

УДК 543.25

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ СОЕДИНЕНИЙ ФЕНОЛЬНОГО РЯДА, ОБЛАДАЮЩИХ АНТИОКСИДАНТНЫМИ СВОЙСТВАМИ

Г.К. Зиятдинова, Д.М. Гильметдинова, Г.К. Будников, Е.Н. Офицеров

Аннотация

Рассчитаны кинетические параметры реакций важнейших фенольных антиоксидантов с электрохимически генерированным супероксид анион-радикалом.

Обнаружено взаимное влияние природных полифенолов и синтетического пространственно-затрудненного фенола – ионола, то есть системы полифенол – ионол при различных соотношениях компонентов. При введении ионола наблюдается каталитический эффект. Установлены соотношения, при которых наблюдается максимальное увеличение тока окисления полифенолов, что связано с регенерацией молекулы исходного полифенола.

Введение

Большое разнообразие фенольных соединений растительного происхождения (биофлавоноидов) вовсе не противоречит общности их строения и близости важнейших свойств. Практически все фенольные соединения, от простых до полимерных конденсированных фенолов, обладают антиокислительной активностью. В отличие от чистых восстановителей, для проявления эффекта которых необходимо их присутствие, по крайней мере, в таком же количестве, как и восстанавливаемого вещества, фенольные антиоксиданты способны, даже в виде ничтожно малых добавок, эффективно воздействовать на процессы свободнорадикального окисления [1, 2].

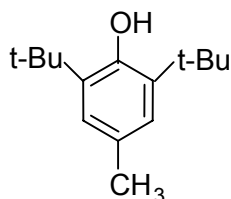
Флавоноиды – природные соединения с двумя ароматическими кольцами – производные хромана или флавана, хорошо растворимые в спирте и воде. В зависимости от структуры и степени окисления их подразделяют на флавонолы (рутин, кверцетин), флавоны, флавононы, катехины, антоцианы и др. Они обладают широким спектром фармакологического действия на организм.

Способность пространственно-затрудненных фенолов тормозить (ингибировать) различные радикальные процессы позволило использовать некоторые из них (дибунол и др.) в медицинской практике, что обусловлено их высокой антиокислительной способностью по сравнению с фенолами других типов, малой токсичностью, универсальностью действия, возможностью изменять их свойства в широких пределах за счет варьирования заместителей [3].

С введением алкильных заместителей антиокислительная активность фенольных соединений заметно возрастает. Эффективность алкилфенольных ан-

тиоксидантов в основном зависит от стабильности феноксильного радикала, образующегося в процессе окисления, и от степени полярности гидроксильной группы. Стабильность феноксильных радикалов возрастает по мере увеличения степени пространственного экранирования 1-гидроксильной группы алкильными радикалами, находящимися в положениях 2 и 6. При этом экранирующая способность алкил-радикалов увеличивается с ростом их объема.

В поисках такого антиоксиданта нашли, что из трехзамещенных фенолов наилучшими антиоксидантными свойствами обладает производное с метильным радикалом в положении 4 и трет-бутильными заместителями в положениях 2 и 6, то есть 2,6-дитрет-бутил-4-метилфенол (ионол) [4].



Несомненный интерес представляет экспериментальная оценка методом вольтамперометрии окислительно-восстановительных свойств различных как синтетических, так и природных производных фенола с целью установления зависимости между строением и редокс-свойствами фенолов, с одной стороны, и строением и эффективностью влияния фенольных антиоксидантов на систему антиоксидантной защиты организма человека, с другой.

1. Экспериментальная часть

Использовали вольтамперометрический анализатор «Экотест-ВА» и электрохимическую ячейку объемом 50 мл. После введения 20.0 мл фонового электролита и аликвоты исследуемого раствора опускали стеклоглеродный рабочий, платиновый вспомогательный и насыщенный хлоридсеребряный электроды и регистрировали вольтамперограммы с линейной разверткой потенциала от 0 до -1.5 В.

Перед началом работы рабочую поверхность электродов очищали следующим образом. Платиновые электроды кипятили в HNO_3 (1:1) в течение 3 мин., затем обрабатывали концентрированной HCl и промывали дистиллированной водой. Рабочую поверхность стеклоглеродного электрода зачищали механически.

