

УДК 543.25

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА И ИОНОЛА

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

Аннотация

Найдены условия вольтамперометрического определения производных дигидрокверцетина и ионола на стеклоуглеродном электроде в кислой и щелочной средах в анодной области потенциалов. Методом кулонометрического титрования исследованы реакции производных дигидрокверцетина и ионола с электрогенерированными галогенами. Установлено число электронов, участвующих в реакциях в щелочной среде. Разработан способ кулонометрического определения фенольных антиоксидантов с применением электрогенерированных хлора и брома.

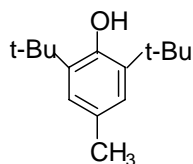
Введение

Дигидрокверцетин и ионол являются фенольными соединениями, проявляющими выраженные антиоксидантные свойства.

Фенольные антиоксиданты применяют для предотвращения окисления многих пищевых продуктов, напитков, лекарственных средств, нефтепродуктов и ряда полимеров. Исходя из свойств фенольных антиоксидантов и учитывая возможность их воздействия на организм, для каждого объекта подбирают соответствующую концентрацию того или иного антиоксиданта как природного, так и синтетического происхождения.

В настоящее время происходит интенсивное развитие химии пространственно-затрудненных фенолов, что обусловлено как практическим, так и теоретическим значением этих соединений.

2,6-Дитрет-бутил-4-метилфенол (ДВР, ТВР, ионол, дибунол, тонарол)



широко используется в ведущих странах Европы и Америки в качестве пищевой, косметической добавки и фармпрепарата. Труды академика Н.М. Эммануэля и его школы были показаны перспективы применения ионола в медицине, и в 70-х гг. XX в. ионол под торговым названием дибунол был разрешен для клинического применения при опухолях мочевого пузыря, для лечения лучевых циститов, лучевых и трофических повреждений, ожогов кожи и обморожениях. В монографии [1] представлены результаты исследований противояз-

венных свойств 2,6-дитрет-бутил-4-метилфенола (тонарол), который производится на ООО «Вита» (г. Нижнекамск, Республика Татарстан).

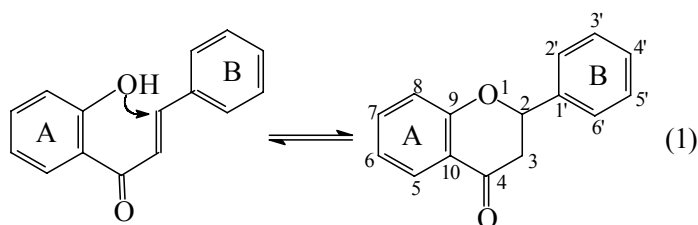
Ключевым для использования в медицине оказалось свойство 2,6-дитрет-бутил-4-метилфенола ингибировать свободнорадикальные процессы посредством связывания активных свободных радикалов с образованием стабильного феноксильного радикала, выбывающего из реакции.

Образование свободнорадикальных метаболитов происходит практически при любом заболевании независимо от его этиологии. Поэтому система антиоксидантной защиты запускается всегда. Данные, полученные в процессе поиска фармакологических средств регуляции процессов перекисного окисления липидов, позволяют сделать вывод: 2,6-дитрет-бутил-4-метилфенол является препаратом широкого спектра действия и может применяться при лечении язвенной болезни, в составе комплексной терапии для защиты печени при отравлениях и успешно использоваться в составе комплексной терапии нарко- и токсикомании (в том числе алкоголизма), вирусного гепатита В, ишемической болезни сердца, туберкулеза (совместно с туберкулостатиками). В настоящее время его применяют также при циститах, поверхностных ожогах, обморожениях I-II степени, вяло гранулирующихся ранах [1, 2].

