

На правах рукописи

ТИХОНОВ ИВАН ВИКТОРОВИЧ

**АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИФЕНОЛОВ ПРИ
ОКИСЛЕНИИ СТИРОЛА И МЕТИЛЛИНОЛЕАТА В РАСТВОРЕ**

02.00.04 – Физическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Иваново – 2009

Работа выполнена на кафедре общей и биоорганической химии ГОУ ВПО
«Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова»

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Плисс Евгений Моисеевич

Официальные оппоненты: доктор химических наук, профессор
Лефедова Ольга Валентиновна

доктор химических наук, профессор
Плахтинский Владимир Владимирович

Ведущая организация: **Институт химической физики
им. Н.Н. Семенова РАН**

Защита диссертации состоится «16» марта 2009 г. в 10.00 на заседании совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 212.063.06 при ГОУ ВПО «Ивановский государственный химико-технологический университет» по адресу: 153000, г. Иваново, пр.Ф.Энгельса, 7.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО «Ивановский государственный химико-технологический университет» по адресу: 153000, г. Иваново, пр. Ф. Энгельса, 10.

Автореферат разослан «30» января 2009 г.

Ученый секретарь совета
по защите докторских и кандидатских
диссертаций Д 212.063.06

_____ **Егорова Е.В.**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Полифенолы широко распространены в природе и содержатся во многих продуктах питания. К природным полифенолам относятся флавоноиды и полигидроксикислоты, а также образованные на их основе танины и лигнины. Большой интерес к изучению полифенолов вызван способностью этих соединений снижать риск развития атеросклероза, онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний. Подобные свойства объясняются высокой антиоксидантной активностью полифенолов, в результате чего эти соединения способны ингибировать процессы радикально-цепного окисления в организме, защищая биомолекулы от окислительного разрушения. Таким образом, изучение антиоксидантной активности (АОА) полифенолов представляет большой интерес, как для химии, так и для биологии и медицины.

В последнее время к определению АОА полифенолов и полифенолсодержащих природных продуктов приковано большое внимание. В исследованиях используются самые разнообразные подходы к оценке АОА. Однако результаты многих работ являются неоднозначными и невоспроизводимыми. В то же время, существует обоснованный подход к определению АОА, основанный на использовании модели контролируемой цепной реакции окисления. АОА в этой модели характеризуется двумя независимыми параметрами, константой скорости реакции пероксидного радикала с ингибитором (k_7) и стехиометрическим коэффициентом ингибирования (f). Изучение АОА природных соединений и их аналогов чаще всего проводят в гетерогенных системах, близких по строению к клетке живого организма, – мицеллах и липосомах. Однако АОА, определенная в этих условиях, зависит от различных факторов. Для того чтобы разделить влияние этих факторов, необходимо исследовать АОА этих соединений при окислении модельных субстратов в гомогенной системе.

Таким образом, актуальным представляется изучение антиоксидантной активности полифенолов при ингибировании окисления в растворе.

В качестве **объектов исследования** настоящей работы были выбраны важнейшие природные полифенолы класса флавоноидов и ароматических гидроксикислот, простейшие синтетические полифенолы – аналоги природных соединений, а также некоторые антиоксиданты класса полифенолов, применяемые в промышленности. В качестве модельных субстратов были использованы стирол и метиллинолеат (МЛ). Первый позволяет определить истинные константы скорости реакции пероксидных радикалов с полифенолами, а второй является моделью природных липидов.

Цели исследования:

– установление параметров антиоксидантной активности полифенолов при ингибировании окисления в растворе;

– выявление связи антиоксидантной активности полифенолов со строением соединений и термодинамическими характеристиками процесса.

Научная новизна. В настоящей работе впервые проведено систематическое исследование антиоксидантной активности полифенолов при окислении стирола и метиллинолеата в растворе. Обнаружено, что значения f для некоторых полифенолов заметно меньше двух, что объясняется их автоокислением в раство-

ре. Установлена связь значений k_7 со строением молекул полифенолов. Установлено, что для монофенолов и производных гидрохинона и пирокатехина существует единая линейная корреляция между логарифмом значения k_7 и прочностью связи О–Н, в то время как производные пирогаллола и *o*-метоксифенолы не описываются данной зависимостью. Обнаружена линейная корреляция между логарифмом константы равновесия и энергией комплексообразования полифенолов с метиллинолеатом.

Положения, выносимые на защиту:

– Связь антиоксидантной активности полифенолов со строением соединений.

– Связь антиоксидантной активности полифенолов с термодинамическими параметрами процесса.

Научно-практическая ценность. Примененный в настоящей работе подход к определению антиоксидантной активности полифенолов при окислении модельных соединений может использоваться и для изучения других природных антиоксидантов. Обнаруженные закономерности связи антиоксидантной активности полифенолов со строением и термодинамическими характеристиками процесса могут быть использованы для объяснения антиоксидантной активности полифенолов в реальных биологических системах.

Апробация работы. Материалы диссертации докладывались и обсуждались на следующих конференциях: Совместная сессия 3-го Международного симпозиума «Компьютерное обеспечение химических исследований» и 5-й Международной интернет-конференции «Информационно-вычислительные технологии в решении фундаментальных научных проблем и прикладных задач химии, биологии, фармацевтики, медицины» (Россия, Ярославль, 2006 г.); Всероссийские конференции молодых ученых и II и III школы «Окисление, окислительный стресс и антиоксиданты» (Россия, Москва, 2006, 2008 гг.); VII Всероссийская научно-практическая конференция студентов и аспирантов «Химия и химическая технология в XXI веке» (Россия, Томск, 2006 г.); XIX симпозиум "Современная химическая физика" (Россия, Туапсе, 2007 г.); III международная конференция «Современные проблемы физической химии» (Украина, Донецк, 2007 г.).

Публикации. По результатам работы опубликованы 3 статьи в рекомендованных ВАК журналах и 6 тезисов докладов на Международных и Всероссийских конференциях.

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, четырех глав и заключения. Работа изложена на 141 странице, включая 22 рисунка и 29 таблиц. Список использованных источников включает 136 наименований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Анализ литературных данных

В первой главе проанализированы литературные данные о механизме неингибированного и ингибированного окисления органических соединений, рассмотрены различные методы определения АОА. Особое внимание уделено результатам определения АОА полифенолов и механизму их действия.

