

УДК 577.3

ВЛИЯНИЕ ПРИРОДЫ ЗАМЕСТИТЕЛЯ В МОЛЕКУЛЕ ИЗОБОРНИЛФЕНОЛОВ НА ИХ РЕАКЦИОННУЮ СПОСОБНОСТЬ

© 2022 г. Л. И. Мазалецкая^{a,*}, Н. И. Шелудченко^a, Л. Н. Шишкина^a, И. Ю. Чукичева^b,
Е. В. Буравлев^b, О. В. Щукина^b, А. В. Кучин^b

^aИнститут биохимической физики им. Н.М. Эмануэля, 119334, Москва, Россия

^bИнститут химии ФИЦ Коми научного центра Уральского отделения РАН, 167000, Республика Коми, Сыктывкар, Россия

*e-mail: lim@sky.chph.ras.ru

Поступила в редакцию 21.10.2021 г.

После доработки 21.10.2021 г.

Принята к публикации 28.10.2021 г.

Измерены константы скорости реакции (k_7) бис- и серосодержащих изоборнилфенолов (ИБФ) с пероксильными радикалами этилбензола. На модели автоокисления метилолеата в тонком слое изучена антиоксидантная активность ИБФ и влияние лецитина на эффективность их ингибирующего действия. Установлено, что введение атома серы в молекулу ИБФ приводит к снижению антирадикальной активности: все изученные соединения характеризуются меньшей величиной константы k_7 по сравнению с аналогичным значением для 4-метил-2,6-диизоборнилфенола. Наличие лецитина в реакционной смеси снижает эффективность ингибирования бис- и моно-ИБФ, в том числе ИБФ с серосодержащими заместителями при торможении автоокисления метилолеата в тонком слое. Исключение составляет ИБФ с SH-группой, для которого отмечается некоторое повышение антиокислительной активности. Выявленные различия во влиянии лецитина на реакционную способность ИБФ следует учитывать при оценке их биологической активности.

Ключевые слова: бисзамещенные и серосодержащие изоборнилфенолы, инициированное окисление, автоокисление, лецитин, реакционная способность

DOI: 10.31857/S0044453722050211

Окислительные процессы, представляющие собой сложный каскад реакций, являются одной из главных причин деградации полимерных материалов, продуктов питания, липидсодержащих косметических средств и активно участвуют в регуляции метаболизма в биологических объектах любой сложности в норме и при повреждающих воздействиях [1, 2]. Для стабилизации органических веществ и материалов и нормализации окислительных процессов в биологических объектах используют различные антиоксиданты (АО). Наряду с поиском АО на основе природных объектов, характеризующихся меньшей токсичностью при введении в организм [3–5], внимание исследователей направлено на изучение гибридных фенольных антиоксидантов, у которых помимо ОН-группы имеются и другие центры, способные оказывать влияние на разные стадии процесса окисления [6–9].

Одной из характеристик реакционной способности АО является его антирадикальная активность, т.е. величина константы скорости его взаимодействия с пероксильными радикалами (k_7),

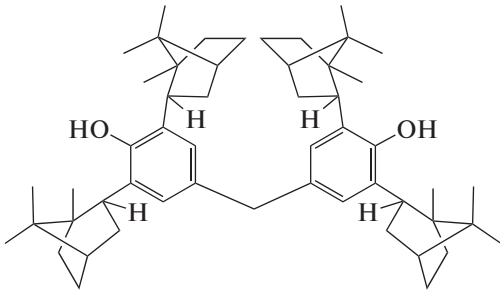
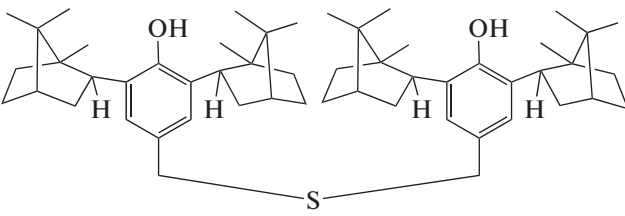
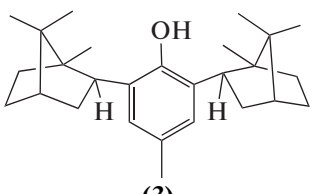
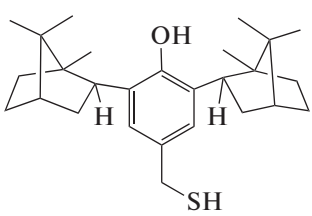
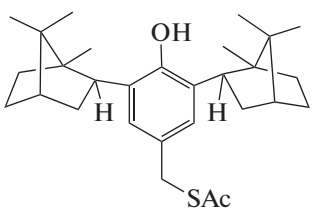
поскольку образование пероксирадикалов является одной из первых стадий в цепи окисления. Однако антирадикальная активность соединений далеко не всегда определяет их антиоксидантную и биологическую активность в сложных системах [2]. Так, в биологических системах существенные изменения эффективности ингибирующего действия АО могут протекать благодаря их взаимодействию с компонентами биологических мембран, в частности, фосфолипидами [10–13].

