являются непосредственными предшественниками АХ, по-

скольку их накопление приводит к увеличению начальной скорости реакции. Характерной особенностью кинетической кривой процесса автоокисления АД, подвергнутого длительному хранению в присутствии кислорода воздуха (6 часов), является снижение ОП раствора при длине волны 347 нм после достижения максимума поглощения. Таким образом, недопустимо использование одного холостого опыта при определении АОА по автоокислению АД для серии анализируемых проб. Возникает необходимость учёта нестабильности раствора АД или его стабилизации.

Оценка возможности стабилизации фармацевтического препарата АД

Одним из факторов, являющихся причиной нестабильности препарата АД, является повышенное значение pH его раствора. В щелочной среде автоокисление АД наиболее развито, на чём и основан метод определения АОА. Препарат АД в соответствии с требованиями к используемой лекарственной форме должен иметь pH не более 2.5 – 4. При исследовании препарата АД был определен его pH, который оказался равным 4.2. Недостаточная кислотность препарата может являться причиной его нестабильности. Для проверки данного предположения усреднённый препарат из четырёх ампул был подкислен до pH 2.0 добавлением соляной кислоты. Подкисленный раствор АД хранили в закрытом бюксе при температуре +5 °С в отсутствие солнечного света. Кинетические кривые реакции автоокисления АД получены для подкисленного препарата (рис. 3 А) в сравнении с неподкисленным препаратом. С увеличением продолжительности

Таблица 1

Статистическая обработка результатов фотометрирования холостых проб АД

Продолжительность, мин	ОП холостых проб АД из различных ампул					Среднее значение ОП	S	RMD,%
	1	2	3	4	5			
3	0.057	0.056	0.062	0.067	0.061	0.0606	0.004	4.0
5	0.083	0.086	0.098	0.110	0.102	0.0958	0.011	6.5
10	0.172	0.197	0.228	0.272	0.262	0.2262	0.042	10.4

сти хранения препарата АД происходит увеличение начальной скорости процесса автоокисления. Прирост ОП раствора АД при его автоокислении к 5 и 10 минуте для стабилизированного подкислением раствора составляет 0.1 и 0.26 ед., соответственно, против 0.90 и 1.12 ед. для неподкисленного препарата. Следует отметить, что неподкисленный препарат за 6 часов хранения сильно меняет свой состав, что приводит к изменению профиля его кинетической кривой. Таким образом, подкисление при хранении стабилизирует аналитический реагент, однако для работы с ним в течение рабочего дня этого оказывается недостаточно.

Рекомендации по количественному определению АОА

Ввиду нестабильности препарата АД и невозможности его полной стабилизации возникает необходимость учёта его самопроизвольного разложения при выполнении серии определений АОА. Традиционно используемое однократное выполнение анализа холостой пробы не позволяет учесть нестабильность препарата и приводит к высокой ошибке результата определения АОА. Решением возникающей проблемы может являться чередование выполнения анализа холостых проб и анализируемых растворов, в качестве которых могут выступать как модельные калибровочные растворы, так и реальные образцы (экстракты). Для минимизации самопроизвольного разложения АД целесообразно

проводить усреднение препарата АД из нескольких ампул в количестве достаточном для серии анализов. Усреднённый препарат следует подкислить до pH 2.0. Для определения оптимальной продолжительности реакции автоокисления АД нами выполнена серия экспериментов по получению кинетических кривых реакции автоокисления АД при чередовании холостых и модельных растворов АК (рис. 3 Б). Расчёт АОА проводился при усреднении холостых определений выполненных до и после конкретного модельного раствора (табл. 2).

Анализ полученных результатов показывает, что относительная линейность зависимости АОА от концентрации АК наблюдается при всех исследованных продолжительностях процесса лишь в области концентраций 25 – 100 мг/л. Сравнение коэффициентов парной корреляции линейных зависимостей АОА от продолжительности фотометрирования для 3, 5, 7 и 10 минут, показывает, что оптимальной продолжительностью процесса следует признать 3-5 минут. Дальнейшее увеличение продолжительности процесса приводит к отклонениям калибровочной зависимости от линейности. Отклонение от линейного характера калибровочных зависимостей при повышенных концентрациях АК приводит к необходимости разбавления концентрированных растворов. Целесообразно проводить анализ как неразбавленной, так и разбавленной пробы с целью гарантированного попадания в линейный