Глава 2. Экспериментальная часть

Изучение кинетики ингибированного окисления проводилось на стеклянном капиллярном микровольнометре. Кинетическое компьютерное моделирование проводилось с использованием программы «Кинетика». Квантовохимические расчеты проводились полуэмпирическим методом AM1 и методом функционала плотности B3LYP с использованием программного комплекса PC GAMESS.

Глава 3. Реакционная способность полифенолов при окислении стирола в растворе

В данном разделе рассмотрены механизм и кинетические параметры АОО полифенолов при окислении стирола в растворе. Формулы исследованных антиоксидантов представлены на рис. 1.

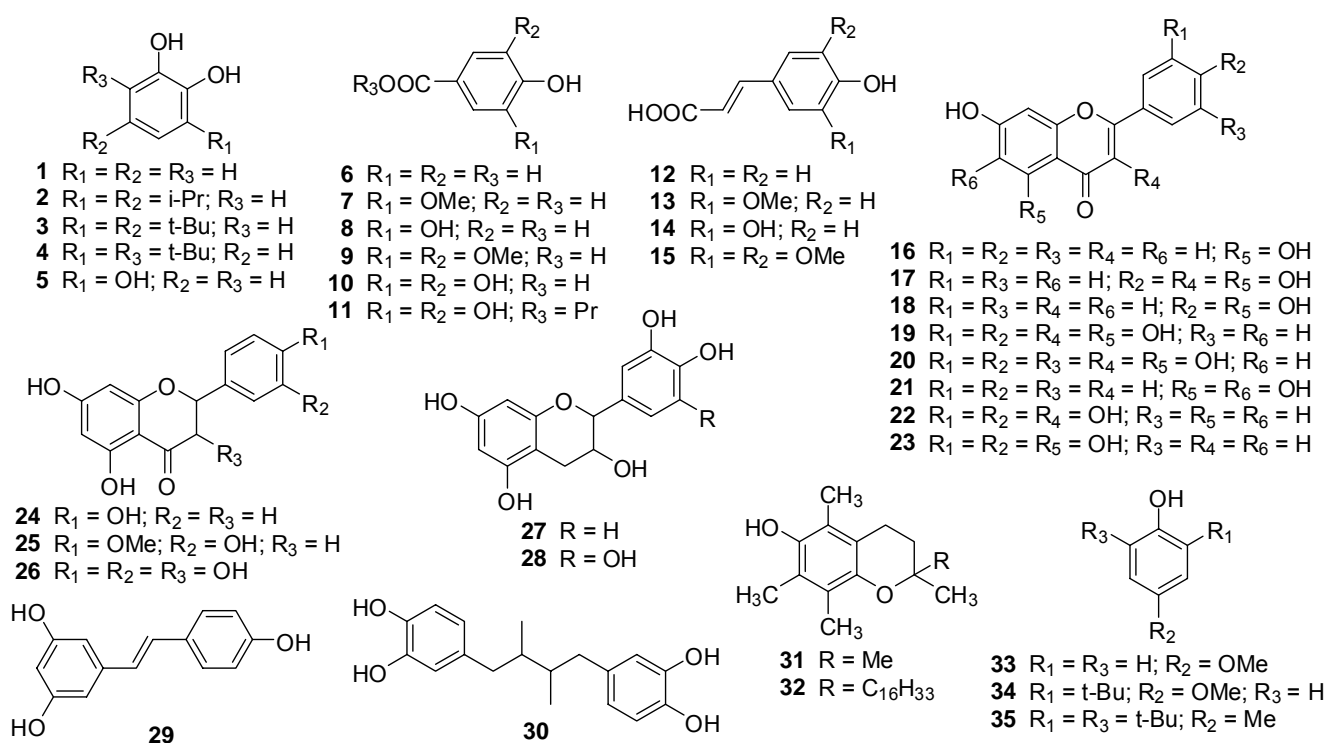
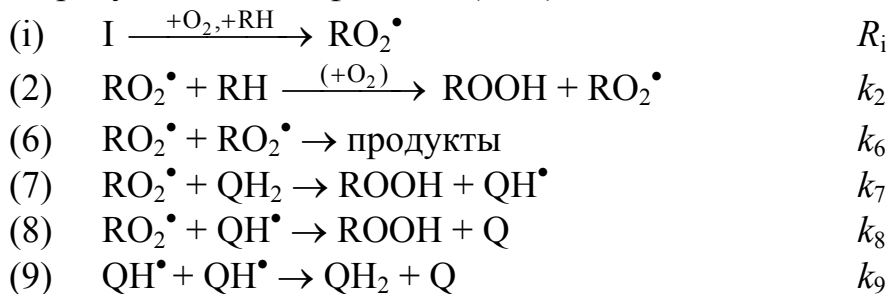


Рис. 1 – Структуры исследованных антиоксидантов

Механизм процесса. Механизм ингибированного окисления в неполярной среде в присутствии полифенолов (QH_2) описывается схемой:



Константу скорости реакции антиоксиданта с пероксидным радикалом k_7 в зависимости от активности антиоксиданта определяли по уравнениям (1) и (2). Стехиометрический коэффициент ингибирования f вычисляли по уравнению (3), исходя из периода индукции τ_{ind} , который определяли по формуле (4).

$$F_1 = \ln \frac{1 + R/R_0}{1 - R/R_0} - \frac{R_0}{R} = \frac{k_7 R_0}{nk_2[\text{RH}]} t + C \quad (1) \quad f = \frac{R_i \cdot \tau_{\text{ind}}}{[\text{PhOH}]_0} \quad (3)$$

$$F_2 = \frac{R_0}{R} - \frac{R}{R_0} = \frac{2k_7 R_0}{nk_2[\text{RH}]R_i} [\text{PhOH}] \quad (2) \quad \tau_{\text{ind}} = \int_0^{\infty} \left(1 - (R/R_0)^2\right) dt \quad (4)$$

где R_0 и R – скорость окисления в отсутствии и присутствии антиоксиданта;
 R_i – скорость инициирования;
 $[\text{RH}]$ и $[\text{PhOH}]$ – концентрации субстрата окисления и антиоксиданта.

