

**ОЦЕНКА АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ
5,10,15,20-ТЕТРАКИС(4-ГИДРОКСИ-ФЕНИЛ)ПОРФИНА НА ОСНОВЕ
ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

С.С. Клетиков, М.В. Тесакова, В.Р. Кулагин, В.И. Парфенюк

Сергей Сергеевич Клетиков

Кафедра технологии тонкого органического синтеза, Ивановский государственный химико-технологический университет, пр. Шереметевский, 7, Иваново, Россия, 153000

E-mail: kletikov@gmail.com

Мария Васильевна Тесакова, Владимир Иванович Парфенюк*

Лаборатория «Новые материалы на основе макрогетероциклических соединений», Институт химии растворов им. Г.А. Крестова РАН, ул. Академическая, 1, Иваново, Россия, 153045

E-mail: mvt@isc-ras.ru, vip@isc-ras.ru*

Владислав Русланович Кулагин,

Кафедра технологии электрохимических производств, Ивановский государственный химико-технологический университет, пр. Шереметевский, 7, Иваново, Россия, 153000

Антиоксидантная активность 5,10,15,20-тетраakis(4-гидроксифенил)порфина установлена по тестовой реакции взаимодействия со свободным радикалом 1,1-дифенил-2-пикрилгидразилом (DPPH). Для изучения реакции взаимодействия порфирина с DPPH использовали метод циклической вольтамперометрии. По результатам проведенных исследований установлено, что $H_2T(4-OHPh)_4$ обладает наибольшей антиоксидантной активностью из всех изученных нами соединений порфиринового ряда. Результаты электрохимического эксперимента послужили основанием для проверки антиоксидантных свойств порфирина на живых объектах — на курах породы «черная-московская». Куры были разделены на 5 групп: контрольной группе давали основной рацион, первой - основной рацион + 1% раствор аскорбиновой кислоты, второй - основной рацион + водный раствор Твин-80, третьей - основной рацион + водный раствор Твин-80 с порфирином (10^{-3} моль/л), четвертой - основной рацион + водный раствор Твин-80 с порфирином (10^{-4} моль/л). В ходе проведения эксперимента курам вводили перорально исследуемые растворы однократно по 2 мл в течение 14 дней. При этом не зафиксировано нарушений физиологического состояния кур, а также не установлено существенных изменений массы тела и гибели подопытных животных. Введение курам раствора Твин-80 не ухудшает показатели крови. Во всех четырех опытных группах наблюдается снижение концентрации малонового диальдегида (МДА) по сравнению с контрольной: наилучший результат – снижение МДА на 56% наблюдается в четвертой группе. В трех группах наблюдалось повышение церулоплазмينا в сыворотке крови, наибольшее увеличение концентрации ЦП также происходит в четвертой группе кур. При введении курам аскорбиновой кислоты снижения ЦП относительно контрольной группы не наблюдается. Установлено, что 5,10,15,20-тетраakis(4-гидроксифенил)порфин с концентрацией 10^{-4} моль/л снижает содержание малонового диальдегида и повышает содержание церулоплазмينا в крови, что приводит к снижению активности окислительных процессов в живом организме, а также усиливает белок синтетическую функцию печени.

Ключевые слова: электрохимия, антиоксиданты, порфирин, живые объекты, биохимические показатели крови, малоновый диальдегид, церулоплазмин

**ESTIMATION OF ANTIOXIDANT PROPERTIES
OF 5,10,15,20-TETRAKIS(4-HYDROXYPHENYL)PORPHYRINE BASED
ON ELECTROCHEMICAL AND BIOLOGICAL RESEARCHES**

S.S. Kletikov, M.V. Tesakova, V.R. Kulagin, V.I. Parfenyuk

Sergey S. Kletikov

Department of Technologies of Fine Organic Synthesis, Ivanovo State University of Chemistry and Technology, Sheremetievskiy ave., 7, Ivanovo, 153000, Russia