На сегодняшний день выделены и идентифицированы более 4000 флавоноидных соединений растительного происхождения [3, 4]. Они выполняют широкий ряд функций в жизнедеятельности растений, например, в окраске лепестков растений, в изобилии и прорастании семян (пыльцы), в активации «бактериальных генов», отвечающих за процесс фиксации азота, в защите от патогенных микроорганизмов, в защите от УФ-облучения. Флавоноиды как неотъемлемые компоненты растительных тканей постоянно поступают в организм человека в составе продуктов питания, особенно с ягодами, фруктами и овощами.

Большинство из них синтезируется высшими растениями, а также мхами и папоротниками, реже встречается у микроорганизмов [5]. В надземной части растений они, в первую очередь, сосредоточены в листьях, цветках и плодах, а также в стеблях (в коре и древесине). Подземные органы либо содержат незначительные количества флавоноидов, либо отличаются высоким их содержанием, как, например, в корнях и корневищах солодки (до 6%), в корнях шлемника и др. [6, 7].

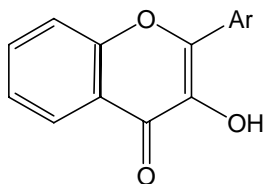
Биогенетическими предшественниками рассматриваемых веществ являются халконы. Образование циклической системы флавоноидов происходит путем внутримолекулярной реакции Михаэля – присоединения фенольной гидроксильной группы по активированной двойной связи халкона.



Флавоноиды рассматриваются как соединения $C_6-C_3-C_6$, в молекуле которых имеются два бензольных ядра А и В, соединенных друг с другом трехуглеродным фрагментом.

Семейство арилбензопиранов включает мономерные флаваны, катехины, лейкоантоцианидины, антоцианидины, флавонолы, флаваноны, флавоны и флавононолы. Классификация основана на степени насыщенности трехуглеродного фрагмента, числе гидроксильных групп, их местоположении в молекуле, а также на положении бокового фенильного радикала и величине гетероцикла [8].

Флавонолы в большом количестве синтезируются в различных видах растений



Некоторые из них весьма редки, другие же имеют широкое распространение во всех растительных таксонах. Кверцетин, дигидрокверцетин и рутин являются наиболее распространенными флавоноидами.

Таким образом, 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, флавоны, флавононы, катехины, антоцианы и др. Они обладают широким спектром фармакологического действия на организм.

Как компоненты системы полифенол – фенол – фенолоксидаза, указанные выше соединения участвуют во многих окислительно-восстановительных процессах, включая и процессы дыхания. Взаимодействуя с белками, флавоноиды оказывают влияние на различные ферментативные реакции в клетке. Полифенолы обладают Р-витаминной активностью (катехины чая, рутин гречихи, гесперидин цитрусовых), способны восстанавливать нарушенную проницаемость капилляров и уменьшать их ломкость. Флавоноиды растений оказывают седативное действие (боярышник, шлемник байкальский), применяются при лечении сердечно-сосудистых заболеваний, а также могут использоваться как противоопухолевые, противовоспалительные (солодка голая), спазмолитические, бактерицидные (дуб) и противовоспалительные средства (бессмертник песчаный) [9]. Флавоноиды типа дайдзеина и генистеина, представленные в таких диетических растениях, как соя, проявляют уникальную биологическую активность, релевантную по отношению к раковым клеткам.

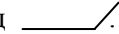
Для определения антиоксидантов активно применяют методы хемилюминесценции, радиотермолюминесценции, электронного парамагнитного резонанса, а также спектрофотометрические, различные хроматографические и электрохимические методы [10]. Последние характеризуются простотой, доступностью и экспрессностью, что позволяет их применять для количественного определения широкого круга органических соединений, проявляющих антиоксидантные свойства.

С учетом вышесказанного электрохимическое определение фенольных антиоксидантов является актуальным. В частности, представляют интерес методы вольтамперометрии и кулонометрии.