Для расчета k_7 принципиально важно установить, какая реакция гибели феноксильных радикалов, (8) или (9) является доминирующей, поскольку от этого зависит значение множителя n в уравнениях (1) и (2). Результаты кинетического анализа показывают, что для полифенолов в условиях эксперимента преобладает гибель радикалов QH^\bullet по реакции (9). В этом случае в уравнениях (1) и (2) для расчета k_7 следует применять множитель $n = 2$. Аналогичный анализ для монофенолов показывает, что в этом случае основной является реакция (8), соответственно для монофенолов использовался множитель $n = 1$.

Разработка методики изучения АОА полифенолов в неполярной среде. Основная проблема, возникающая при изучении АОА полифенолов в неполярной среде, связана с их крайне низкой растворимостью в этих условиях. Для приготовления растворов полифенолов приходится использовать добавки полярных растворителей. Однако полярность среды может оказывать существенное влияние на активность ингибиторов. Так, в настоящей работе было обнаружено, что в присутствии всего лишь 0,012 М диметилсульфоксида (ДМСО) величина k_7 для пирокатехина **1** снижается в 2,5 раза по сравнению со значением в неполярной среде. Причиной такого снижения является образование водородной связи между ОН-группой фенола и растворителем. В этом случае для нахождения истинного значения k_7 необходимо получить экспериментальную зависимость эффективного значения k_7 от концентрации ДМСО и экстраполировать эту зависимость к нулевой концентрации ДМСО. Это ведет к усложнению эксперимента и возникновению дополнительной погрешности в ходе экстраполяции значения k_7 . Поэтому была предпринята попытка подобрать такой растворитель, который бы минимально влиял на значение k_7 для исследованных антиоксидантов. В ходе ряда проведенных экспериментов для пирокатехина и пирогаллола было установлено, что ацетонитрил (АН) в концентрации до 0,12 М не вызывает заметного снижения k_7 . При сравнении результатов определения k_7 с использованием двух растворителей было обнаружено, что для производных пирокатехина **1**, **14**, **27** значения k_7 , полученные в ДМСО и АН, практически совпадают. В то же время для производных пирогаллола **5** и **10** значения k_7 , полученные в ДМСО с помощью экстраполяции, оказались заметно ниже значений в АН. Таким образом, использование стирола в качестве субстрата окисления и АН в качестве добавки для растворения полифенолов позволяет определять истинную реакционную способность полифенолов по отношению к пероксидным радикалам, не осложненную образованием водородных связей. Поэтому в дальнейшем растворы исследованных ингибиторов приготавливались с использованием АН.

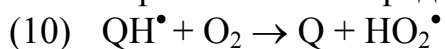
Параметры антиоксидантной активности полифенолов. Результаты определения величин f и k_7 для исследованных соединений при окислении стирола приведены в табл. 1.

Таблица 1 – Параметры АОО при окислении стирола (310 К)

№	$k_7 \cdot 10^{-5}$, л/(моль·с)	f	№	$k_7 \cdot 10^{-5}$, л/(моль·с)	f
1	10 ± 1	$2,1 \pm 0,2$	19	19 ± 2	$1,9 \pm 0,1$
2	24 ± 2	$2,1 \pm 0,1$	20	28 ± 2	$1,6 \pm 0,1$
3	26 ± 3	$2,1 \pm 0,1$	21	$5,3 \pm 0,3$	$2,1 \pm 0,1$
4	34 ± 3	$2,0 \pm 0,1$	22	20 ± 2	$1,5 \pm 0,1$
5	27 ± 3	$1,8 \pm 0,1$	23	15 ± 2	$1,0 \pm 0,1$
6	$0,0065 \pm 0,0007$	–	24	$0,12 \pm 0,01$	–
7	$0,029 \pm 0,003$	–	25	$0,13 \pm 0,02$	–
8	$4,3 \pm 0,3$	$1,1 \pm 0,1$	26	$9,0 \pm 0,5$	$1,9 \pm 0,1$
9	$0,18 \pm 0,02$	–	27	16 ± 1	$1,4 \pm 0,1$
10	12 ± 1	$1,2 \pm 0,1$	28	32 ± 2	$0,9 \pm 0,1$
11	13 ± 1	$1,3 \pm 0,1$	29	$1,7 \pm 0,2$	$2,1 \pm 0,1$
12	$0,25 \pm 0,02$	–	30	16 ± 1	$4,1 \pm 0,2$
13	$0,18 \pm 0,02$	–	31	28 ± 1	2,0
14	15 ± 1	$1,5 \pm 0,1$	32	32 ± 1	$2,0 \pm 0,1$
15	$0,62 \pm 0,07$	–	33	$2,7 \pm 0,3$	$2,1 \pm 0,1$
16	$< 0,01$	–	34	$7,0 \pm 0,5$	$2,0 \pm 0,1$
17	$1,3 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,1$	35	$0,17 \pm 0,01$	–
18	$0,27 \pm 0,03$	–			

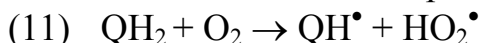
Стехиометрические коэффициенты ингибирования. Значения f были определены только для относительно активных антиоксидантов, когда на кинетической кривой имелся выраженный период индукции. Из данных табл. 1 можно увидеть, что для большинства изученных антиоксидантов значение f практически не превышает двух, причем это справедливо как для монофенолов **31** – **34**, так и для полифенолов, независимо от числа ОН-групп. Исключение составляет соединение **30**, для которого значение f равно 4, поскольку в нем присутствуют два независимых фрагмента пирокатехина, разделенные алифатическим фрагментом.

Для ряда соединений значения f оказались заметно меньше двух. При подробном изучении этого явления на примере галловой кислоты **10** было установлено, что значение f уменьшается при снижении R_i . Это может объясняться взаимодействием феноксильного радикала с кислородом:



Однако сравнение экспериментальных данных с результатами кинетического моделирования показало, что экспериментальная зависимость имеет менее выраженный характер, чем предсказанная теоретически. Кроме того, было обнаружено, что значение f заметно снижается при предварительном термостатирова-

нии антиоксиданта, что может объясняться его окислением. Сопоставление результатов кинетического моделирования и термодинамического расчета показало, что окисление антиоксиданта не может происходить путем прямого взаимодействия антиоксиданта с кислородом:



Вероятно, окисление антиоксиданта протекает по более сложному механизму.