E-mail: kletikov@gmail.com

Mariya V. Tesakova, Vladimir I. Parfenyuk*

Laboratory «New materials on the basis of macrocyclic compounds», G.A. Krestov Institute of Solution Chemistry, Akademicheskaya, 1, Ivanovo, 153045, Russia

E-mail: mvt@isc-ras.ru, vip@isc-ras.ru*

Vladislav R. Kulagin

Department of Electrochemical Technologies, Ivanovo State University of Chemistry and Technology, Sheremetievskiy ave., 7, Ivanovo, 153000, Russia

The antioxidant activity of 5,10,15,20-tetrakis(4-hydroxyphenyl)porphyrin was established by a test reaction of interaction with free-radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). A cyclic voltammetry method was used to research the interaction of porphyrin and DPPH. According to the results of the completed research, it was established that H₂T(4-OHPh) P has the highest antioxidant activity among all the porphyrins compounds studied by us. The results of the electrochemical experiment served as a basis for testing antioxidant qualities of porphyrin on living creatures – chickens of the “Moscow-black” breed. Chickens were divided into 5 groups: the control group was given the basic ration, the first — the basic ration + 1% ascorbic acid solution, the second — the basic ration + an aqueous solution of Twin-80, the third — the basic ration + an aqueous solution of Twin-80 with porphyrin (10⁻³ mol/l), the fourth - basic ration + aqueous solution of Twin-80 with porphyrin (10⁻⁴ mol/l). In the course of the experiment, the chickens were orally administered the 2 ml solutions studied once a day in for 14 days. Wherein no disturbance of physiological condition of the chickens was noticed, as well as any considerable change of body mass or causes of death. The introduction solution Twin-80 does not impair the blood indexes. In all four experimental groups, a decrease in the concentration of malonic dialdehyde (MDA) was observed compared to the control group: the best result - a decrease in MDA by 56% is observed in the fourth group. In the three groups an increase in serum level of ceruloplasmin was observed. The greatest increase in the concentration of CP also occurs in the fourth group of chickens. With the introduction of ascorbic acid a decrease in CP relative to the control group is not observed. How it was established the 5,10,15,20-tetrakis(4-hydroxyphenyl)porphyrin with concentrations of 10⁻⁴ mole/l decline the amount of malonic dialdehyde and increases the amount of ceruloplasmin in blood, which leads to lowering the activity of oxidizing processes in a living organism and also empowers the protein synthesizing function of the liver.

Key words: electrochemistry, antioxidants, porphyrins, living objects, biochemical indicators of blood, malondialdehyde, ceruloplasmin

Для цитирования:

Клетиков С.С., Тесакова М.В., Кулагин В.Р., Парфенюк В.И. Оценка антиоксидантных свойств 5,10,15,20-тетракис(4-гидрокси-фенил)порфина на основе электрохимических и биологических исследований. *Изв. вузов. Химия и хим. технология.* 2019. Т. 62. Вып. 3. С. 57–63

For citation:

Kletikov S.S., Tesakova M.V., Kulagin V.R., Parfenyuk V.I. Estimation of antioxidant properties of 5,10,15,20-tetrakis(4-hydroxyphenyl)porphyrine based on electrochemical and biological researches. *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.* 2019. V. 62. N 3. P. 57–63

Таблица 1

Экспериментальные группы
Table 1. Experimental groups

Группа	Применяемый препарат
контроль-ная	Основной рацион
1	Основной рацион +1% раствор аскорбиновой кислоты
2	Основной рацион +водный раствор Твин-80
3	Основной рацион +водный раствор Твин-80 + Порфирин $C=10^{-3}$ моль/л
4	Основной рацион +водный раствор Твин-80 + Порфирин $C=10^{-4}$ моль/л

В середине XX века в связи с ухудшением экологической ситуации резко обострилась проблема радикального окисления в живых организмах. Эти процессы в организме являются одними из основных механизмов возникновения синдрома окислительного стресса и развития различного рода патологий. В настоящее время вектор современных исследований направлен на поиск и изучение новых соединений, так называемых антиоксидантов, способствующих контролю свободных радикалов в живых организмах. Одними из кандидатов на роль антиоксидантов являются соединения порфиринового ряда [1-5] вследствие того, что они обладают способностью «гасить» свободные радикалы, что и определяет их антиоксидантную активность.