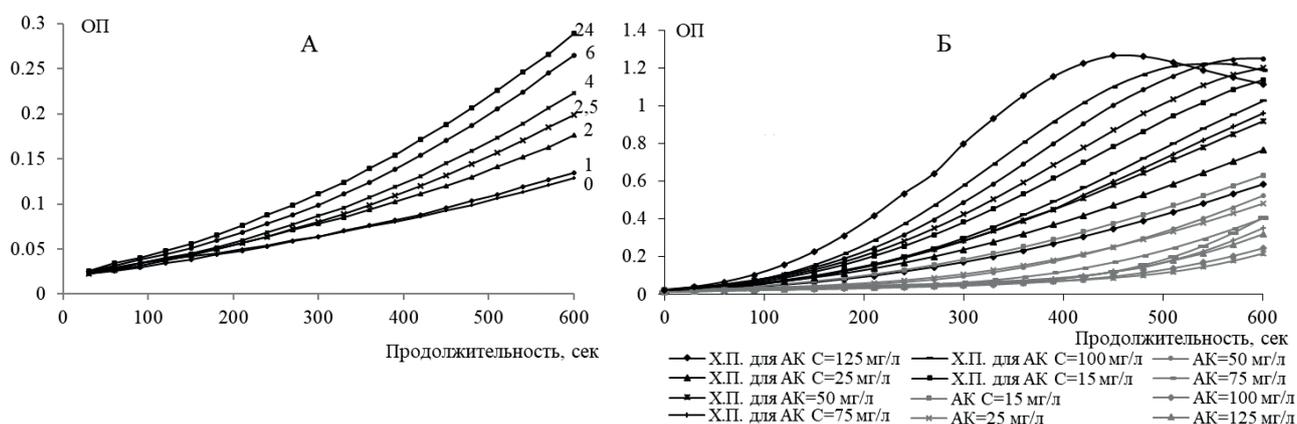


Рис. 3. Кинетика процесса окисления раствора АД, подкисленного до pH 2,0: при продолжительности хранения 0, 1, 2, 2.5, 4 6 и 24 часа (А) и при чередовании холостых проб (Х.П.) и модельных растворов АК (Б)

Таблица 2

АОА (%) модельных растворов АК при различной продолжительности анализа

Продолжительность, мин.	Концентрация АК, мг/л								
	15	25	50	75	100	125	150	175	200
3	7.4	57.3	63.3	71.7	78.8	79.6	79.6	79.2	87.1
5	8.4	59.3	66.5	78.0	86.5	87.1	88.8	88.9	92.4
7	8.4	53.8	59.4	74.4	87.3	86.9	91.0	89.8	91.3
10	6.7	42.7	44.3	59.5	77.3	72.8	82.2	71.1	64.8

диапазон калибровочной зависимости. Низкие содержания (менее 25 мг/л АК) соединений, обладающих антиоксидантными свойствами, не способны эффективно ингибировать процесс автоокисления АД и, следовательно, их АОА не может быть корректно количественно оценена.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведённых исследований установлено, что метод определения АОА по степени ингибирования автоокисления АД в щелочной среде может быть применён для количественной оценки АОА при определённых условиях:

- поскольку фармацевтический препарат АД неоднороден в пределах одной упаковки, то его необходимо усреднять перед использованием в количестве достаточном для серии анализов;

- стабильность препарата АД при хранении в течение рабочего дня может быть увеличена его подкислением до pH 2.0;

- применение подхода, основанного на чередовании фотометрирования холостых и анализируемых растворов, позволяет получить линейные калибровочные зависимости для продолжительности реакции автоокисления АД 3-5 минут в интервале содержания антиоксиданта 25-100 мг/л в пересчёте на АК;

- целесообразно проводить анализ как неразбавленной, так и разбавленной пробы с целью гарантированного попадания в линейный диапазон калибровочной зависимости.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ КИА УрО РАН «Физико-химические основы селективных методов выделения, характеристики и применение биологически активных комплексов растительных объектов высоких широт для решения задач экологического контроля и здоровьесбережения» (№ 122011700252-1) с использованием оборудования ЦКП КТ РФ-Арктика, а в части изучения стабилизации препарата адреналина в рамках гранта РНФ № 18-73-10138 с использованием оборудования ЦКП НО «Арктика» САФУ имени М.В. Ломоносова.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Куликов В.Ю., Арчибасова Е.А. // Journal of Siberian Medical Sciences. 2016. № 1. С. 9-21.
2. Грицук А.И., Сирота Т.В., Дравица Л.В., Крэддок Е.А. // Биомедицинская химия. 2006. Т.52. № 6. С. 601-607.
3. Некрасова Л.П. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2014. № 9. С. 17-22.
4. Рябина Е.И., Зотова Е.Е., Ветрова Е.Н., Пономарева Н.И., Илюшина Т.Н. // Химия растительного сырья. 2011. № 3. С. 117-121.

5. Федосеева Л.М., Кутателадзе Г.Р. // Научные результаты биомедицинских исследований. 2019. Т. 5. № 3. С. 64-70,

DOI: 10.18413/PBMC 2658-6533-2019-5-3-0-7.