Значения k_7 для полифенолов. Анализ полученных значений k_7 позволил установить следующие основные закономерности связи реакционной способности полифенолов в реакции (7) со структурой соединений:

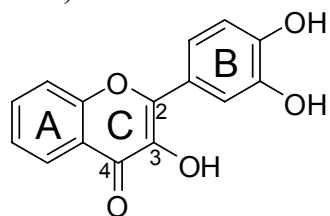
1. Значения k_7 возрастают с увеличением числа ОН-групп в молекуле. При переходе от монофенолов к производным пирокатехина k_7 увеличивается на 2 – 3 порядка. Так, k_7 для пирокатехина **1** заметно выше значения для незамещенного фенола ($k_7 \sim 2 \cdot 10^3$ л/(моль·с), Howard J. A. et al. // *Canad. J. Chem.* 1963, V. 41, P. 2800). Аналогичный результат наблюдается и в парах гидроксикислот **6 – 8** и **12 – 14**. Появление третьей ОН-группы также увеличивает k_7 , но в заметно меньшей степени (в 2,7 – 2,8 раза в парах **1 – 5** и **8 – 10**).

2. Электроноакцепторный заместитель –СООН снижает значение k_7 в 2,3 раза (в парах **1 – 8** и **5 – 10**). Заместитель –СН=СН–СООН в кофейной кислоте **14** является электронодонорным, поскольку k_7 для этого соединения в 1,5 раза выше, чем для **1**. Электронодонорные алкильные группы повышают k_7 в соединениях **2, 3, 4** по сравнению с пирокатехином **1**.

3. Метилирование одной ОН-группы в производных пирокатехина снижает значение k_7 на два порядка (в парах **8 – 7** и **14 – 13**). Такое сильное снижение объясняется различным влиянием внутримолекулярной водородной связи, которая активирует пирокатехин и дезактивирует *o*-метоксифенол.

4. Введение в монофенол метоксигруппы (в парах **6 – 7** и **12 – 13**) несколько увеличивает k_7 или практически не изменяет ее, поскольку сильный электронодонорный эффект метоксигруппы компенсируется образованием прочной внутримолекулярной водородной связи. Введение второй метоксигруппы в *o*-положение (в парах **7 – 9** и **13 – 15**) однозначно увеличивает k_7 .

Для флавоноидов обычно выделяют четыре структурных фактора, благоприятствующих высокой АОА (Heim K. et al. // *J. Nutr. Biochem.* 2002, V. 13, P. 572):



- 1) наличие фрагмента пирокатехина в кольце В;
- 2) наличие двойной связи в кольце С в положении 2, 3;
- 3) наличие ОН-группы в кольце С в положении 3;
- 4) наличие карбонильной группы в кольце С в положении 4.

Проанализируем полученные результаты для флавоноидов **16 – 28** с позиции возможного влияния этих факторов. Для краткости будем условно называть флавоноиды по числу ОН-групп в кольце В: В₀, В₁, В₂ и В₃.

1. Структура кольца В является основным фактором, определяющим АОА флавоноидов. Так, соединение В₀ хризин **16** не дает видимого ингибирования даже в концентрации $2 \cdot 10^{-4}$ моль/л, что соответствует значению k_7 меньше 10^3 л/(моль·с). Соединения В₁ **17, 18, 24** имеют величину k_7 порядка $10^4 – 10^5$

л/(моль·с). Соединения В₂ **19**, **22**, **23**, **26**, **27** имеют k_7 порядка $(1 - 2) \cdot 10^6$ л/(моль·с), а соединения В₃ **20**, **28** – порядка $3 \cdot 10^6$ л/(моль·с).

2. Двойная связь в кольце С действительно несколько увеличивает АОА флавоноидов. Так, флавон **18** в два раза активнее флаванона **24**, флавонолы **19** и **22** несколько активнее флавананола **26** и флаванола **27**. Для соединений В₃ такой эффект отсутствует: они характеризуются близкими k_7 , сравнимыми с пирогаллолом **5**, причем флаванол **28** даже несколько активнее флавонола **20**.

3. Наличие ОН-группы в положении 3 оказывает сильное влияние на соединения В₁. Так, флавонол **17** в пять раз превосходит по активности соответствующий флавон **18**. Некоторое влияние этого фактора проявляется и на соединения В₂: флавонолы **19** и **22** имеют несколько более высокие k_7 , чем флавон **23**.

4. Карбонильная группа в положении 4 в отдельности не способствует повышению АОА. Так, флаванол **26** заметно менее активен, чем флаванол **27**. Вместе с тем, карбонильная группа в положении 4 является неотъемлемой частью флавонолов, которые имеют более высокие значения k_7 , чем другие классы флавоноидов в ряду соединений В₁ и В₂.

В целом, производные пирокатехина и пирогаллола при окислении стирола характеризуются достаточно высокими значениями k_7 , причем некоторые синтетические производные пирокатехина (**2 – 4**), пирогаллол **5** и его природные производные (**20**, **28**) сравнимы по активности с α -токоферолом **32** – одним из наиболее активных природных антиоксидантов.

Антиоксидантная активность фенолов различных классов и прочности связей О–Н. Одним из основных факторов, определяющих активность фенолов в условиях ингибированного окисления, является прочность связи О–Н в молекуле фенола. Поэтому в работе был проведен количественный корреляционный анализ полученных значений k_7 и прочностей связей в полифенолах. Для корреляционного анализа был выбран ряд поли-, метокси- и монофенолов, изученных в настоящей работе, а также *4-трет*-бутилпирокатехин (**36**), 2-метокси-4-пропилфенол (**37**), гидрохинон (**38**), 2,5-диметилгидрохинон (**39**). Для выбранных полифенолов методом ВЗЛУР были рассчитаны значения $D_{ОН}$ (табл. 2).