Целью работы явилось исследование антиоксидантных и токсикологических свойств 5,10,15,20-тетракис(4-гидроксифенил)порфина ($H_2T(4-OHPh)P$) на основе электрохимических и биологических данных.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Оценку антиоксидантной активности (АОА) порфиринов проводили по реакции взаимодействия исследуемых соединений со свободным радикалом 1,1-дифенил-2-пикрилгидразил (DPPH) [6-7]. Для изучения этой реакции записывали циклические вольтамперограммы (ЦВА) для раствора DPPH с концентрацией 10^{-3} М и с добавлением раствора порфирина той же концентрации. Исследования проводили в трехэлектродной электрохимической ячейке (рабочий электрод – стержень из стеклоуглерода, вспомогательный электрод – платиновая проволока, электрод сравнения – насыщенный каломельный электрод) в свежеприготовленных растворах этилового спирта с добавлением фонового электролита (0,02 М тетрабутиламмония перхлората). Сначала записывали ЦВА раствора DPPH, затем постепенно добавляли раствор порфирина.

Экспериментальное исследование на птице выполнено в 2017 году на кафедре акушерства, хирургии и незаразных болезней животных ИГСХА и организованном при ней ветеринарном центре «Ветасс». Исследования проводились на 12-месячных курах-несушках породы «черная-московская», живой массой 1,7-1,8 кг, из которых сформировали 5 групп по 10 особей в каждой (табл. 1). Растворы вводили курам перорально однократно по 2 мл в течение 14 дней.

Оценку антиоксидантного действия проводили по результатам анализа крови и сыворотки крови. Кровь брали из вены cutaneaulnaris на внутренней стороне крыла над локтевым сочленением со всем соблюдением правил асептики и антисептики. Для проведения исследования использовали гематологические и биохимические методы: определение гематокрита с помощью гематокритной центрифуги СМ-70, гемоглобина методом Сали; форменных элементов по методу К.С. Фоминой и В.И. Шмельковой с реактивом Фриеда и Лукачевой (в модификации И.А. Болотникова); содержание мочевой кислоты и глюкозы – на полуавтоматическом биохимическом анализаторе BioChem ВА; холестерина – на биохимическом анализаторе «Сапфир» (Япония); общего белка, кальция, фосфора, магния, калия – на биохимическом анализаторе ВА-88А (mindray) chemistry Analyzer (США); содержание малонового диальдегида (МДА) – на спектрофотометре «Solar 1251» (Беларусь) [8-9]; церулоплазмину (ЦП) – методом ИФА, «Assaypro» (США) [10].

Все процедуры с животными в эксперименте проводили в соответствии с протоколами «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (European Communities Directive (86/609/ЕЕС) с требованиями нормативных правовых актов, регламентирующих выполнение исследований по безопасности и эффективности фармакологических веществ в РФ (Приказ МЗ РФ «Об утверждении правил лабораторной практики» №267 от 19.06.2003 г.) и законодательством Российской Федерации (Национальный стандарт ГОСТ Р 53434-2009).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее нами был изучен ряд гидроксипроизводных тетрафенилпорфинов. По результатам проведенных исследований установлено [11-14],

что $H_2T(4-OHPh)P$ обладает наибольшей антиоксидантной активностью из всех изученных соединений. В настоящей работе рассмотрим оценку антиоксидантных свойств порфиринов на примере $H_2T(4-OHPh)P$ и незамещенного тетрафенилпорфина.

При записи ЦВА раствора DPPH развертку потенциала проводили от значения потенциала рабочего электрода в растворе DPPH ($\sim 0,45$ В) сначала в сторону отрицательных, затем в сторону положительных потенциалов (рисунок). Пики на катодной ветви ЦВА соответствуют: (I) – восстановлению радикала DPPH до аниона, (IV) – восстановлению аниона DPPH до радикала. Пики на анодной ветви ЦВА соответствуют процессам: (II) – окислению аниона DPPH до радикала, (III) – окислению радикала до катиона (рисунок). Молекулярная форма DPPH существует в области положительных потенциалов (от $\sim 0,4$ до $\sim 0,7$ В) относительно насыщенного каломельного электрода сравнения [15].