1. Экспериментальная часть

Вольтамперометрические измерения проводили на вольтамперометрическом анализаторе «Экотест-ВА» следующим образом: в электрохимическую ячейку объемом 50.0 мл вводили 20.0 мл фонового электролита и аликвоту раствора исследуемого соединения. Опускали рабочий (стеклоуглеродный), вспомогательный (платиновый) и насыщенный хлоридсеребряный электроды; регистрировали вольтамперные кривые с линейной разверткой потенциала от 0 до 1.2 В, скорость изменения потенциала 50 мВ/с.

Кулонометрическое определение. Электрогенерацию галогенов осуществляли на потенциостате П-5827 М при постоянной силе тока 5.0 мА из водных 0.2 М растворов KCl и KBr в 0.1 М H₂SO₄.

Конечную точку кулонометрического титрования определяли амперометрически с двумя поляризованными игольчатыми платиновыми электродами ($\Delta E = 300$ мВ). Кривая кулонометрического титрования во всех случаях имеет вид .

В кулонометрическую ячейку вносили 20.0 мл фонового раствора и аликвоту исследуемого раствора (0.2 ÷ 2.0 мл). Для титрования брали аликвоты с таким расчетом, чтобы время титрования не превышало 5 мин.

Фиксировали изменение индикаторного тока во времени. По перегибу на индикаторных кривых находили конечную точку титрования и рассчитывали массу вещества по формуле:

$$m = I \cdot t \cdot M / (n \cdot F),$$

где I – сила тока, А; t – время достижения конечной точки титрования, с; M – молярная масса вещества, г/моль; n – число электронов, участвующих в реакции; F – постоянная Фарадея (96500 Кл/моль).

Перед началом работы рабочую поверхность электродов очищали следующим образом. Платиновые электроды кипятили в HNO₃ (1:1) в течение 3 мин., затем обрабатывали концентрированной HCl и промывали дистиллированной водой. Рабочую поверхность стеклоуглеродного электрода зачищали механически.

Объектами исследования служили следующие соединения (табл. 1).

2,6-Дитрет-бутил-4-метилфенол, торговая марка – тонарол, с содержанием основного вещества 99.9% предоставлен фирмой «Тонар» (г. Нижнекамск), дигидрокверцетин с содержанием основного вещества 99.5% и его производные профессором М.П. Коротеевым (г. Москва). Производные 2,6-дитрет-бутил-4-метилфенола предоставлены доцентом кафедры органической химии Казанского государственного технологического университета Р.Г. Исмагиловым.

Стандартные растворы фенольных соединений квалификации х.ч. готовили по точной навеске (0.1–0.2 г) и растворяли в 25 мл ацетонитрила, 1 М CH₃COONa или 1 М KOH.

Табл. 1

Объекты исследования

№	Соединение	Структурная формула
1	2	3
I	3',4',3,5,7-пентаацетат дигидрокверцетина	
II	3-диэтиламиноэтилтионфосфат 3',4',5,7-тетраметилдигидрокверцетина	
III	3-диэтиламиноэтилселенонфосфат 3',4',5,7-тетраметилдигидрокверцетина	
IV	3-O,O-неопентилиденселенонфосфат 3',4',5,7-тетраметилдигидрокверцетина	
V	3-O,O-неопентилиденфосфат 3',4',5,7-тетраметилдигидрокверцетина	
VI	2,6-дитрет-бутил-4-β,β-диацетилэтилфенол	

VII	трис[диацетил-3,5-дитрет-бутил-4-оксибензилметил] железа (III)	
VIII	2,6-дитрет-бутил-4-диметиламинометил-фенол	
IX	2,6-дитрет-бутил-4-(N,N-бис-β-окси-этиламино) метилфенол	

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

2. Результаты и обсуждение

2.1. Вольтамперометрические исследования. Найдены условия вольтамперометрического определения производных дигидрокверцетина и ионола на стеклоуглеродном электроде.