Известно, что в пределах одной реакционной серии соблюдается принцип линейности свободных энергий (ЛСЭ). Как следствие, между логарифмом значения k_7 и величиной $D_{ОН}$ фенола существует линейная корреляция. На рис. 2 приведена такая зависимость для выбранных соединений. Как можно увидеть, для монофенолов и производных гидрохинона и пирокатехина наблюдается хорошая корреляция. В эту зависимость не вписываются кверцетин **19** и эпикатехин **27**. Вероятно, выбранный метод расчета $D_{ОН}$ плохо передает структурные особенности данных флавоноидов. В то же время точки, соответствующие производным пирогаллола и *o*-метоксифенолам лежат заметно ниже этой прямой. Это легко объяснимо, поскольку в производных пирогаллола и *o*-метоксифенолах атом водорода активной ОН-группы связан внутримолекулярной водородной связью. На разрыв этой связи требуются дополнительные затраты энергии, что должно приводить к повышению энергии активации реакции. В результате нарушается принцип ЛСЭ, что ведет к отсутствию корреляции с фенолами других классов (с несвязанным активным атомом водорода).

Таблица 2 – Экспериментальные значения k_7 при окислении стирола и рассчитанные прочности связей для исследованных соединений

№	k_7 , л/(моль·с)	D_{OH} , ккал/моль	№	k_7 , л/(моль·с)	D_{OH} , ккал/моль
1	$1,0 \cdot 10^6$	78,1	27	$1,6 \cdot 10^6$	78,3
5	$2,7 \cdot 10^6$	71,4	28	$3,2 \cdot 10^6$	70,0
7	$2,9 \cdot 10^3$	89,2	29	$1,7 \cdot 10^5$	81,2
8	$4,3 \cdot 10^5$	79,7	31	$2,8 \cdot 10^6$	75,8
10	$1,2 \cdot 10^6$	76,4	33	$2,7 \cdot 10^5$	80,9
12	$2,5 \cdot 10^4$	85,6	34	$7,0 \cdot 10^5$	79,0
13	$1,8 \cdot 10^4$	85,5	36	$1,8 \cdot 10^6$ ^a	76,6
14	$1,5 \cdot 10^6$	77,1	37	$3,1 \cdot 10^4$ ^b	82,1
19	$1,9 \cdot 10^6$	78,0	38	$2,8 \cdot 10^5$ ^c	81,2
20	$2,8 \cdot 10^6$	72,1	39	$6,0 \cdot 10^5$ ^c	78,9

^a Xi F. et al. // Can. J. Chem. 1998, V. 76, P. 171;

^b Barclay L.R.C. et al. // J. Wood. Chem. Tech. 1997, V. 17, P. 73;

^c Loshadkin D. et al. // Int. J. Chem. Kinet. 2002. V. 34, P. 162.

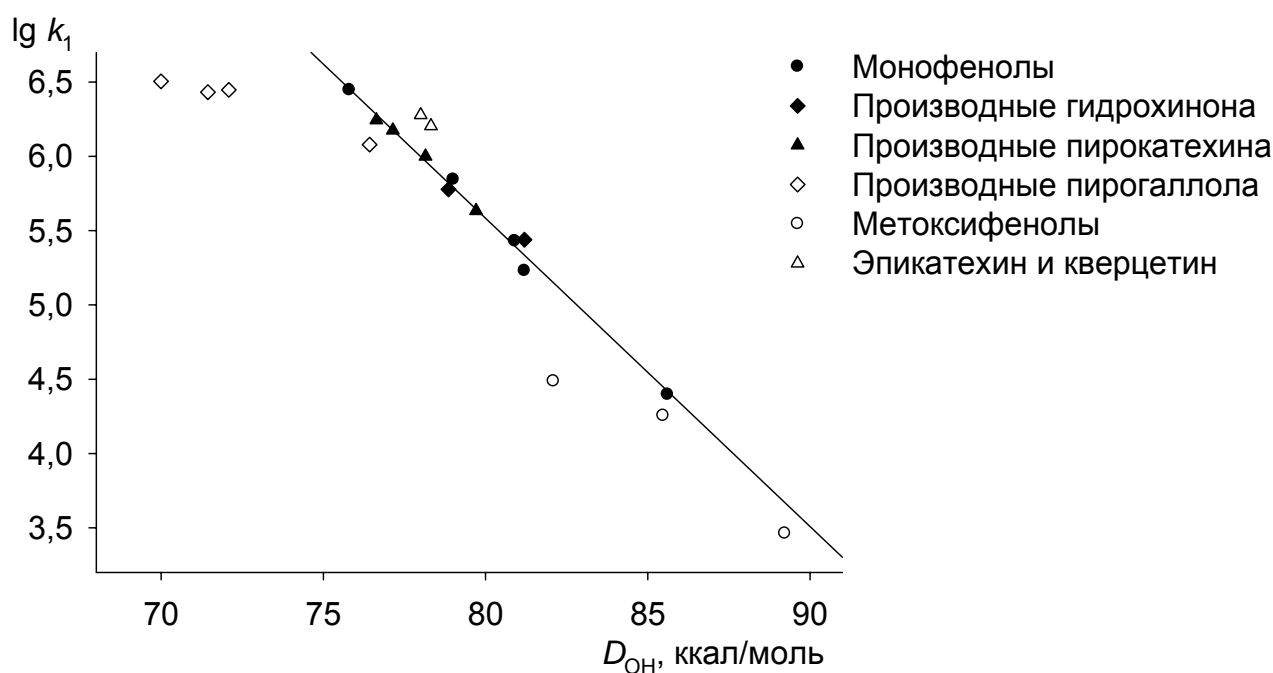


Рис. 2 – Зависимость $\lg k_7$ от D_{OH} для моно- и полифенолов ($r^2 = 0,99$).

Глава 4. Реакционная способность полифенолов при окислении метиллинолеата в растворе

Параметры антиоксидантной активности полифенолов. Изучение АОА при окислении МЛ было проведено только для основных представителей различных классов полифенолов и важнейших монофенолов. Полученные значения параметров АОА (k_7 и f) для выбранных соединений приведены в табл. 3.