Из уравнения Шевичка–Рэндлса [16] $I_p = 2,69 \cdot 10^5 \cdot z^{3/2} S D^{1/2} \nu^{1/2} C_i^0$ (где I_p – ток пика, А/см²; z – число электронов, принимающих участие в элементарном процессе; D – коэффициент диффузии восстанавливаемого/окисляемого вещества, см²/с; S – площадь электрода, см²; ν – скорость развертки, В/с; C_i^0 – концентрация деполаризатора в объеме раствора, моль/л) следует, что при заданной поверхности электрода и скорости развертки потенциала отношение токов пиков окисления или восстановления DPPH в ходе реакции равно отношению концентраций:

$$I/I_0 = C/C_0, \quad (1)$$

где I – значение тока в пике при данной концентрации DPPH (C), I_0 – значение тока в пике при начальной концентрации DPPH (C_0).

Следовательно, изменение величины тока пиков окислительно-восстановительных процессов определяется изменением концентрации DPPH [17] и может служить для оценки антиоксидантной активности вступающего в реакцию вещества. Для сравнения АОА в работе приведены данные по антиоксидантным свойствам незамещенного тетрафенилпорфина.

Как следует из рисунка, при постепенном добавлении порфирина наблюдается уменьшение пиков окисления и восстановления DPPH, что свидетельствует о снижении его концентрации, а, следовательно, наличии антиоксидантных свойств у исследуемого порфирина.

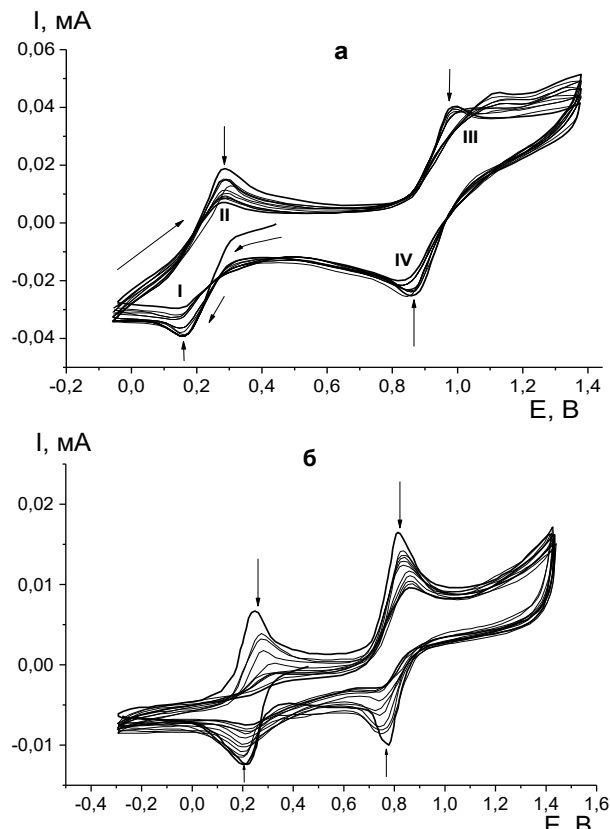


Рис. 1. ЦВА растворов DPPH при добавлении порфиринов: а) DPPH + тетрафенилпорфин в дихлорметане; б) DPPH + $H_2T(4-OHPh)P$ в этаноле

Fig. 1. CV of DPPH solutions with addition of porphyrins: а) DPPH + tetraphenylporphyrin in dichloromethane; б) DPPH + $H_2T(4-OHPh)P$ in ethanol