Так, соединение III окисляется на фоне 0.1 М HClO_4 в ацетонитриле при потенциале полуволны 0.83 В (рис. 1), при этом соединение II, содержащее атом серы вместо атома селена, не окисляется в указанных условиях.

В то же время на вольтамперограммах соединений VI-IX не наблюдается волн окисления. Это, вероятно, связано с тем, что производные ионола окисляются в этих условиях при более положительных потенциалах.

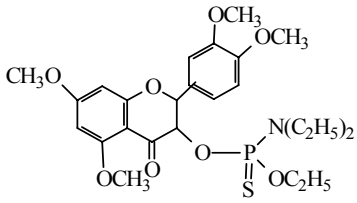
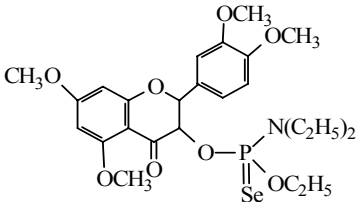
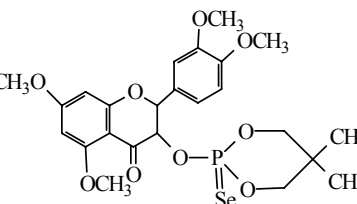
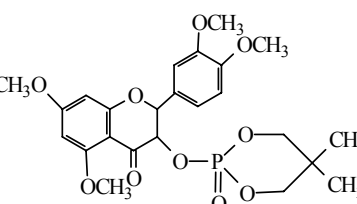
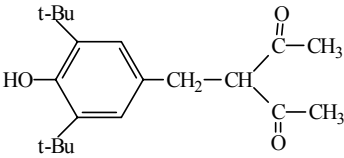
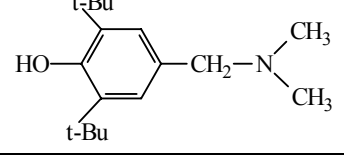
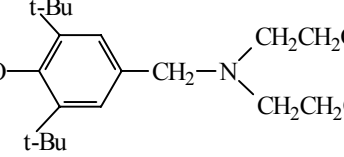
На вольтамперограммах соединений II-V, VI, VIII и IX на фоне 1 М CH_3COONa наблюдаются выраженные волны окисления. Потенциалы окисления представлены в табл. 2.

Соединения I и VII в этих условиях не окисляются. Соединение VII, представляющее собой комплексное соединение железа (III) с производным ионола, разрушается в щелочной среде.

Из литературных данных известно [10], что в щелочной среде производные ионола образуют фенолят-анион, и электрон уходит не с π -орбитали бензольного ядра, а с неподеленной электронной пары, локализованной на кислороде, что в конечном итоге сказывается на реакционной способности пространственно-затрудненных фенолов. Поэтому соединения VI, VIII и IX окисляются на фоне 1 М CH_3COONa , но не проявляют себя на фоне 0.1 М HClO_4 в ацетонитриле.

Табл. 2

Потенциалы окисления производных дигидрокверцетина и ионола на стеклоуглеродном электроде на фоне 1 М CH_3COONa

№	Структурная формула	Потенциал окисления, В
II		+0.56; +0.73
III		+0.48; +0.76; +0.95
IV		+ 1.08
V		+0.50
VI		+0.64; +1.1
VIII		+0.36; +0.75
IX		+0.46; +0.73