Целью настоящей работы являлось изучение антирадикальных и антиокислительных свойств серосодержащих моно- и бисфенолов с изоборнильными заместителями в разных модельных системах и влияние на их антиокислительную активность добавок природных фосфолипидов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследованные производные ИБФ были синтезированы на основе 2,6-диизоборнилфенола, что подробно представлено в работах [14, 15]. Соединения использовали без дополнительной очистки.

Таблица 1. Структурные формулы и кинетические параметры изученных производных ИБФ. Этилбензол, 333 К

Антиоксидант (АО)	$[AO]_0 \times 10^5$, моль/л	τ , мин	f	$W_0/W - W/W_0$	$fk_7 \times 10^{-5}$,	$k_7 \times 10^{-4}$,
					л/(моль с)	
 (1)	1.5	18	3.4	6.4	3.1	8.2
	3	33		12.6		
	6	67		23.6		
 (2)	1.5	14.5	2.9	3.2	1.37	4.5
	3	30		5.5		
	6	58.5		9.6		
 (3)	—	—	1.8 [19]	—	2.07 [19]	11.5 [19]
 (4)	1.5	9	1.5	2.2	1.3	8.7
	3	17		4.5		
	6	31		8.6		
	10	50		13.6		
 (5)	1.5	9	1.8	1.6	0.93	5.0
	3	17.5		3.2		
	6	34.5		5.9		
	10	59		9.1		

Антирадикальную активность производных ИБФ изучали в модельной реакции окисления этилбензола, инициированного динитрилом азоизомасляной кислоты. Кинетику поглощения кислорода в процессе окисления регистрировали с помощью высокочувствительной волюмометрической установки типа “Варбург” при 333 К и

скорости инициирования $W_i = 5 \times 10^{-8}$ моль/(л с). Этилбензол с растворенным инициатором предварительно термостатировали, после чего вводили добавку АО и регистрировали кинетику поглощения кислорода. Из кинетических кривых поглощения кислорода определяли начальную

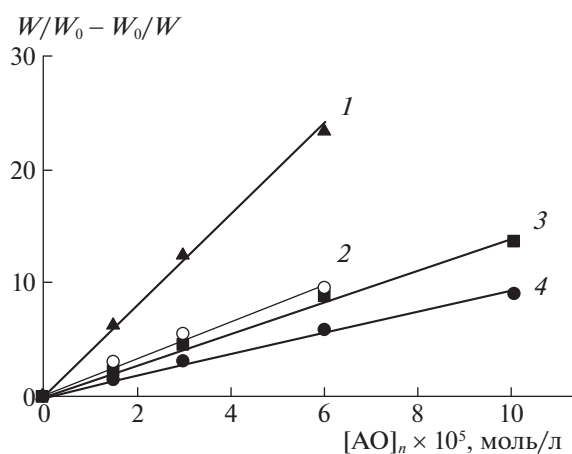


Рис. 1. Зависимости начальной скорости окисления в координатах уравнения I от $[AO]_0$: 1 – 1, 2 – 2, 3 – 4, 4 – 5. Этилбензол, $W_i = 5 \times 10^{-8}$ моль/(л с), 333 К.

скорость поглощения кислорода и величину периода индукции (τ) по методу [16].

Автоокисление метилолеата проводили в тонком слое при свободном доступе воздуха (323 К). За ходом окисления следили по накоплению гидропероксидов (ROOH), концентрацию которых определяли методом йодометрического титрования (ошибка измерения не превышает 5%). Эффективность ингибирующего действия добавок определяли по величине периода индукции (τ). За τ принимали отрезок времени от нуля до перпендикулярной проекции на ось времени точки пересечения двух линейных участков кинетической кривой накопления ROOH, соответствующих начальной скорости и максимальной скорости образования ROOH [17].