Таблица 3 – Параметры АОО при окислении МЛ в растворе (310 К)

№	k_7 , л/(моль·с)	f	$k_{7(СТ)}/k_{7(МЛ)}$	№	k_7 , л/(моль·с)	f	$k_{7(СТ)}/k_{7(МЛ)}$
1	$9,9 \cdot 10^4$	$2,3 \pm 0,1$	10	20	$6,5 \cdot 10^5$	$1,5 \pm 0,1$	4,3
5	$4,2 \cdot 10^5$	$1,8 \pm 0,1$	6,4	27	$1,5 \cdot 10^5$	$1,8 \pm 0,1$	11
7	$1,9 \cdot 10^2$	–	15	28	$7,5 \cdot 10^5$	$0,9 \pm 0,1$	4,3
8	$1,7 \cdot 10^4$	–	25	29	$1,8 \cdot 10^4$	–	9,2
10	$1,2 \cdot 10^5$	$1,6 \pm 0,1$	10	32	$9,4 \cdot 10^5$	2,0	3,4
13	$4,0 \cdot 10^3$	–	4,5	33	$1,2 \cdot 10^4$	–	22
14	$1,0 \cdot 10^5$	$2,1 \pm 0,1$	15	34	$9,8 \cdot 10^4$	$1,8 \pm 0,1$	7,1
17	$9,0 \cdot 10^3$	–	14	35	$1,4 \cdot 10^4$	–	1,2
19	$1,9 \cdot 10^5$	$1,7 \pm 0,1$	10				

Значения f для большинства полифенолов при окислении МЛ близки к 2. Таким образом, независимо от числа ОН-групп в антиоксидантах, как в случае окисления стирола, так и при окислении МЛ, значение f не превышает двух.

Основные закономерности взаимосвязи значений k_7 со строением полифенолов при переходе от стирола к МЛ сохраняются. При этом полифенолы в МЛ характеризуются более низкими значениями k_7 , чем в стироле. Это снижение сильнее выражено у производных пирокатехина и слабее у производных пирогаллола и *o*-метоксифенолов. Подобное снижение наблюдается также и для монофенолов, причем для *o*-незамещенного монофенола **33** оно выражено сильнее, чем для *o*-замещенных соединений **32** и **34**. В случае пространственно-затрудненного монофенола **35** снижения k_7 практически не происходит. Эти факты свидетельствуют, что снижение k_7 при переходе от стирола к метиллинолеату вызывается образованием водородной связи между ОН-группой фенола и сложноэфирным фрагментом субстрата окисления. В этом случае определяемое в эксперименте значение k_7 представляет собой не истинную константу скорости, а является эффективной величиной, которая по уравнению (5) зависит от концентрации МЛ (рис. 3).

$$k_7 = \frac{(k_7)_0}{1 + K[\text{ЛН}]} \quad (5)$$

Данная зависимость спрямляется в обратных координатах уравнения (5). Отрезок, отсекаемый прямой на оси ординат, дает возможность определить для **1** значение $(k_7)_0 = 9,9 \cdot 10^5$ л/(моль·с), что практически совпадает со значением k_7 в стироле. Аналогичные результаты были получены еще для трех антиоксидантов. Таким образом, истинная реакционная способность пероксидных радикалов стирола и МЛ в реакции с фенолами практически одинакова, а более низкие значения k_7 в МЛ объясняются снижением активности фенолов вследствие образования водородной связи.

Меньшее снижение k_7 при переходе от стирола к МЛ для производных пирогаллола и *o*-метоксифенолов объясняется влиянием внутримолекулярных водородных связей. В производных пирогаллола и *o*-метоксифенолах атом водорода активной ОН-группы является связанным, а в производных пирокатехина и

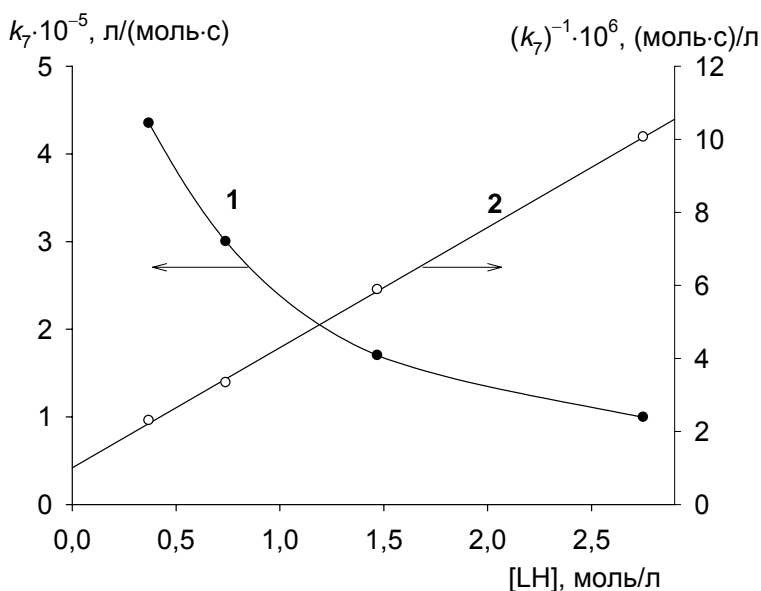


Рис. 3
 1 – Зависимость значения k_7 от концентрации МЛ при окислении растворов МЛ в ХБ в присутствии пирокатехина 1;
 2 – анаморфоза кривой 1 в обратных координатах уравнения (5) ($r^2 = 0,99$).

монофенолах – свободным. При образовании межмолекулярной водородной связи со связанным атомом водорода ее прочность будет ниже, чем в случае внутримолекулярно несвязанных атомов водорода.

Количественно снижение k_7 в МЛ определяется константой комплексообразования K , которая может быть оценена по уравнению (6). Эта величина связана с энергией Гиббса процесса комплексообразования по уравнению изотермы, которое можно представить в виде уравнения (7). Если считать энтропийный член постоянным, то между логарифмом значения K и величиной ΔH_{solv} должна существовать линейная корреляция.

$$K = \frac{1}{2,7} \left(\frac{k_{7(\text{СТ})}}{k_{7(\text{МЛ})}} - 1 \right) \quad (6) \quad \Delta H_{\text{solv}} = T\Delta S_{\text{solv}} - RT \ln K \quad (7)$$

Энергии образования комплексов со сложноэфирным фрагментом МЛ ΔH_{solv} для изученных антиоксидантов были рассчитаны методом AM1, в качестве модели МЛ использовался метилацетат. Зависимость десятичного логарифма константы комплексообразования от энергии комплексообразования с метиллинолеатом для исследованных антиоксидантов приведена на рис. 4. Как можно увидеть, между величинами ΔH_{solv} и $\lg K$ действительно наблюдается весьма удовлетворительная корреляция.