2,6-Дитрет-бутил-4-метилфенол, торговая марка – тонарол, с содержанием основного вещества 99.9% предоставлен фирмой «Тонар» (г. Нижнекамск), ди-гидрокверцетин с содержанием основного вещества 99.5% – профессором М.П. Коротеевым (г. Москва). Рутин и кверцетин – квалификации х.ч.

Стандартные растворы фенольных соединений квалификации х.ч. готовили по точной навеске (0.1–0.2 г) и растворяли в 25 мл диметилформамида.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Origin 6.1. Для выбора доверительного интервала среднего значения полагали $p = 0.95$.

2. Результаты и обсуждение

На стеклоуглеродном электроде на фоне 0.05 М $(C_2H_5)_4NI$ в диметилформамиде кислород восстанавливается с образованием супероксид анион-радикала ($O_2^{\bullet-}$). На циклической вольтамперограмме наблюдается обратимый пик восстановления при потенциале -0.9 В.

При введении антиоксиданта электрохимические характеристики пика восстановления кислорода изменялись. Пик увеличивался по высоте и смещался в область более положительных потенциалов. С увеличением концентрации антиоксидантов ток при потенциалах образования $O_2^{\bullet-}$ линейно растет [5].

Реакция антиоксидантов с $O_2^{\bullet-}$ следует ЕС-механизму, и имеет место протонизация $O_2^{\bullet-}$. Рассчитаны константы скорости взаимодействия фенольных антиоксидантов с электрохимически генерированным супероксид анион-радикалом по величине относительного прироста тока восстановления кислорода в присутствии протонирующего агента [6]. Результаты представлены в табл. 1.

Табл. 1

Значения констант скорости взаимодействия некоторых фенольных антиоксидантов с супероксид анион-радикалом

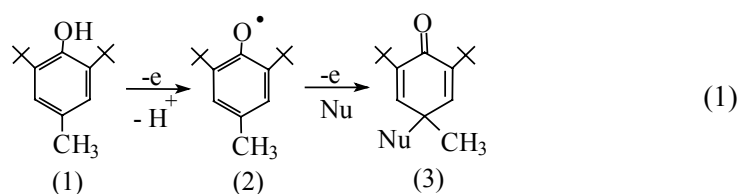
Фенольные антиоксиданты	$k \times 10^{-3}$, л/моль·с	S_T
ионол	8.9 ± 0.1	0.01
кверцетин	9.4 ± 0.5	0.02
дигидрокверцетин	10.4 ± 0.3	0.02
рутин	9.3 ± 0.5	0.02

Как видно из табл. 1, константы скорости взаимодействия имеют один порядок и близки по своим значениям. Это говорит о том, что все исследуемые антиоксиданты приблизительно в равной мере способны взаимодействовать с $O_2^{\bullet-}$, с одной стороны, или это обусловлено высокой реакционной способностью супероксид-анион радикала и реализацией принципа – с повышением активности селективность уменьшается, с другой. Наиболее вероятно последнее, так как исследуемые фенолы существенно отличаются по потенциалам окисления.

Изучено вольтамперометрическое поведение фенольных антиоксидантов на стеклоуглеродном электроде на фоне 0.1М $HClO_4$ в диметилформамиде. Все исследуемые соединения окисляются в этих условиях.

На вольтамперограммах ионола наблюдается волна с $E_{1/2}$ 1.15 В (рис. 1).