6. Мальцева Е.М., Егорова Н.О., Егорова И.Н., Мухамадияров Р.А. вития // Медицина в Кузбассе. 2017. Т. 16. № 2. С. 32-38.

7. Тринеева О.В., Сафонова Е.Ф., Воропаева С.С., Сливкин А.И. // Формация. 2013. № 1. С. 11-12.

8. Мальцева А.А., Брежнева Т.А., Сливкин А.И. Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции, Пятигорск. 2010. Вып. 65. 791 с.

9. Хасанова С. Р., Плеханова Т. И., Гашимова Д. Т., Галиахметова Э. Х., Клыш Е. А. // Вестник ВГУ. серия: Химия. Биология. Фармация. 2007. № 1. С. 163-166.

10. Бадретдинова З.А., Канарский А.В., Шуваева Г.П. // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2016. № 1. С. 203-206.

11. Наймушина Л.В., Зыкова И.Д., Саторник А.Д. // Вестник КрасГАУ. 2016. № 4 С. 120-125.

12. Петрова С.Н., Кантан А.Д., Яргунова Ю.В. // Химия растительного сырья. 2018. № 2. С.169-174. DOI:10.14258/JCPRM.2018021937.

13. Паламарчук И.А., Бровко О.С., Беляев В.В., Боголицын К.Г. Бойцова Т.А., Жильцов Д.В., Слобода А.А., Вальчук Н.А. // Химия растительного сырья. 2018. № 4. С. 215-224. DOI.10.14258/JCPRM.2018043803.

14. Окатьева В.Е., Мальцева Е.М. // Международный студенческий научный вестник. Фарм. науки. 2018. № 4. С. 678-680.

15. Аскарлов И.Р., Ходжикулов А.С. // Universum: химия и биология: электронный научный журнал 2020. № 10(76). URL: <https://7universum.com/ru/nature/archive/item/10755> (дата обращения: 03.03.2021).

16. Тринеева О.В., Сафонова И.И., Сафонова Е.Ф., Сливкин А.И. // Вестник ВГУ. серия: Химия. Биология. Фармация. 2012. №2. С. 266-268.

17. Кантан А.Д., Яргунова Ю.В., Петрова С.Н. // Сборник статей Международной научно-практической конференции «Наука XXI века: теория, практика и перспективы». Уфа. 2015. С. 10-12.

18. Сирота Т.В. Патент РФ, №2144674, 1999.

19. Polewski K. // Biochimica et Biophysica Acta. 2000. Vol. 1523. No 1, pp. 56-64.

20. Рябина Е.И., Зотова Е.Е., Ветрова Е.Н., Пономарева Н.И. // Аналитика и контроль. 2011. Т. 15 № 2 С. 202-208.

Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики им. академика Н.П. Лаверова УрО РАН

Бровко О. С., доцент, кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник

e-mail: brovko-olga@rambler.ru

Ивахнов А. Д., кандидат химических наук, старший научный сотрудник (Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова)

e-mail: ivahnov-tema@yandex.ru.

Бойцова Т. А., кандидат химических наук, старший научный сотрудник

e-mail: tboitsova@yandex.ru

N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

Brovko O. S., PhD., Associate Professor, leading researcher

e-mail: brovko-olga@rambler.ru

Ivakhnov A. D., PhD., senior researcher. (Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov)

e-mail: ivahnov-tema@yandex.ru.

Boitsova T. A., PhD., senior researcher

e-mail: tboitsova@yandex.ru

QUANTITATIVE DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY BY INHIBITING ADRENALINE AUTO-OXIDATION

O. S. Brovko¹, A. D. Ivakhnov^{1,2}, T. A. Boitsova*¹

¹N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

²Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov

Abstract. The presented study considers the possibility of a correct quantitative assessment of the antioxidant activity of antioxidant-containing solutions (model aqueous solutions of ascorbic acid) by the degree of inhibition of the adrenaline autooxidation reaction in an alkaline medium using the pharmaceutical drug epinephrine produced by the Moscow Endocrine Plant as an analytical reagent. It was established that the pharmaceutical drug adrenaline is heterogeneous within the same package (the kinetic profile of the autooxidation reaction of adrenaline from different ampoules of the same package is different) and is subject to spontaneous decomposition under the influence of oxygen in the air. To minimize these disadvantages, it was proposed to average the preparation from several ampoules in an amount sufficient for a series of planned analyses and acidify the average solution to pH 2 by adding the required amount of hydrochloric acid. The average adrenaline preparation should be stored in the dark, at a temperature of +5 °C, if possible without access to air. It was also shown that the traditionally used single analysis of a blank sample does not allow taking into account the instability of the adrenaline preparation and leads to a high error in the result of determining the antioxidant activity. To obtain correct results for determining the antioxidant activity of solutions, the approach based on alternating photometry of blank and work solutions during a series of determinations was proposed. This approach allows us to obtain linear calibration dependences of the analytical signal on the content of antioxidants in the solution for the duration of the autooxidation reaction of 3-5 minutes in the range of the content of antioxidants of 25-100 mg/l in terms of ascorbic acid. A further increase in the duration of the process leads to deviations of the calibration dependence from linearity. In addition, a deviation from the linear nature of the calibration dependences was noted at elevated concentrations of ascorbic acid (more than 100 mg/l), which leads to the need to dilute the test solutions. Thus, it is advisable to analyze both undiluted and diluted samples of the test solution in order to ensure that it falls within the linear range of the calibration dependence.