Сравнение антиоксидантной активности полифенолов при окислении метиллинолеата в растворе и мицеллах. Некоторые из исследованных в настоящей работе полифенолов ранее изучались в условиях окисления метиллинолеата в мицеллах. Сравнение этих данных с результатами настоящей работы позволяет проследить изменение АОА полифенолов при переходе от окисления в гомогенной среде к гетерогенной (табл. 4).

В то время как в растворе значения f для всех полифенолов практически не превышают двух, в мицеллах производные пирокатехина характеризуются заметно более высокими значениями f . Причиной этого является олигомеризация антиоксиданта с регенерацией активных ОН-групп. В неполярной среде, по-видимому, такого взаимодействия не происходит. Производные пирогаллола, как

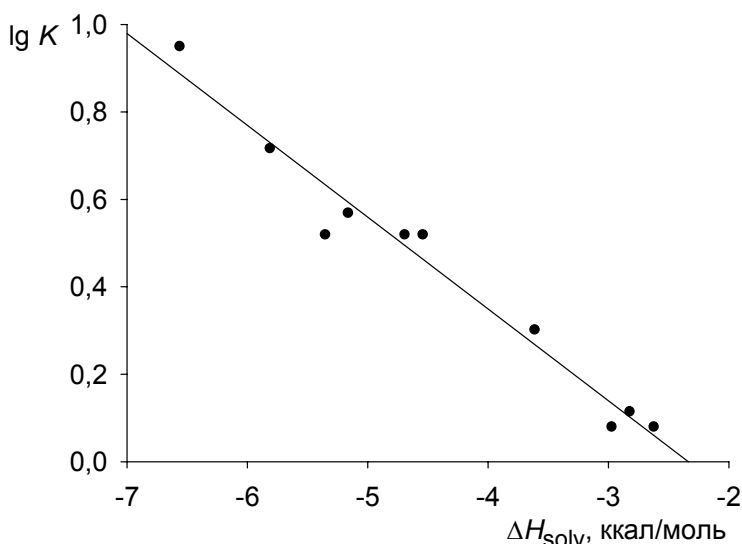


Рис. 4 – Зависимость $\lg K$ от ΔH_{solv} для исследованных антиоксидантов ($r^2 = 0,97$).

Таблица 4 – Значения k_7 и f для полифенолов при окислении метиллинолеата в растворе и мицеллах

Полифенол	В растворе		В мицеллах ^a		$\frac{k_{7p}}{k_{7m}}$	$\log P^b$
	$k_{7p} \cdot 10^{-5}$, л/(моль·с)	f	$k_{7m} \cdot 10^{-5}$, л/(моль·с)	f		
1	1,0	2,3	0,049	3,6	20,4	0,87
10	1,2	1,6	0,058	1,87	20,7	0,70
11	1,2 ^c	–	0,168	1,55	7,14 ^c	1,80
14	1,0	2,1	0,22	5,7	4,55	1,15
17	0,090	–	0,088	2,05	1,02	3,11
19	1,9	1,7	0,13	5,6	14,6	1,82
20	6,5	1,5	0,18	2,5	36,1	0,84 ^c
27	1,5	1,8	0,066	6,3	22,7	0,44
28	7,5	0,9	0,096	1,57	78,1	-0,13 ^c

^a Roginsky V. // Arch. Biochem. Biophys. 2003, V. 414, P. 261;

^b Экспериментальные значения из <http://logkow.cisti.nrc.ca/logkow/index.jsp>;

^c Значение k_{7p} принято одинаковым с галловой кислотой **10**;

^c Рассчитано с использованием алгоритма CLogP.

в растворе, так и в мицеллах имеют более низкие значения f , чем производные пирокатехина, что обусловлено автоокислением антиоксидантов.

Значения k_7 при окислении метиллинолеата в растворе на 1 – 2 порядка превышают значения в мицеллах. Такое различие вызвано влиянием различных факторов, в частности, распределением антиоксиданта между липидной и водной фазами. Сопоставим отношение k_{7p}/k_{7m} с логарифмом коэффициента распределения антиоксидантов в системе «октанол – вода» $\log P$ (табл. 4). Наименьшее значение k_{7p}/k_{7m} наблюдается для кемпферола **17**, который имеет при этом наибольшую величину $\log P$, наибольшее же значение k_{7p}/k_{7m} наблюдается для соединения с наименьшим $\log P$ – эпигаллокатехина **28**. Кроме того, в мицеллах значение k_{7m} для пропилгаллата **11** почти в три раза выше, чем для галловой кислоты **10**, что объясняется более высокой величиной $\log P$ для **11**. Вместе с тем, значения

$\log P = 0 - 1$ для большинства антиоксидантов не позволяют объяснить снижение k_7 при переходе от раствора к мицеллам в 20 – 40 раз. Однако реальные значения $\log P$ полифенолов в системе «мицеллы – вода» могут быть ниже, чем в системе «октанол – вода» вследствие большей липофильности метиллинолеата по сравнению с октанолом. Также дополнительное снижение k_7 может происходить вследствие образования водородных связей между антиоксидантом и молекулами ПАВ или воды на поверхности мицеллы.

Сравнение различных методов определения антиоксидантной активности. Параметры АОА полифенолов в настоящей работе были определены в рамках теоретически обоснованного подхода путем прямого изучения кинетики ингибированного окисления. Сравнение полученных результатов с данными косвенных методов позволяет оценить корректность применения этих методов для анализа АОА. Сравнение стехиометрии взаимодействия полифенолов с различными радикалами показало, что какая-либо корреляция между значениями f в стироле и МЛ с результатами других методов отсутствует. В то же время была установлена достаточно удовлетворительная корреляция между логарифмами значений k_7 в стироле и логарифмами констант скоростей взаимодействия полифенолов с дифенилпикрилгидразилом (DPPH) и феноксильными радикалами. Корреляция же значений k_7 с константами скорости реакции полифенолов с более активными радикалами (OH^\bullet , N_3^\bullet) отсутствует.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ И ВЫВОДЫ

1. Предложена методика определения истинной реакционной способности полифенолов по отношению к пероксидным радикалам с использованием в качестве субстрата окисления модельного углеводорода – стирола, а также ацетонитрила в качестве растворителя.