Исходя из литературных данных [7, 8] можно предложить, что окисление ионола протекает согласно следующей схеме:



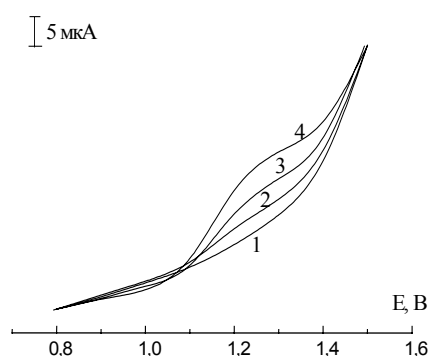


Рис. 1. Вольтамперограмма окисления ионола различной концентрации (М) на стеклоуглеродном электроде на фоне 0,1 М HClO_4 в диметилформамиде: 1 – 0; 2 – 7.1×10^{-5} ; 3 – 2.1×10^{-4} ; 4 – 3.5×10^{-3} , скорость изменения потенциала 100 мВ/с

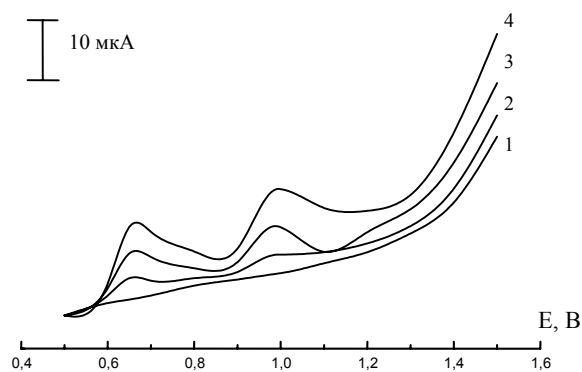


Рис. 2. Вольтамперограммы окисления кверцетина различной концентрации (М) на стеклоуглеродном электроде на фоне 0.1 М HClO_4 в диметилформамиде: 1 – 0; 2 – 6×10^{-5} ; 3 – 1.8×10^{-4} ; 4 – 3.7×10^{-4} , скорость изменения потенциала 100 мВ/с

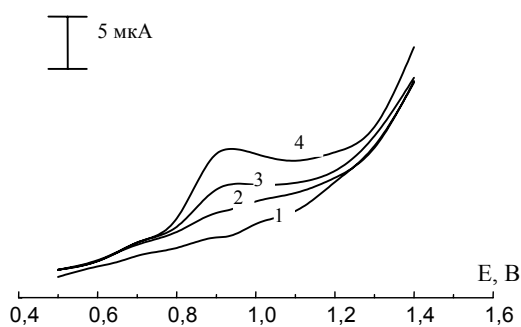


Рис. 3. Вольтамперограммы окисления дигидрокверцетина различной концентрации (М) на стеклоуглеродном электроде на фоне 0.1 М HClO_4 в диметилформамиде: 1 – 0; 2 – 5.8×10^{-5} ; 3 – 1.7×10^{-4} ; 4 – 2.9×10^{-4} , скорость изменения потенциала 100 мВ/с

Промежуточное соединение (2) реагирует с любым присутствующим в растворе нуклеофилом (вода, этанол и др.). В отсутствие подходящего нуклеофила в реакцию вступает сам растворитель [9].

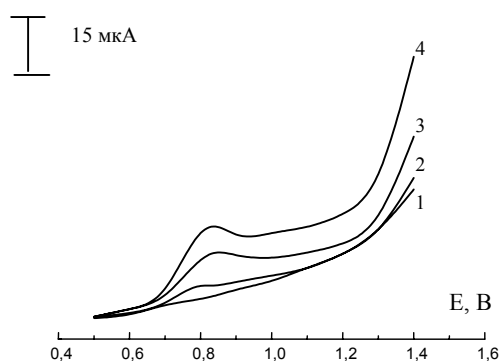


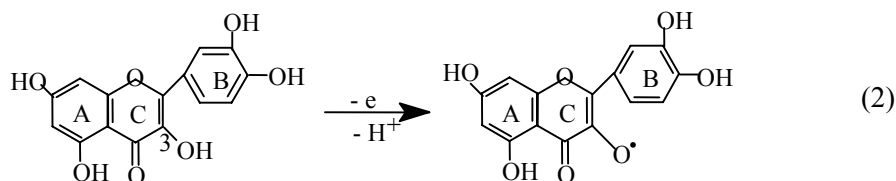
Рис. 4. Вольтамперограммы окисления рутина различной концентрации (М) на стеклоуглеродном электроде на фоне 0.1 М HClO_4 в диметилформамиде: 1 – 0; 2 – 6.3×10^{-5} ; 3 – 1.9×10^{-4} ; 4 – 3.1×10^{-4} , скорость изменения потенциала 100 мВ/с

На вольтамперограммах кверцетина наблюдаются два пика окисления при потенциалах 0.65 и 1.0 В (рис. 2).