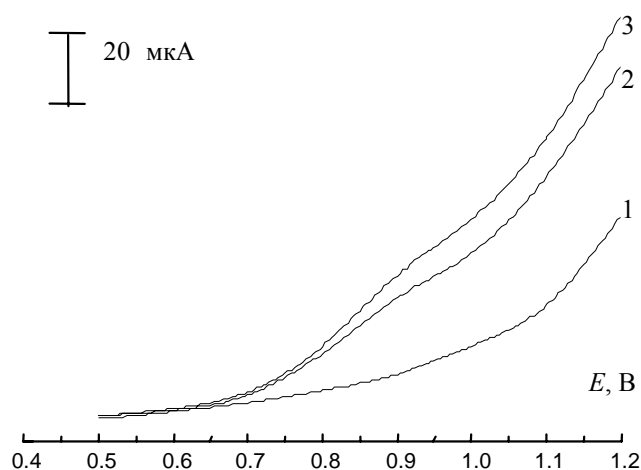


Рис. 1. Вольтамперограммы окисления соединения VI различной концентрации $C(M)$ на стеклоуглеродном электроде на фоне $0.1 M HClO_4$ в ацетонитриле: 1 – 0; 2 – $6 \cdot 10^{-4}$; 3 – $1.1 \cdot 10^{-3}$, скорость изменения потенциала 50 мВ/с

2.2. Гальваностатическая кулонометрия. Исследуемые соединения были растворены в спиртовом растворе KOH, и методом кулонометрического титрования изучены их реакции с электрогенерированными окислителями: хлором и бромом.

Результаты кулонометрического титрования позволили установить число электронов, участвующих в реакциях производных дигидрокверцетина и ионола с электрогенерированными галогенами (табл. 3).

В щелочной среде происходит окисление пространственно-затрудненных фенолов – соединений VI, VIII и IX – кислородом воздуха. Как уже упоминалось выше, в этом случае в реакции принимает участие фенолят-ион, и отрыв электрона от иона к окислителю осуществляется легче, чем от нейтральной молекулы. Характер продуктов реакции пространственно-затрудненных фенолов с кислородом в присутствии щелочей зависит от структуры фенола, растворителя, количества поглощенного кислорода и продолжительности реакции. Неоднозначность результатов, полученных при окислении кислородом в щелочной среде, объясняется неустойчивостью образующихся из них гидроперекисей, которые склонны к процессам изомеризации и легко разлагаются в условиях реакции или при нагревании. При окислении производных 2,6-ди-трет-бутилфенолов, содержащих электронодонорные заместители в пара-положении, кислородом в полярных средах в присутствии щелочей происходит ряд превращений, указанных на схеме 2 [11].

Из-за сложности процессов, протекающих в щелочной среде, не представляется возможным предложить схемы взаимодействий с электрогенерированными титрантами без дополнительных исследований с применением методов спектроскопии.

На основе полученных результатов проведено определение фенольных антиоксидантов в модельных растворах (табл. 4).

Табл. 3

Число электронов, участвующих в реакциях производных дигидрокверцетина и ионола электрогенерированными галогенами ($n = 5, p = 0.95$)