В табл. 2 представлены значения эффективной концентрации антиоксиданта (CI_{50}) (в ммоль/л), необходимой для уменьшения первого восстановительного пика DPPH с концентрацией 10^{-3} моль/л на 50%. Для определения показателя «А», характеризующего количественную оценку антиоксидантной активности порфирина, записывали ЦВА раствора DPPH в присутствии эффективной концентрации порфиринов при скорости развертки потенциала 200 мВ/с в течение 10 мин, и рассчитывали значение показателя А по изменению величины тока пиков DPPH в начальный I_0 и конечный $I_{кон}$ момент времени (через 10 мин от начала реакции) [18]:

$$A = \frac{I_0 - I_{кон}}{I_0},$$

Значения показателей количественной оценки антиоксидантной активности порфиринов A_1 – для восстановительного пика и A_2 – для окислительного пика представлены в табл. 2. Наибольшей активностью обладает $H_2T(4-OHPh)P$, поскольку показатель А для этого порфирина составляет 0,84 для восстановительного пика и 0,79 для пика окисления.

Таблица 2
Показатели эффективности антиоксидантного действия порфиринов
Table 2. Indicators of the effectiveness of the antioxidant effect of porphyrins

Порф.	CI ₅₀	A ₁	A ₂	A ₁	A ₂
		в C ₂ H ₅ OH		в CH ₂ Cl ₂	
H ₂ TPhP	–	–	–	0,34	0
H ₂ T(4-ОНPh)P	0,13	0,84	0,79	–	–

По результатам проведенных исследований показано, что гидроксо-замещенный тетрафенилпорфин обладает антиоксидантными свойствами. Незамещенный тетрафенилпорфин (ТРР) не проявляет антиоксидантную активность в реакции с DPPH. Как можно заметить из рисунка, при добавлении ТРР к раствору свободного радикала пики DPPH практически не изменяются.

Полученные результаты оценки антиоксидантной активности электрохимическим методом дали возможность выбора наиболее активного антиоксиданта для дальнейших исследований антиоксидантных свойств на живых объектах.

В табл. 3 представлены результаты анализа крови кур: содержание в крови малонового диальдегида (нмоль/мл) и церулоплазмينا (нг/мл) для контрольной и всех четырех опытных групп.

Таблица 3
Содержание МДА и церулоплазмينا в крови кур
Table 3. The content of MDA and ceruloplasmin in the blood of chickens

	Контр.	Опытные группы			
		1	2	3	4
МДА	15,26± ±0,28	7,78± ±0,15	8,21± ±0,11	7,70± ±0,11	6,58± ±0,09
ЦП	1,96± ±0,06	1,99± ±0,13	2,10± ±0,07	2,34± ±0,06	2,44± ±0,06

Малоновый диальдегид возникает в организме при деградации полиненасыщенных жиров активными формами кислорода, также является маркером перекисного окисления липидов и оксидантного стресса [19, 20]. Во всех четырех опытных группах наблюдается снижение концентрации

МДА по сравнению с контрольной: в 1-й группе содержание МДА снизилось на 49%; 2-й группе – на 46,2%; в 3-й группе – на 49,5%; в 4-й группе, при концентрации порфирина $C = 10^{-4}$ моль/л, наблюдается наилучший результат – снижение МДА на 56% (табл. 3).

Церулоплазмин показывает степень антиоксидантной защиты организма. Согласно многочисленным литературным данным, при различных патологических процессах уровень ЦП в плазме (сыворотке) крови, как правило, уменьшается [21, 22]. Содержание ЦП в сыворотке крови, по сравнению с контрольной группой, повышается: во 2-й группе на 7,1%, в 3-й группе – на 19,4% и в 4-й группе – на 24,5%. При пероральном введении аскорбиновой кислоты снижения ЦП относительно контрольной группы не наблюдается. Наилучший результат проявления антиоксидантной активности наблюдали в 4-й группе кур, которым выпаивали раствор H₂T(4-ОНPh)P с концентрацией $C = 10^{-4}$ моль/л.

ВЫВОДЫ

На основе электрохимического метода исследования установлено, что 5,10,15,20-тетракис(4-гидроксифенил)порфин обладает высокой антиоксидантной активностью.