Для дигидроккверцетина, в отличие от кверцетина, второй пик не проявляется. Наблюдаемый пик регистрируется при менее положительных потенциалах, чем второй у кверцетина, а именно, при 0.93 В (рис. 3).

На вольтамперограммах рутина также наблюдается пик окисления при потенциале 0.83 В (рис. 4).

Исходя из структуры флавонолов и имеющихся литературных данных [10], можно предположить, что на первой ступени окисления затрагивает гидроксильную группу пиранового кольца С (схема 2) с образованием устойчивого радикала, а затем фенольные группы колец А и В.



Молекула рутина содержит гликозидный остаток в положении 3. Поэтому, вероятно, в окислении участвует одна из гидроксильных групп кольца В [10].

Представляет интерес взаимное влияние природных полифенолов и синтетического пространственно-затрудненного фенола – ионола, имеющее значение в фармации. Поэтому исследовали систему полифенол – ионол при различных соотношениях компонентов. При введении ионола наблюдали изменение электрохимических характеристик ступеней окисления полифенолов. Поскольку наиболее информативной является первая ступень, то влияние ионола рассматривали по ее изменению. Степень увеличивалась по высоте и смещалась в область менее положительных потенциалов.

В системе кверцетин – ионол в соотношении 1:1 наблюдается увеличение высоты пика. При соотношениях 1:2 и 1:3 также наблюдается увеличение тока пика, но в меньшей степени (рис. 5).

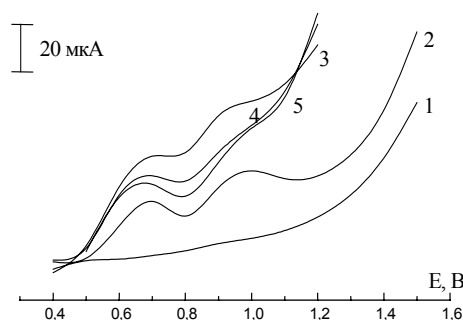


Рис. 5. Вольтамперограммы окисления кверцетина на стеклоуглеродном электроде на фоне 0.1М HClO_4 в диметилформамиде: 1 – фоновый электролит; 2 – кверцетин; и в присутствии ионола в соотношении: 3 – 1:1; 4 – 1:2; 5 – 1:3, скорость изменения потенциала 100 мВ/с

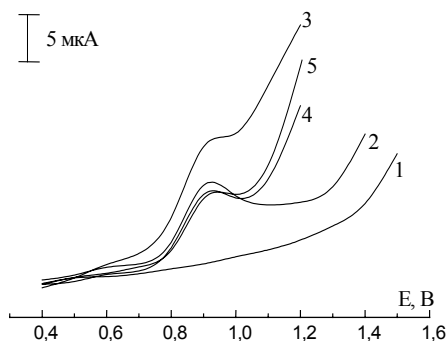


Рис. 6. Вольтамперограммы окисления дигидрокверцетина на стеклоуглеродном электроде на фоне 0.1М HClO_4 в диметилформамиде: 1 – фоновый электролит; 2 – дигидрокверцетин; и в присутствии ионола в соотношении: 3 – 1:1; 4 – 1:2; 5 – 1:3, скорость изменения потенциала 100 мВ/с

Для системы дигидрокверцетин – ионол в соотношении 1:1 также наблюдается повышение тока пика, но при дальнейшем увеличении концентрации ионола (1:2 и 1:3) происходит снижение высоты пиков ниже, чем для дигидрокверцетина (рис. 6).

Если для кверцетина и дигидрокверцетина наблюдалась подобная картина в поведении при различных исходных концентрациях полифенолов (1×10^{-4} и 5×10^{-4} М), то для рутина наблюдается иная закономерность.

На рис. 7 приведены вольтамперограммы рутина с концентрацией 1×10^{-4} М в присутствии ионола. Максимальное увеличение высоты волны рутина достигается при соотношении рутин – ионол 1:2.