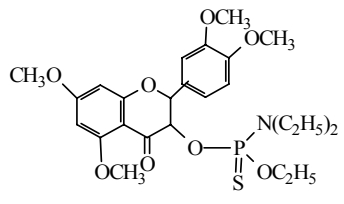
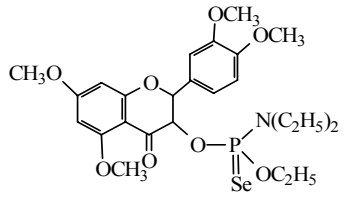
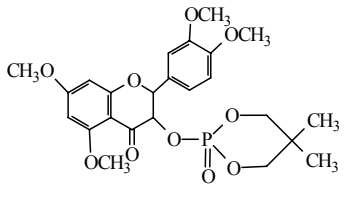
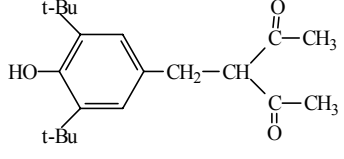
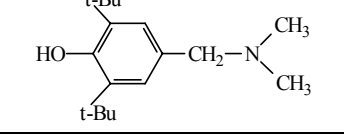
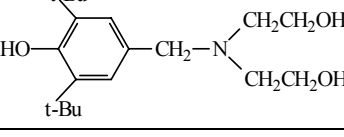
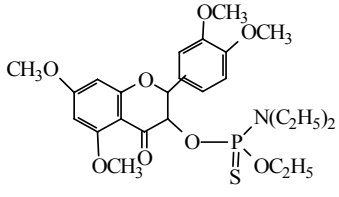
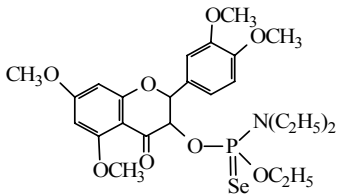
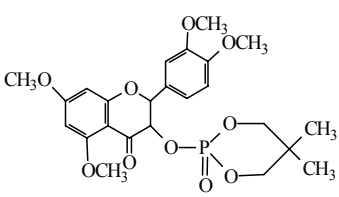
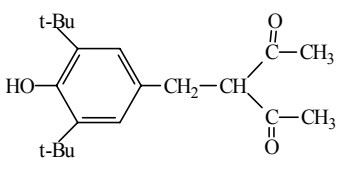
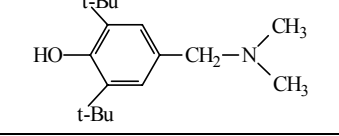
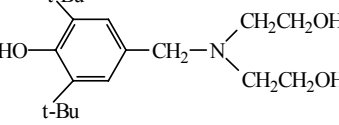
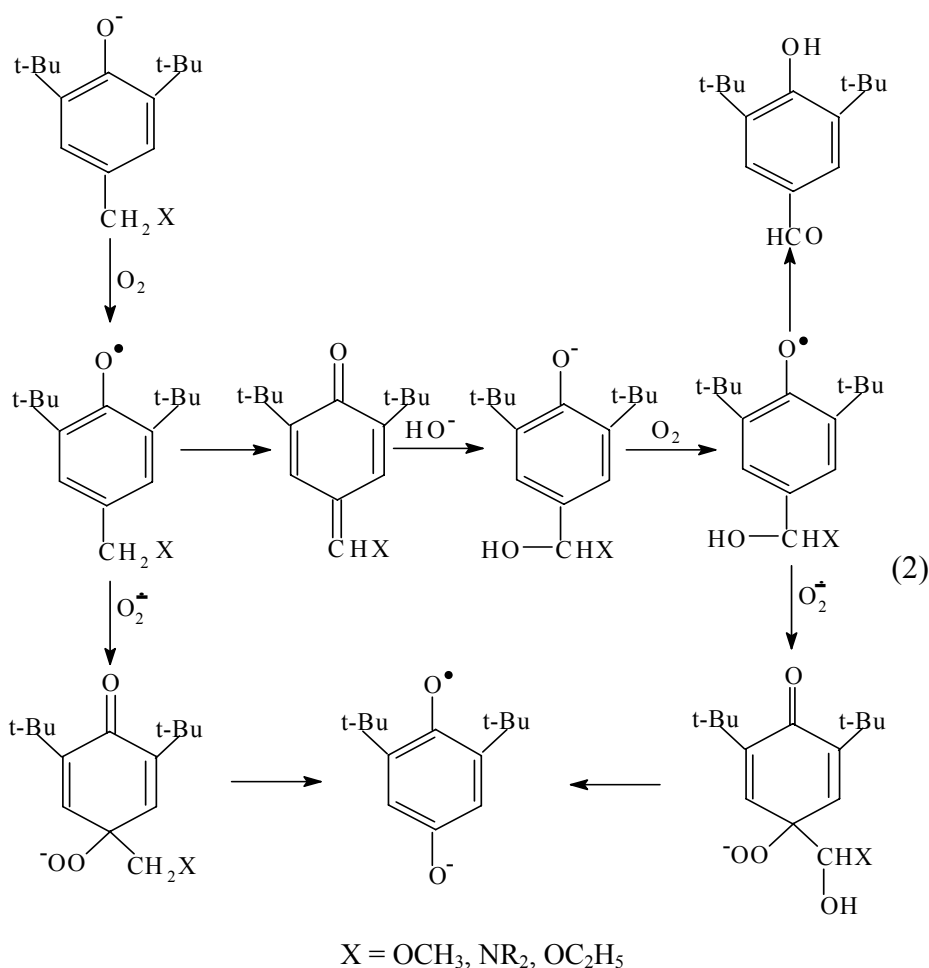
№	Структурная формула	Число электронов по реакции с Br ₂	Число электронов по реакции с Cl ₂
II		2	5
III		5	10
V		2	6
VI		2	3
VIII		–	1
IX		–	3