Keywords: antioxidant activity, autooxidation, adrenaline, adrenochrome, ascorbic acid, quantitative determination, stabilization.

REFERENCES

1. Kulikov V.YU., Archibasova Ye.A., Journal of Siberian Medical Sciences. 2016, No. 1, pp. 9-13.
2. Gricuk A.I., Sirota T.V., Dravica L.V., Krjeddok E.A. Biomedicinskaja himija, 2006, Vol. 52, No 6, pp. 601-607.
3. Nekrasova L.P. Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij, 2014, No 9, pp. 17-22.
4. Ryabinina E.I., Zotova E.E., Vetrova E.N., Ponomareva N.I., Ilyushina T.N., Khimija Rastitel'nogo Syr'ja, 2011, No 3, pp. 117-121.
5. Fedoseyeva L.M., Kutateladze G.R, Nauchnye rezultaty biomedicinskih issledovanij, 2019, Vol. 5, No 3, pp. 64-70. DOI: 10.18413/ PBMC 2658-6533-2019-5-3-0-7.
6. Maltseva E. M., Egorova N. O., Egorova I. N., Mukhamadiyarov R. A., Medicina v Kuzbasse, 2017, Vol. 16, No 2, pp. 32-38
7. Trineeva O.V., Safonova E.F., Voropaeva S.S., Slivkin A.I., Farmacija, 2013, No 1, pp. 11-12.
8. Mal'ceva A.A., Brezhneva T.A., Slivkin A.I., Razrabotka, issledovanie i marketing novoj farmacevticheskoj produkcii, Pjatigorsk, 2010, Vyp. 65, 791 p.
9. Hasanova S. R., Plehanova T. I., Gashimova D. T., Galiahmetova Je. H., Klysh E. A., Vestnik VGU. serija: Himija. Biologija. Farmacija, 2007, No 1, pp. 163-166.
10. Badretdinova Z.A., Kanarskij A.V., Shuvaeva G.P., Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta inženernyh tehnologij, 2016, No 1, pp. 203-206. DOI:10.20914/2310-1202-2016-1-203-206.
11. Najmushina L.V., Zykova I.D., Satornik A.D., Vestnik KrasGAU, 2016, No 4, pp. 120-125.
12. Petrova S.N., Kanton A.D., Argunova Yu.V., Khimija Rastitel'nogo Syr'ja, 2018, No.2, pp. 169-174. DOI:10.14258/JCPRM.2018021937.
13. Palamarchuk I.A., Brovko O.S., Belyaev V.V., Bogolitsyn K.G. Boitsova T.A., Zhiltsov D.V., Sloboda A.A., Valchuk N.A., Khimija Rastitel'nogo Syr'ja, 2018, No 4, pp. 215-224. DOI:10.14258/JCPRM.2018043803/.
14. Okat'eva V.E., Maltseva E.M., Mezhdunarodnyj studencheskij nauchnyj vestnik. Farm. Nauki, 2018, No 4, pp. 678-680.
15. Askarov I.R., Hodzhikulov A.S., Universum: himija i biologija : jelektronnyj nauchnyj zhurnal, 2020, No 10(76). URL: <https://7universum.com/ru/nature/archive/item/10755> (data obrashhenija: 03.03.2021).
16. Trineeva O.V., Safonova I.I., Safonova E.F., Slivkin A.I., Vestnik VGU. serija: Ximiya. Biologiya. Farmaciya, 2012, No 2, pp. 266-268.
17. Kantan A.D., Jargunova Ju.V., Petrova S.N., Sbornik statej Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii «Nauka XXI veka: teorija, praktika i perspektivy». Ufa, 2015, pp. 10-12.
18. Sirota T.V. Patent RF, No 2144674, 1999.
19. Polewski K., Biochimica et Biophysica Acta, 2000, Vol. 1523, No 1, pp. 56-64.
20. Rjabinina E.I., Zotova E.E., Vetrova E.N., Ponomareva N.I., Analitika i kontrol', 2011, Vol. 15, No 2, pp. 202-208.