Для рутина с концентрацией 5×10^{-4} М на вольтамперограмме рутина появляется вторая волна при потенциале 1.4 В. Максимальный эффект при добавлении ионола достигается в соотношении 1:1 (рис. 8). Кроме того, наблюдается волна с потенциалом полуволны 1.15 В, соответствующая окислению ионола.

Таким образом, в системе полифенол – ионол наблюдается каталитический дозозависимый эффект от введения ионола. Окисление полифенолов протекает

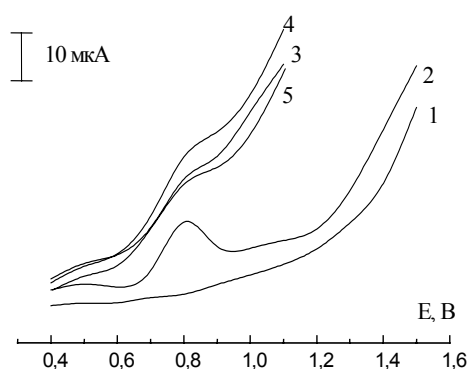


Рис. 7. Вольтамперограммы окисления рутина на стеклоуглеродном электроде на фоне 0.1М HClO_4 в диметилформамиде: 1 – фоновый электролит; 2 – рутин; и в присутствии ионола в соотношении: 3 – 1:1; 4 – 1:2; 5 – 1:3, скорость изменения потенциала 100 мВ/с

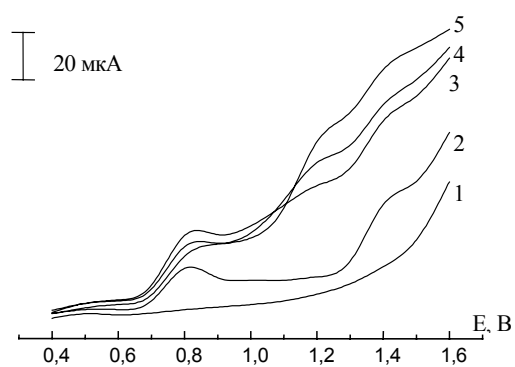
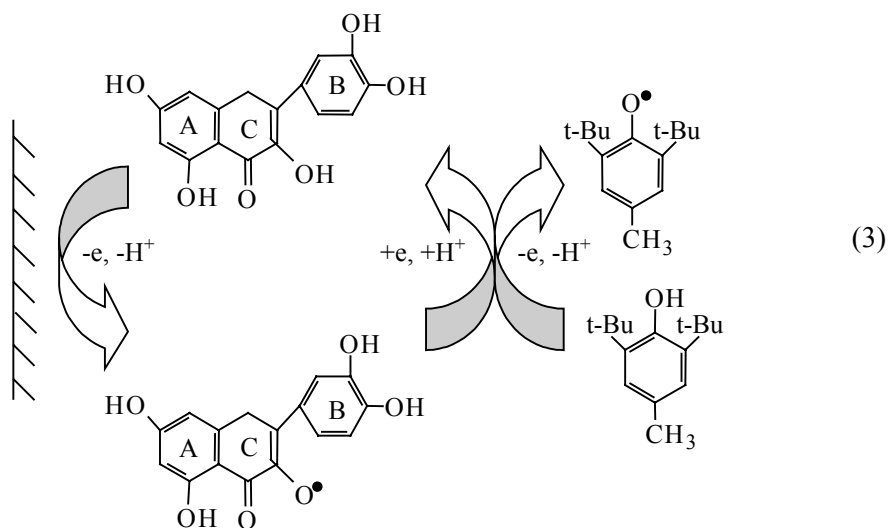


Рис. 8. Вольтамперограммы окисления рутина на стеклоуглеродном электроде на фоне 0.1М HClO_4 в диметилформамиде: 1 – фоновый электролит; 2 – рутин; в присутствии ионола в соотношении: 3 – 1:1; 4 – 1:2; 5 – 1:3, скорость изменения потенциала 100 мВ/с



с образованием радикала, который вступает в реакцию с ионолом, в результате чего происходит регенерация молекулы исходного полифенола (схема 3).

