

Российская академия наук
Федеральный исследовательский центр химической физики
им. Н.Н. Семенова РАН
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН
Институт проблем химической физики РАН
Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова

ОКИСЛЕНИЕ, ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС, АНТИОКСИДАНТЫ

**Международная конференция
молодых ученых
и VIII школа им. академика Н.М. Эмануэля**

Москва , 28-30 октября 2019 г.

ЛЕКЦИИ И ТЕЗИСЫ

*Посвящается выдающимся ученым
Е.Т.Денисову, Е.Б.Бурлаковой, И.И.Пелевиной*

**Москва
Российский университет дружбы народов
2019**

УДК 542.9:577(063)
ББК 24+22.3
О-49

О Р Г К О М И Т Е Т:

Председатель - академик А.А. Берлин (ФИЦ ХФ РАН)

Сопредседатели:

академик С.М. Алдошин (ИПХФ РАН)

член-кор. РАН С.Д. Варфоломеев (ИБХФ РАН)

Зам председателя:

Д.х.н. проф. Касаикина О. Т. (ФИЦ ХФ РАН)

Д.х.н. проф. Мельников М.Я. (Химический ф-т, МГУ)

Секретариат: к.х.н. Ионова И.С. (ФИЦ ХФ РАН),

Зинатуллина К.М. (ФИЦ ХФ РАН)

Члены Оргкомитета

Алдошин С.М., Берлин А.А., Бурбо Е.М., Варламов В.Т.,
Варфоломеев С.Д., Герчиков А.Я., Иванов В.Б., Касаикина О.Т., Кузьмин
В.А., Курочкин И.Н., Ларичев М.Н., Мельников М.Я., Надточенко В.А.,
Некипелова Т.Д., Пальмина Н.П., Просенко А.Е., Стрекова Л.Н.,
Шишкина Л.Н., Эмануэль О.Н.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

А.А. Берлин, О.Т. Касаикина, И.С. Ионова

О-49 Окисление, окислительный стресс, антиоксиданты:

Международная конференция молодых ученых и VIII школа
им. академика Н.М. Эмануэля: Лекции и тезисы. Москва.

28-30 октября 2019 г. – Москва : РУДН, 2019. – 300 с. : ил.

ISBN 978-5-209-09691-7

В сборнике представлены доклады, тезисы постеров и выступлений ученых о радикальных процессах в химии, биологии и медицине, представленных на VIII школе «Окисление, окислительный стресс и антиоксиданты» и Международной конференции молодых ученых. В 2019 г. VIII школа проводится в Москве совместно с XIX Ежегодной Международной молодежной конференцией ИБХФ РАН – ВУЗы.

В лекциях и тезисах отражены вопросы окисления и стабилизации широкого круга органических соединений, химического строения и механизмов действия антиоксидантов разных классов, генерирования и утилизации радикалов в биосистемах и применения антиоксидантов в технике и медицине.

Сборник рассчитан на научных работников, аспирантов, студентов старших курсов соответствующих специальностей.

ISBN 978-5-209-09691-7

© Коллектив авторов, 2019

©Российский университет дружбы народов, 2019



19.06.1930 – 13.10.2017

Евгений Тимофеевич Денисов. Заслуженный деятель науки Российской Федерации (Указ Президента РФ от 26.06.2001 № 769 «О награждении государственными наградами Российской Федерации»). За особые достижения в области химической и биохимической физики награжден медалью "100 лет академику Н.М. Эмануэлю" (2015 г.). За заслуги в научной деятельности, развитии образования, подготовке квалифицированных специалистов и многолетнюю добросовестную работу награжден медалью Ордена «За заслуги перед Отечеством» II степени (2017 г.). Доктор химических наук, профессор, Почетный доктор Башкирского Государственного Университета (2009), академик Академии Творчества (с 1992 года), академик Международной Академии наук (с 1994 года), член и председатель комиссий ИЮПАК (1979 – 1991 гг.), работал членом экспертного совета ВАК СССР, председатель Диссертационного совета Д 002.082.02 в ИПХФ РАН (1978–2014 гг.). Евгений Тимофеевич прожил счастливую жизнь. Действительно: Е.Т. Денисов создал Лабораторию, Кафедру, у него Ученики, Дом, Дети, Внуки и Правнуки. Он успешно занимался любимым Делом – Наукой и написал об этом много Статей и Книг.