2. Определены параметры антиоксидантной активности (f и k_7) для двадцати четырех полифенолов, четырех метоксифенолов и семи монофенолов при окислении стирола и метиллинолеата в растворе.

3. Установлено, что для полифенолов, независимо от числа гидроксильных групп в молекуле, значение f не превышает двух. Большие значения f наблюдаются только для соединений, содержащих несколько полифенольных структур в молекуле, разделенных алифатическими фрагментами. Обнаружено, что значения f для некоторых полифенолов заметно меньше двух, что объясняется их автоокислением в растворе.

4. Установлено, что производные пирокатехина и пирогаллола обладают на 2 – 3 порядка более высокими значениями значения k_7 по сравнению с монофенолами. Электронодонорные заместители в молекулах полифенолов увеличивают величину k_7 , а электроноакцепторные снижают, что соответствует известным закономерностям для монофенолов.

5. Обнаружено, что *o*-метоксифенолы обладают на два порядка меньшими значениями k_7 по сравнению с соответствующими производными пирокатехина, что объясняется различным влиянием внутримолекулярной водородной связи на эти два класса соединений.

6. Показано, что основным фактором, определяющим антиоксидантную активность флавоноидов, является структура кольца В. Влияние структурных факторов в кольце С сильнее всего проявляется в соединениях с одной ОН-группой в кольце В и в меньшей степени в соединениях с двумя ОН-группами.

7. Показано, что для монофенолов и производных гидрохинона и пирокатехина существует линейная корреляция между логарифмом значения k_7 и прочностью связи О–Н. Производные пирогаллола и *o*-метоксифенолы не описываются данной зависимостью, поскольку внутримолекулярная водородная связь затрудняет отрыв атома водорода в этих соединениях.

8. Установлено, что при переходе от стирола к метиллинолеату значения k_7 снижаются в несколько раз. Снижение k_7 объясняется образованием водородной связи между молекулой фенола и сложноэфирным фрагментом метиллинолеата. Обнаружена линейная корреляция между логарифмом оцененной константы равновесия и энергией комплексообразования.

9. Показано, что для окисления метиллинолеата при переходе от раствора к мицеллам наблюдается снижение k_7 до двух порядков. Установлена зависимость величины снижения k_7 от коэффициента распределения антиоксиданта в системе «октанол – вода».

10. Обнаружено, что ряд реакционной способности полифенолов, установленный в настоящей работе, в первом приближении соответствует ряду реакционной способности полифенолов при взаимодействии с дифенилпикрилгидразилом и феноксильными радикалами. Корреляция значений f , определенных в настоящей работе, с результатами каких-либо косвенных методов отсутствует.

Основное содержание диссертации опубликовано в следующих работах:

1. Тихонов, И. В. Антиоксидантная активность орто-диоксибензолов при окислении стирола / И. В. Тихонов, В. А. Рогинский, Е. М. Плисс, А. И. Русаков // Башкирский хим. журнал. – 2006. – № 4. – С. 76–82.

2. Тихонов, И. В. Реакционная способность полифенолов различных классов в процессе ингибированного окисления стирола / И. В. Тихонов, Е. М. Плисс, А. И. Русаков // Башкирский хим. журнал. – 2009. – № 1. – С. 17–20.

3. Tikhonov, I. The chain-breaking antioxidant activity of phenolic compounds with different numbers of O-H groups as determined during the oxidation of styrene / I. Tikhonov, V. Roginsky, E. Pliss // Int. J. Chem. Kinet. – 2009. – V. 41. – P. 92–100.

4. Тихонов, И. В. Применение методов компьютерного моделирования к кинетическому анализу антиоксидантной активности двухатомных фенолов при окислении стирола / И. В. Тихонов, Д. В. Лошадкин, Е. М. Плисс // 3-й Международный симпозиум «Компьютерное обеспечение химических исследований» и 5-я Международная Интернет-конференция «Информационно-вычислительные технологии в решении фундаментальных научных проблем и прикладных задач химии, биологии, фармацевтики, медицины». (Совм. сессия): Сборник материалов. – Ярославль: ЯрГУ, 2006. – С. 20–21.

5. Тихонов, И. В. Антиоксидантная активность пирокатехинов при окислении стирола / И. В. Тихонов, Е. М. Плисс // Всероссийская конференция молодых ученых и II школа «Окисление, окислительный стресс и антиоксиданты». Доклады и тезисы. – Москва: Изд-во РУДН, 2006. – С. 146–147.

6. Тихонов, И. В. Антиоксидантная активность пирокатехина и пирогаллола при окислении стирола в растворе. / И. В. Тихонов, В. В. Кулакова // Тезисы VII Всероссийской научно-практической конференции студентов и аспирантов «Химия и химическая технология в XXI веке». – Томск: Изд-во ТПУ, 2006. – С. 143–144.

7. Тихонов, И. В. Кинетический и квантово-химический анализ антиоксидантной активности полифенолов при окислении стирола / И. В. Тихонов, Д. В. Лошадкин, Е. М. Плисс, В. А. Рогинский // Материалы XIX симпозиума "Современная химическая физика". – М.: МГУ, 2007. – С. 67.

8. Тихонов, И. В. Влияние диметилсульфоксида на антиоксидантную активность пирокатехина при окислении стирола в растворе / И. В. Тихонов, С. Л. Крот, Е. М. Плисс // Материалы III международной конференции «Современные проблемы физической химии». – Донецк, 2007. – С. 86–87.

9. Тихонов, И. В. Антиоксидантная активность полифенолов при окислении метиллинолеата / И. В. Тихонов, В. А. Рогинский, Е. М. Плисс // Всероссийская конференция молодых ученых и III школа «Окисление, окислительный стресс и антиоксиданты». Доклады и тезисы. – Москва: Изд-во РУДН, 2008. – С. 233.