В ходе проведения эксперимента на живых объектах установлено, что исследуемый порфирин с концентрацией $C = 10^{-3}$ и $C = 10^{-4}$ моль/л не приводит к гибели животных, также не зафиксировано отравления организма и явного нарушения состояния кур.

Установлено, что H₂T(4-ОНPh)P с концентрацией $C = 10^{-4}$ моль/л снижает содержание малонового диальдегида на 56% и увеличивает концентрацию церулоплазмينا в сыворотке крови на 24,5%. Вероятно, H₂T(4-ОНPh)P усиливает функцию печени в части синтеза белка, что приводит к увеличению концентрации церулоплазмينا в сыворотке крови, а также снижению общей активности свободных радикалов в организме.

Увеличение на порядок концентрации H₂T(4-ОНPh)P не приводит к улучшению результатов ЦП и МДА.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Kuzmin S.M., Chulovskaya S.A., Parfenyuk V.I.** Hydroxy alcyloxy substituted tetraphenylporphyrins: mechanism and superoxide scavenging activity. *J. Porph. Phthal.* 2016. V. 20. N 12. P. 1477–1485. DOI: 10.1142/S1088424616501212.
2. **Tesakova M.V., Parfenyuk V.I.** The Electrochemical evaluation of the antioxidant activity of substituted tetraphenylporphyrins. *Russ. J. Electrochem.* 2017. V. 53. N 11. P. 1281–1285. DOI: 10.1134/S1023193517110155.

REFERENCES

1. **Kuzmin S.M., Chulovskaya S.A., Parfenyuk V.I.** Hydroxy alcyloxy substituted tetraphenylporphyrins: mechanism and superoxide scavenging activity. *J. Porph. Phthal.* 2016. V. 20. N 12. P. 1477–1485. DOI: 10.1142/S1088424616501212.
2. **Tesakova M.V., Parfenyuk V.I.** The Electrochemical evaluation of the antioxidant activity of substituted tetraphenylporphyrins. *Russ. J. Electrochem.* 2017. V. 53. N 11. P. 1281–1285. DOI: 10.1134/S1023193517110155.