В качестве аналога природных фосфолипидов (ФЛ) использовали лецитин (предприятие БИО-ЛЕК, Харьков, Украина), представляющий собой смесь природных липидов. По данным ТСХ доля ФЛ в составе общих липидов в использованном образце лецитина составляла $47 \pm 3.0\%$, в которых преобладал фосфатидилхолин (ФХ) – $87.2 \pm 1.1\%$. Известно, что ФХ преимущественно локализуется в наружном бислое биологических мембран. В этой связи, как было показано ранее, лецитин является адекватным модельным субстратом для оценки влияния компонентов клетки на антиоксидантные свойства соединений [18].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В табл. 1 представлены структурные формулы изученных антиоксидантов, значения τ при различных начальных концентрациях АО, величины стехиометрического коэффициента ингибирования f , а также константы скорости их взаимодей-

ствия с пероксирадикалами этилбензола (k_7). Для сравнения в табл. 1 представлены данные для одного из наиболее активных ИБФ – 4-метил-2,6-диизоборнилфенола (соединение 3) [19].

В соответствии с механизмом действия фенольных АО можно было ожидать, что для молекул с одной ОН-группой $f = 2$, а с двумя – $f = 4$. Однако, для всех исследованных моно- и бисфенолов величина $f = \tau W_i/[AO]_0$ оказалась меньше ожидаемой. Это свидетельствует о существенном влиянии заместителей в молекуле ИБФ на реакционную способность ОН-группы.

Для расчета константы скорости взаимодействия АО с пероксирадикалами k_7 начальные скорости, вычисленные из кинетических кривых поглощения кислорода, представляли в координатах уравнения

$$W_0/W - W/W_0 = fk_7[AO]_0/(k_6W_i)^{0.5}, \quad (I)$$

где W_0 и W – скорости окисления в отсутствие и присутствии добавок АО соответственно, k_6 – константа скорости квадратичной рекомбинации

радикалов RO_2^{\bullet} [12]. Из тангенса угла наклона прямых (рис. 1) рассчитывали параметр ингибирования fk_7 (табл. 1), а с учетом величины f определяли константу k_7 (табл. 1).

Анализ полученных данных показывает, что все изученные производные ИБФ обладают выраженной антирадикальной активностью. По уменьшению величины константы k_7 изученные АО можно расположить в следующий ряд: $3 > 4 > 1 > 5 > 2$. Видно, что фенолы 4 и 5 и бисфенолы 1 и 2 уступают по активности фенолу 3, при этом параметр ингибирования fk_7 всех серосодержащих производных ИБФ существенно ниже соответствующих значений fk_7 моно- (3) и бис- (1) ИБФ. Так, наличие атома серы в молекуле серосодержащего ИБФ 2 снижает параметр ингибирования в 2.3 раза и величины константы k_7 в 1.8 раза по сравнению с ИБФ 1. При этом замена атома водорода в SH-группе соединения 4 на ацетатную группу (производное 5) приводит к уменьшению параметра ингибирования в 1.4 раза и величины константы k_7 в 1.7 раза. Снижение антирадикальной активности при введении атомов серы как в *o*-, так и в *n*-положение в молекулы полифенолов наблюдали в модельной реакции инициированного окисления кумола при 333 К [6].

Оценку антиоксидантной активности фенолов с изоборнильными и серосодержащими заместителями проводили в реакции автоокисления метилолеата в тонком слое, используемой в качестве модели перекисного окисления липидов в биологических системах [18]. На рис. 2 в качестве примера представлены кинетические кривые накопления гидропероксида при различных концентрациях двух серосодержащих АО – моно-

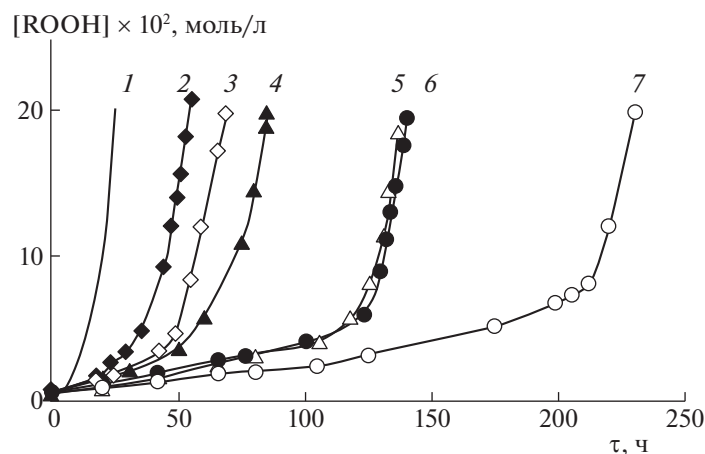


Рис. 2. Кинетические кривые накопления гидропероксида (1–7) при автоокислении метилолеата в тонком слое в отсутствие (1) и в присутствии добавок АО 4 (кривые 2, 4, 5) и АО 2 (кривые 3, 6, 7). Концентрация АО в моль/л: 2 – 1×10^{-4} (4), 4 – 2.5×10^{-4} (4), 6 – 5×10^{-4} (4), 3 – 0.86×10^{-4} (2), 5 – 2.5×10^{-4} (2), 7 – 5.2×10^{-4} (2). Температура 323 К.