Соотношение компонентов в системе влияет на величину каталитического тока. При соотношениях 1:2 и 1:3 наблюдается его уменьшение, что связано с возможностью образования комплекса с переносом заряда и его дальнейшими превращениями, которые могут уменьшать поток исходного деполяризатора.

Максимальное увеличение тока пика наблюдается при соотношении компонентов 1:1 независимо от первоначальной концентрации полифенола. Исключение составляет рутин, для которого при низкой концентрации максимальный каталитический эффект в присутствии ионола наблюдается в соотношении 1:2. Это, вероятно, связано с присутствием в молекуле рутина гликозидного остатка.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Федерального агентства по образованию № А04-2.11-116 и программы «Университеты России» (проект № 06.01.085).

Summary

G.K. Ziyatdinova, D.M. Gil'metdinova, H.C. Budnikov, E.N. Ofitzerov. Voltammetric behaviour of phenolic compounds with antioxidant properties.

Kinetic parameters of the reactions between major antioxidants and electrochemically generated superoxide anion-radical were calculated.

Mutual influence of natural polyphenols and synthetic phenol – ionol (butylated hydroxytoluene) as system polyphenol - ionol is shown at various ratio of components. As ionol was added in electrochemical cell containing polyphenol catalytic effect was observed. The ratio of component concentration at which the maximal increase of the polyphenol's oxidation current is found. The effect is caused by the polyphenol molecule regeneration.

Литература

1. Гуреева Н.В., Сторожок Н.М., Крысин А.П., Храпова Н.К., Буракова Е.Б. Взаимосвязь химического строения и активности радикалов антиоксидантов фенольной природы // Тез. докл. VI межд. конф. «Биоантиоксидант», Москва, 16–19 апр. 2002 г. – М., 2002. – С. 139–141.
2. Барабой В.И. Растительные фенолы и здоровье человека. – М.: Наука, 1984. – 160 с.
3. Гершанов Ф.Б., Гильмутдинов Г.З., Скипина И.М., Хамитов Б.Р., Чесновский В.Н. Тонарол. Медико-биологические характеристики. – Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2001. – 180 с.
4. Рогинский В.А. Фенольные антиоксиданты. Реакционная способность и эффективность. – М.: Наука, 1988. – 247 с.
5. Зиятдинова Г.К., Гильметдинова Д.М., Будников Г.К. Реакции супероксид анион-радикала с антиоксидантами и их применение в вольтамперометрии // Журн. аналит. химии. – 2005. – Т. 60, № 1. – С. 56–59.
6. Гороховский В.И., Гороховская В.М. Практикум по электрохимическим методам анализа. – М.: Высш. шк., 1983. – 191 с.
7. Томилов А.П., Феоктистов Л.Г. Электрохимия органических соединений. – М.: Мир, 1976. – 736 с.
8. Петросян В.А., Феоктистов Л.Г. (под ред.). Органическая электрохимия. – М.: Химия, 1988. – 1024 с.

9. *Ершов В.В., Никифоров Г.А., Володькин А.А.* Пространственно-затрудненные фенолы. – М.: Химия, 1972. – 352 с.
10. *Avila V., Bertolotti S.G., Criado S., Pappano N., Debattista N., Garcia N.A.* Antioxidant properties of natural flavonoids: quenching and generation of singlet molecular oxygen // *Int. J. of Food Sci. Tech.* – 2001. – V. 36, No 1. – P. 25–34.

Поступила в редакцию
05.05.05

Зиятдинова Гузель Камилевна – аспирант кафедры аналитической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского государственного университета.

E-mail: *Ziyatdinovag@mail.ru*

Будников Герман Константинович – доктор химических наук, профессор, зав. кафедрой аналитической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского государственного университета.

E-mail: *Herman.Budnikov@ksu.ru*

Офицеров Евгений Николаевич – доктор химических наук, профессор кафедры общей химии и экологии Казанского государственного технического университета.

E-mail: *ofitser@mail.ru*

Гильметдинова Дильбар Миннекасимовна – студентка 5-го курса кафедры аналитической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского государственного университета.