Табл. 4

 Результаты кулонометрического определения фенольных соединений в модельных растворах с применением электрогенерированных галогенов ($n = 5, p = 0.95$)

№	Структурная формула	Титрант	Введено, мкг	Найдено, мкг	S_r
1	2	3	4	5	6
II		Br ₂	762	714±20	0,01
		Cl ₂	381	346±13	0,03
III		Br ₂	631	661±15	0,02
		Cl ₂	315	320±10	0,02
V		Br ₂	519	491±33	0,04
		Cl ₂	260	261±10	0,03
VI		Br ₂	557	519±17	0,03
		Cl ₂	139	133±26	0,05
VIII		Br ₂	-	-	-
		Cl ₂	550	463±61	0,05
IX		Br ₂	-	-	-
		Cl ₂	381	384±23	0,05



Таким образом, проведенные исследования показали возможность количественного определения фенольных антиоксидантов – производных дигидрокверцетина и ионола – с использованием методов электроанализа.

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

Summary

G.K. Ziyatdinova, D.M. Gil'metdinova, E.N. Ofitzerov. Electrochemical determination of dihydroquercetin and ionol derivatives.

Voltammetric conditions of determination of dihydroquercetin and ionol derivatives on glassy carbon electrode in acidic and alkaline media in anodic area of potentials are found. Reactions of dihydroquercetin and ionol derivatives with the electrogenerated halogens using coulometric titration are investigated. The number of electrons participating in reactions in the alkaline media is established. The coulometric method for determination of phenolic antioxidants by reactions with electrochemically generated chlorine and bromine is developed.

Литература

1. 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.
2. Регистр лекарственных средств России «Энциклопедия лекарств» / Под ред. Г.Л. Вышковского. – М.: РЛС, 2002. – Вып. 9. – 1504 с.
3. Запорожтов М.Н. Фенольные соединения, их роль в жизни растения // 56-е Тимирязевское чтение. – М.: Наука, 1996. – 45 с.
4. Barton D.H.R., Nakanishi K. Comprehensive Natural Products Chemistry. – Amsterdam: Elsevier, 1999. – V. 1. – 714 p.
5. Лукнер М. Вторичный метаболизм у микроорганизмов, растений и животных. – М.: Мир, 1979. – 548 с.
6. Харборн Д. Введение в экологическую биохимию. – М.: Мир, 1985. – 311 с.
7. Промышленная технология лекарств / Под ред. В.И. Чуешова. – Харьков: МТК-Книга, Изд-во НФАУ, 2002. – 156 с.
8. Семенов А.А. Очерк химии природных соединений. – Новосибирск: Наука, 2000. – 365 с.
9. Барабой В.И. Растительные фенолы и здоровье человека. – М.: Наука, 1984. – 160 с.
10. Рогинский В.А. Фенольные антиоксиданты. Реакционная способность и эффективность. – М.: Наука, 1988. – 247 с.
11. Ершов В.В., Никифоров Г.А., Володькин А.А. Пространственно-затрудненные фенолы. – М.: Химия, 1972. – 352 с.

Поступила в редакцию
27.06.05

Зиятдинова Гузель Камилевна – ассистент кафедры аналитической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского государственного университета.
E-mail: Ziyatdinovag@mail.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 Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского государственного университета.