(АО 2) и бисфенола (АО 4), которые характеризуются близкими значениями параметра fk_7 (табл. 1).

Как видно из представленных данных, для этих серосодержащих АО длительность ингибирования определяется главным образом числом ОН-групп в их молекуле. Так, кинетическая кривая для монофенола 4, взятого в концентрации 5×10^{-4} моль/л (рис. 2, кривая 6) практически совпадает с кинетической кривой накопления ROOH при добавлении АО 2 (рис. 2, кривая 5), взятого в концентрации вдвое меньше – 2.5×10^{-4} моль/л, но имеющего две ОН-группы в молекуле.

В интервале исследованных концентраций величина периода индукции линейно зависит от начальной концентрации АО (рис. 3). Это, по-видимому, свидетельствует о том, что все исследованные соединения в течение периода индукции

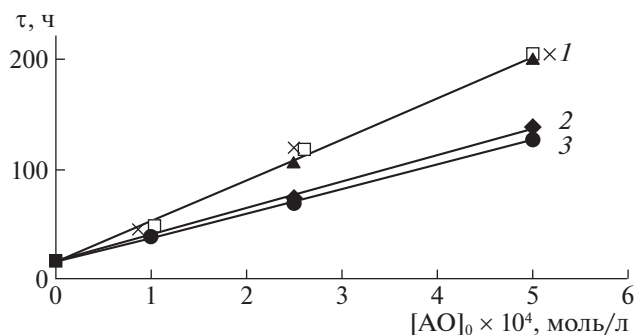


Рис. 3. Зависимости периода индукции при автоокислении метилолеата в тонком слое, ингибированном различными антиоксидантами: 1 – 1, 2, 3; 2 – 5; 3 – 4. Температура 323 К.

практически не принимают участия в побочных реакциях и преимущественно взаимодействуют с пероксильными радикалами. При этом АО 3, который характеризуется наиболее высоким значением константы k_7 по эффективности действия практически не уступает бисфенолам 1 и 2, а серосодержащие монофенолы 4 и 5 мало различаются по антиокислительной активности, при этом заметно уступают как монофенолу 3, так и бисфенолам 1 и 2.

Следует отметить, что при автоокислении метилолеата серосодержащий бисфенол, уступающий по антирадикальной активности АО 3, несколько дольше тормозит окисление (табл. 2). Это возможно обусловлено тем, что благодаря атому серы в молекуле протекает распад гидропероксида на молекулярные продукты, и за счет этого снижается скорость окисления. Увеличение эффективности ингибирования серосодержащих АО наблюдали в процессах автоокисления кумола и β -каротина по сравнению с алкилзамещенным фенолом – ионолом [6], несмотря на то, что антирадикальная активность ионола заметно выше.

К изменению эффективности ингибирования может приводить введение различных добавок, в частности, лецитина, поскольку ранее была экспериментально показана его способность к комплексообразованию с ИБФ и влиянию на их антиоксидантные свойства [12, 13].

Для количественной оценки влияния лецитина на эффективность ингибирования использовали отношение величин периода индукции в присутствии добавок ($\tau_{см}$ или $\tau_{АО}$) к периоду индукции метилолеата ($\tau_{МО} = 25$ ч). При этом следует отметить, что в то время как начальные скорости окисления в периоде индукции практически не

Таблица 2. Значения периода индукции в отсутствие ($\tau_{\text{АО}}$) и в присутствии 5 мг/мл лецитина ($\tau_{\text{см}}$) при автоокислении метилолеата, ингибированного изоборнилфенолами. Температура 323 К, $[\text{АО}]_0 = 5 \times 10^{-4}$, моль/л

АО	$\tau_{\text{АО}}$, ч	$\tau_{\text{см}}$, ч	$\tau_{\text{АО}}/\tau_{\text{МО}}$	$\tau_{\text{см}}/\tau_{\text{МО}}$
1	199	175	8.0	7.0
2	200	175	8.0	7.0
3	190	144.5	7.6	5.8
4	73	81	2.9	3.4
5	100	93	4.0	3.7

различались, время торможения процесса окисления для АО 1, 2, 3, 5 снижалось на 7–24%. В отличие от других АО для смеси лецитина с АО 4 наблюдалось увеличение эффективности на 10%.