3. **Tesakova M.V., Semeikin A.S., Parfenyuk V.I.** Synthesis, electrochemical properties and antioxidant activity of hydroxy substituted tetraphenylporphyrins. *Macroheterocycles*. 2017. V. 10. N 1. P. 43–50. DOI: 10.6060/mhc160319t.
4. **Tesakova M.V., Semeikin A.S., Parfenyuk V.I.** Electrochemical properties and antioxidant activity of tetraphenylporphyrin derivatives. *Russ. J. Electrochem.* 2015. V. 51. N 7. P. 686–692. DOI: 10.1134/S1023193515070095.
5. **Попов И.А., Парфенюк В.И., Семейкин А.С.** Влияние длины углеводородной цепи боковых заместителей на электрохимические свойства растворов тетраакс(4'-алкоксифенил)порфинов в дихлорметане. *Изв. вузов. Химия и хим. технология*. 2012. Т. 55. Вып. 8. С. 31–34.
6. **Scherer R., Godoy H.T.** Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chem.* 2009. V. 112. N 3. P. 654–658. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.06.026.
7. **Bahar E., Ara J., Alam M., Nath B., Bhowmik U., Runi N.** In vitro antioxidant and thrombolytic activity of methanol extract of *Sidaacuta*. *J. Pharmacog. Phytochem.* 2013. V. 2. N 2. P. 125–133.
8. **Кондрахин И.П.** Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики. М.: Колос. 2004. 520 с.
9. **Ishihara M.** Studies on lipoperoxide of normal pregnant women and patient toxemia of pregnancy. *Clin. Chim. Acta.* 1978. V. 84. P. 1–9. DOI: 10.1016/0009-8981(78)90469-2.
10. **Фримель Г.** Иммунологические методы. М.: Медицина. 1987. 472 с.
11. **Кузьмин С.М., Чуловская С.А., Парфенюк В.И.** Оценка антиоксидантной активности тетраакс(пара-аминофенил)порфина по отношению к супероксид анион-радикалу методом вольтамперометрии. *Макрогетероциклы*. 2013. Т. 6. Вып. 4. С. 334–339. DOI: 10.6060/mhc131057k.
12. **Кузьмин С.М., Чуловская С.А., Тесакова М.В., Семейкин А.С., Парфенюк В.И.** Замещенные тетрафенилпорфирины как перспективные молекулярные формы с высокой антиоксидантной активностью. *Макрогетероциклы*. 2014. Т. 7. Вып. 3. С. 218–224. DOI: 10.6060/mhc140511k.
13. **Kuzmin S.M., Chulovskaya S.A., Parfenyuk V.I.** Substituent position influence on the electrochemical properties and antioxidant activity of tetra(aminophenyl)porphyrins. *J. Porph. Phthal.* 2014. V. 18. P. 585–593. DOI: 10.1142/S108842461450031X.
14. **Tesakova M.V., Semeikin A.S., Parfenyuk V.I.** Electrochemical determination of antioxidant properties of a series of tetraphenylporphyrin derivatives and their zinc complexes. *J. Porph. Phthal.* 2015. V. 19. P. 1034–1038. DOI: 10.1142/S1088424615500765.
15. **Solon E., Bard A.J.** The electrochemistry of diphenylpicrylhydrazyl. *J. Am. Chem. Soc.* 1964. V. 86. P. 1926–1928. DOI: 10.1021/ja01064a005.
16. **Bard A.J., Faulkner L.R.** Electrochemical methods: fundamentals and applications. NY: John Wiley and Sons. INC. 2001. 850 p.
17. **Tyurin V., Jingwei Z., Glukhova A., Milaeva E.** Electrochemical antioxidative activity assay of metalloporphyrins bearing 2,6-di-tert-butylphenol groups Based on Electrochemical DPPH-Test. *Macroheterocycles*. 2011. V. 4. N 3. P. 211–212. DOI: 10.6060/mhc2011.3.10.
3. **Tesakova M.V., Semeikin A.S., Parfenyuk V.I.** Synthesis, electrochemical properties and antioxidant activity of hydroxy substituted tetraphenylporphyrins. *Macroheterocycles*. 2017. V. 10. N 1. P. 43–50. DOI: 10.6060/mhc160319t.
4. **Tesakova M.V., Semeikin A.S., Parfenyuk V.I.** Electrochemical properties and antioxidant activity of tetraphenylporphyrin derivatives. *Russ. J. Electrochem.* 2015. V. 51. N 7. P. 686–692. DOI: 10.1134/S1023193515070095.
5. **Popov I.A., Parfenyuk V.I., Semeikin A.S.** Effect of the length of the hydrocarbon chain of the side substituents on the electrochemical properties of solutions of tetrakis(4'-alkoxyphenyl)porphyrins in dichloromethane. *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.* 2012. V. 55. N 8. P. 31–34 (in Russian).
6. **Scherer R., Godoy H.T.** Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chem.* 2009. V. 112. N 3. P. 654–658. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.06.026.
7. **Bahar E., Ara J., Alam M., Nath B., Bhowmik U., Runi N.** In vitro antioxidant and thrombolytic activity of methanol extract of *Sidaacuta*. *J. Pharmacog. Phytochem.* 2013. V. 2. N 2. P. 125–133.
8. **Kondrakhin I.P.** Methods of veterinary clinical laboratory diagnostics. M.: Kolos. 2004. 520 p. (in Russian).
9. **Ishihara M.** Studies on lipoperoxide of normal pregnant women and patient toxemia of pregnancy. *Clin. Chim. Acta.* 1978. V. 84. P. 1–9. DOI: 10.1016/0009-8981(78)90469-2.
10. **Frimel G.** Immunological methods. M.: Meditsyna. 1987. 472 p. (in Russian).
11. **Kuzmin S.M., Chulovskaya S.A., Parfenyuk V.I.** Estimation of antioxidant activity of tetrakis(p-aminophenyl)porphine regard to superoxide ions by voltammetry method. *Macroheterocycles*. 2013. V. 6. N 4. P. 334–339 (in Russian). DOI: 10.6060/mhc131057k.
12. **Kuz'min S.M., Chulovskaya S.A., Tesakova M.V., Semeikin A.S., Parfenyuk V.I.** Substituted tetraphenylporphyrins as promising molecular systems with high antioxidant activity. *Macroheterocycles*. 2014. V. 7. N 3. P. 218–224 (in Russian). DOI: 10.6060/mhc140511k.
13. **Kuzmin S.M., Chulovskaya S.A., Parfenyuk V.I.** Substituent position influence on the electrochemical properties and antioxidant activity of tetra(aminophenyl)porphyrins. *J. Porph. Phthal.* 2014. V. 18. P. 585–593. DOI: 10.1142/S108842461450031X.
14. **Tesakova M.V., Semeikin A.S., Parfenyuk V.I.** Electrochemical determination of antioxidant properties of a series of tetraphenylporphyrin derivatives and their zinc complexes. *J. Porph. Phthal.* 2015. V. 19. P. 1034–1038. DOI: 10.1142/S1088424615500765.
15. **Solon E., Bard A.J.** The electrochemistry of diphenylpicrylhydrazyl. *J. Am. Chem. Soc.* 1964. V. 86. P. 1926–1928. DOI: 10.1021/ja01064a005.
16. **Bard A.J., Faulkner L.R.** Electrochemical methods: fundamentals and applications. NY: John Wiley and Sons. INC. 2001. 850 p.
17. **Tyurin V., Jingwei Z., Glukhova A., Milaeva E.** Electrochemical antioxidative activity assay of metalloporphyrins bearing 2,6-di-tert-butylphenol groups Based on Electrochemical DPPH-Test. *Macroheterocycles*. 2011. V. 4. N 3. P. 211–212. DOI: 10.6060/mhc2011.3.10.