12.10.1934 – 25.09.2016

Елена Борисовна Бурлакова – выдающийся ученый и общественный деятель. Доктор биологических наук, профессор, лауреат Государственной премии СССР, премии Правительства Российской Федерации в области науки и техники. Избиралась депутатом, была членом комиссии по экологии при Верховном Совете СССР. В 1987 году возглавила Научный совет РАН по радиобиологии, 20 лет была главным редактором журнала «Радиационная биология. Радиоэкология». Входила в состав Российской научной комиссии по радиационной защите (РНКРЗ), являлась членом Общественного совета при Госкорпорации «Росатом» и Высшего экологического совета при Государственной Думе РФ.

Родилась Елена Борисовна в Москве 12 октября 1934 г. В 1951 году окончила школу с золотой медалью и поступила на химический факультет МГУ. Затем, получив красный диплом, поступила в аспирантуру и в 1962 г. защитила диссертацию по пионерской теме «Кинетика и химизм окислительных процессов в липидах под действием излучения и механизм действия некоторых защитных веществ». В 1960г. Елена Борисовна пришла в ИХФ АН СССР, в котором проработала вплоть до 1996 г., пройдя путь от м.н.с. до доктора наук, профессора, заведующей Отделом химических и биологических процессов (1984—1996), который преобразовала в Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля (ИБХФ РАН)

С 80-х годов она занялась изучением биологических эффектов сверхмалых доз (СМД) химических и физических воздействий. После аварии в Чернобыле, она инициировала фундаментальные исследования действия СМД радиации на человека и природные объекты, сформулировала основные закономерности формирования эффектов СМД, и установила общность таких эффектов для химических и физических агентов.



14.08.1931 -23.01.2019

Ирина Ивановна Пелевина, замечательный ученый и очаровательная женщина. Благодаря неоценимому вкладу в развитие и формирование современной радиобиологии И.И.Пелевна известна не только среди Российской научной общественности, но и в ближнем и дальнем зарубежье. Ее имя по праву входит в десятку наиболее известных Российских радиобиологов.

Родилась Ирина Ивановна 14 августа 1931 г. в Москве. После окончания школы с золотой медалью в 1949 г. поступила на биолого-почвенный факультет МГУ имени М.В. Ломоносова. Ирина Ивановна – ровесница ИХФ РАН, куда она пришла в 1958г. в отдел, академика Н.М. Эмануэля, что во многом определило ее дальнейший путь в большой науке. В ИХФ РАН она проработала всю жизнь, став доктором биологических наук, профессором, лауреатом Премии Правительства Российской Федерации, лауреатом конкурсов "Грант Москвы" в области науки и технологий, участником ликвидации аварии на ЧАЭС. Она автор 4 монографий и более 270 научных работ.

После аварии на ЧАЭС Ирина Ивановна лично участвовала в исследованиях последствий аварии, проводимых в 10-километровой зоне Чернобыля, в "Рыжем лесу". Широко известны ее работы по изучению влияния хронического облучения на адаптивные способности детей и взрослых, проживающих на загрязненных территориях Брянской области, Южного Урала.

Ирина Ивановна много лет работала в редакции журнала "Радиационная биология. Радиоэкология", была зам. председателя Научного совета по радиобиологии РАН.

ЛЕКЦИИ

НОВЫЕ ДАННЫЕ О КИНЕТИКЕ И МЕХАНИЗМЕ ЦЕПНЫХ РЕАКЦИЙ ТИОЛОВ С ХИНОИДНЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ

Варламов В.Т.

*Российская академия наук, Институт проблем химической физики,
Черноголовка Московской обл., просп. Акад. Семенова, 1*

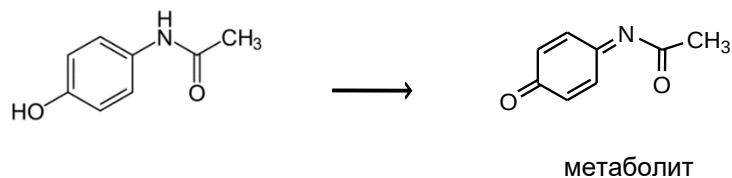
E-mail: varlamov@icp.ac.ru

Представлены результаты изучения реакций хиноидных соединений с тиолами. Основное внимание уделено кинетическим данным, полученным в последние годы для реакций тиолов с хинониминами – азотными аналогами хинонов.