Различия во влиянии добавок лецитина на антиокислительное действие фенольных АО ранее наблюдали для природных АО – α -токоферола и флавоноидов – кверцетина и дигидрокверцетина. При этом, в случае α -токоферола добавки лецитина могли приводить к увеличению эффективности АО, в то время как для смесей флавоноидов с лецитином наблюдали значительное снижение периода индукции [17]. Наблюдаемые изменения эффективности АО, по-видимому, связаны с их взаимодействием с фосфолипидами, которое подтверждается изменением в спектрах поглощения смесей по сравнению с их отдельными компонентами [11]. Кроме того, ИБФ оказывают влияние на спонтанную агрегацию лецитина в различных средах, что также приводит к существенному изменению их ингибирующей эффективности [20].

Таким образом, изученные АО, содержащие изоборнилные и серосодержащие заместители, являются весьма эффективными антиоксидантами. Дополнительное введение в молекулу ИБФ серосодержащих заместителей несколько снижает их антирадикальную активность. Показано, что на антиоксидантные свойства гибридных ИБФ оказывает существенное влияние интенсивность процесса окисления. Так, при ингибировании процесса автоокисления действие АО практически не изменяется при введении сульфидной серы в случае бисфенолов, тогда как для монофенолов включение серосодержащего заместителя заметно снижает эффективность ингибирования. К

заметному изменению антиокислительной активности приводит введение в реакционную смесь лецитина, содержащего в своем составе основные компоненты биологических мембран.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Chemical and Biological Kinetics. New Horizons. V. 1: Chemical Kinetics: Leiden-Boston, VSP, 2005. 528 p.
2. Chemical and Biological Kinetics. New Horizons. V. 2: Biological Kinetics. Leiden-Boston: VSP, 2005. 562 p.
3. Чукичева И.Ю., Кучин А.В. // Рос. хим. журн. 2004. Т. 48. № 3. С. 21.
4. Gupta V.K., Sharma A.K. // Natural Product Radiance. 2006. V. 5. № 4. P. 326.
5. Maisuthisakul P., Pasuk S., Ritthiruangdej P. // J. Food Composition Analysis. 2008. V. 21. P. 229.
6. Кашкай А.М., Касакина О.Т., Шмырева Ж.В. // Нефтехимия. 2002. Т. 42. № 5. С. 376.
7. Burlakova E.B., Molochkina E.M., Nikiforov G.A. // Oxid Commun. 2008. V. 31. P. 739.
8. Гайнанова Г.А., Юрина А.В., Лукашенко С.С. и др. // Изв. АН Сер. хим. 2010. Т. 59. С. 1306.
9. Чукичева И.Ю., Сукрушева О.В., Шумова О.А. и др. // Журн. орган. химии. 2016. Т. 86. № 9. С. 1487.
10. Xui K., Liu B., Ma Yu et al. // Molecules. 2009. V. 14. P. 3486.
11. Mazaletskaia L.I., Sheludchenko N.I., Shishkina L.N. // Chemistry and Chem. Technology. 2012. V. 6. № 1. P. 35.
12. Мазалецкая Л.И., Шелудченко Н.И., Шишкина Л.Н. и др. // Журн. физ. химии. 2013. Т. 87. № 4. С. 584.
13. Маракulina К.М., Крамор Р.В., Луканина Ю.К. и др. // Там же. 2016. Т. 90. № 2. С. 182.
14. Buravlev E.V., Chukicheva I.Yu., Borisenkov M.F. et al. // Synth. Commun. 2012. V. 42. № 24. P. 3670.
15. Чукичева И.Ю., Шумова О.А., Шевченко О.Г. и др. // Изв. АН. Сер. хим. 2016. № 3. С. 721.
16. Цепалов В.Ф., Харитонов А.А., Гладышев Г.П. и др. // Кинетика и катализ. 1977. Т. 18. № 5. С. 1261.
17. Мазалецкая Л.И., Шелудченко Н.И., Шишкина Л.Н. // Прикл. биохимия и микробиология. 2010. Т. 46. № 2. С. 148.
18. Шишкина Л.Н., Козлов М.В., Мазалецкая Л.И. и др. // Хим. физика. 2020. Т. 39. № 6. С. 52.
19. Мазалецкая Л.И., Шелудченко Н.И., Шишкина Л.Н. и др. // Нефтехимия. 2011. Т. 51. № 5. С. 354.
20. Shishkina L.N., Mazaletskaia L.I., Marakulina K.M., et al. // Chemistry and Technology of Plant Substances. Chemical and Biochemical Aspects. Toronto: AAP-CRC Press. 2017. P. 93.