18. **Tyurin V.Yu., Yaohuang Wu, Dolganov A.V., Milaeva E.R.** The antioxidative activity assay of 2,6-di-tert-butylphenols with phosphonate groups using cyclic voltammetry. *Doklady Chemistry*. 2011. V. 436. N 2. P. 31–33. DOI: 10.1134/S0012500811020042.
19. **Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф.** Биологическая химия. М.: Медицина. 1998. 704 с.
20. **Назаренко Г.И., Кишкун А.А.** Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. М.: Медицина. 2000. 544 с.
21. **Бессарабов Б.Ф., Клетикова Л.В., Алексеева С.А., Сушкова Н.К.** Клинические и лабораторные методы исследования сельскохозяйственной птицы при незаразных болезнях. М.: ЗооВетКнига. 2014. 310 с.
22. **Зборовская И.А., Банникова М.В.** Антиоксидантная система организма, ее значение в метаболизме. *Vestn. RosAMN*. 1995. Вып. 6. С. 53–60.
18. **Tyurin V.Yu., Yaohuang Wu, Dolganov A.V., Milaeva E.R.** The antioxidative activity assay of 2,6-di-tert-butylphenols with phosphonate groups using cyclic voltammetry. *Doklady Chemistry*. 2011. V. 436. N 2. P. 31–33. DOI: 10.1134/S0012500811020042.
19. **Berezov T.T., Korovkin B.F.** Biological chemistry. M.: Meditsyna. 1998. 704 p. (in Russian).
20. **Nazarenko G.I., Kishkun A.A.** Clinical evaluation of laboratory results. M.: Meditsyna. 2000. 544 p. (in Russian).
21. **Bessarabov B.F., Kletikova L.V., Alekseeva S.A., Sushkova N.K.** Clinical and laboratory methods of research of agricultural birds in non-communicable diseases. M.: ZooVetKniga. 2014. 310 p. (in Russian).
22. **Zborovskaya I.A., Bannikova M.V.** Antioxidant system of the body, its importance in metabolism. *Vestn. RosAMN*. 1995. N 6. P. 53-60 (in Russian).

*Поступила в редакцию 14.06.2018
Принята к опубликованию 28.12.2018*

*Received 14.06.2018
Accepted 28.12.2018*