Реакции между тиолами и хиноидными соединениями (хинонами и хинониминами) играют важную роль в химии и биохимии. В частности, эти реакции представляют большой интерес для понимания закономерностей аэробного старения резинотехнических изделий. Это объясняется тем, что в качестве антиоксидантов и антиозонантов резин широко используются производные 1,4-фенилендиамина, в частности N,N'-дифенил-1,4-фенилендиамин и N-фенил, N'-изопропил-1,4-фенилендиамин. В процессе деградации резин эти вещества с высоким выходом превращаются в соответствующие хинондиимины, которые накапливаются в резинах. С другой стороны, в большинстве резин (особенно технических) присутствуют тиолы (вследствие серной вулканизации каучуков, добавления 2-меркаптобензтиазола и некоторых его производных для регулирования скорости вулканизации). Это и приводит к тому, что по ходу старения резин, стабилизированных аминными антиоксидантами, создаются все условия для протекания реакций тиолов с хинониминами. [1-4].

Реакция тиолов с хиноидными соединениями является одной из главных причин высокой токсичности хиноидных соединений, поступающих в организм из окружающей среды, а также в виде лекарственных препаратов и/или их метаболитов [5–8]. Токсичность хиноидных соединений в значительной степени связана с тем, что они необратимо связывают S–H–

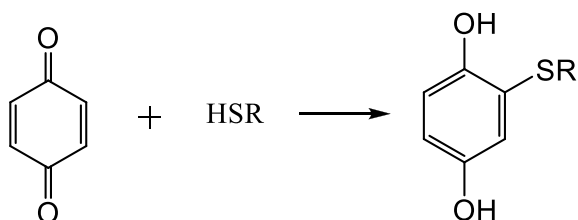
группы содержащихся в биообъектах серосодержащих соединений, например, цистеиновые фрагменты белковых молекул. При этом образуются соединения с ковалентной связью C-S, из которых биологически активные исходные тиолы (глутатион, цистеин и др.) регенерироваться уже не могут.



Обезболивающее и жаропонижающее редство парацетамол и его метаболит

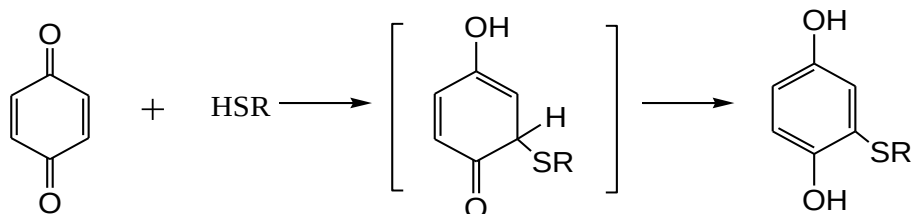
Впервые подробное исследование продуктов реакций тиолов с хиноидными соединениями было проведено в работах [9-11], в которых изучен состав и строение продуктов реакций между рядом хинонов и тиолов. В качестве растворителя использовались водно-спиртовые смеси. Авторы пришли к заключению о том, что взаимодействие хиноидных соединений с тиолами протекает по двум направлениям:

1. Окислительно-восстановительное превращение хинона в гидрохинон, а тиола – в дисульфид;
2. Присоединение тиола к циклогексадиеновому кольцу хинона.

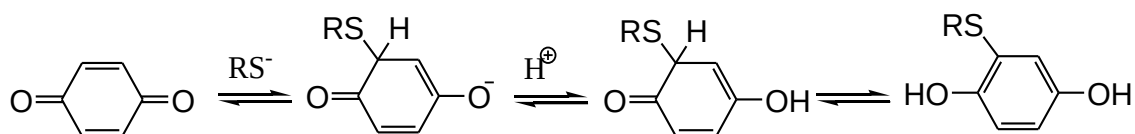


По данным авторов, преимущественным является второе направление.

Дальнейшее изучение реакций хиноидных соединений с тиолами привело к заключению, что такие реакции протекают по механизму нуклеофильного присоединения тиола к хинону. Так, в [12] приводится следующая схема реакции:

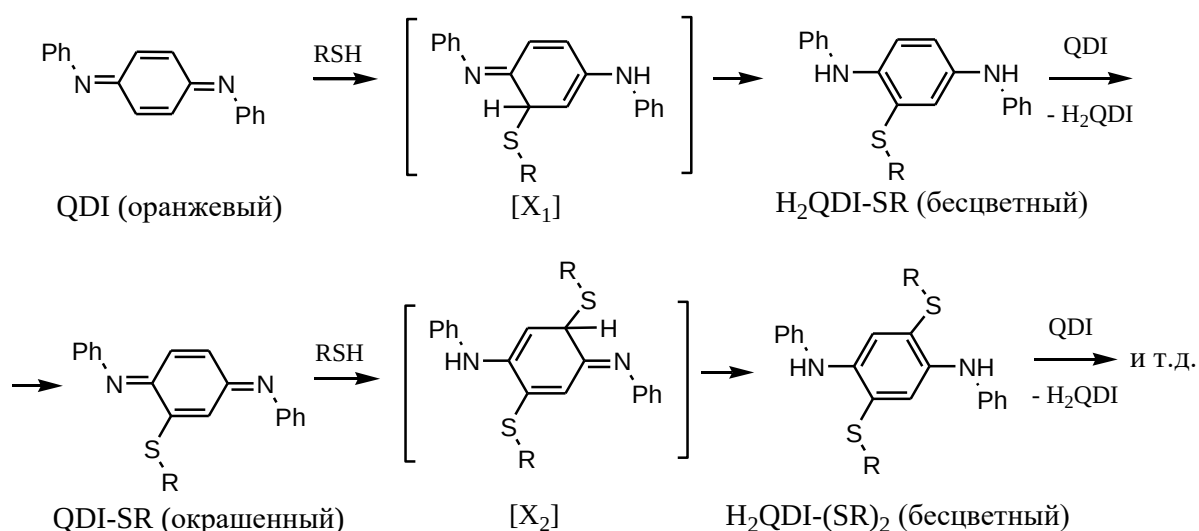


Более подробно нуклеофильная реакция хинонов с тиолами записана в [13]:



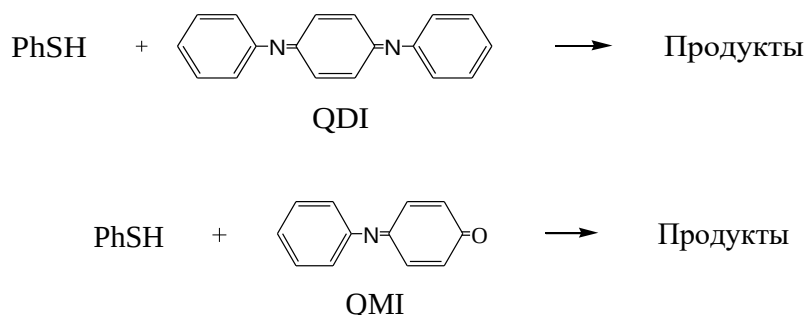
Относительно механизма реакций тиолов с хинонимидами следует отметить, что на основании изучения состава продуктов было сделано заключение о том, что такие реакции протекают так же, как реакции тиолов с хинонами. Так, в работе [14] изучена реакция N-фенил-1,4-бензохинонмоноимина QMI с алкан- и аргентиолами RSH. Авторы сделали вывод о том, что первоначальное присоединение алкан- и аргентиолов к N-фенил-1,4-бензохинонмоноимину протекает по двум сопряженным системам – как по $\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$, так и по $\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{N}$, при этом селективность нуклеофильной атаки существенно зависит от природы растворителя и способа активации реагентов.

Из литературных данных следовал вывод о том, что в анаэробных условиях реакция хиноидных соединений с тиолами протекает путем последовательного присоединения тиольных остатков к циклогексадиеновому кольцу хиноидного соединения. Например, для реакции тиола RSH с N,N'-дифенил-1,4-бензохинондиимидом QDI (один из хинонимидов, исследовавшихся в наших работах) можно записать следующую схему [15]:



Как видим, еще относительно недавно реакции хиноидных соединений с тиолами рассматривались исключительно с точки зрения гетеролитического механизма их протекания, как нуклеофильное присоединение молекулы тиола (или образующегося из нее аниона) к хиноидному соединению [12-14, 16-22]. Следует отметить, что такие представления не были подтверждены систематическими кинетическими исследованиями.

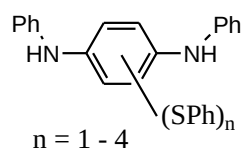
Кинетика реакций тиолов с хиноидными соединениями стала изучаться относительно недавно на примере реакций *N,N'*-дифенил-1,4-бензохинондиимина (QDI) ($\text{C}_6\text{H}_5\text{-N}=\text{C}_6\text{H}_4=\text{N-C}_6\text{H}_5$) и *N*-фенил-1,4-бензохинонмоноимина (QMI) ($\text{C}_6\text{H}_5\text{-N}=\text{C}_6\text{H}_4=\text{O}$) с 2-меркаптобензотиазолом [23], а также с тиофенолом PhSH и *n*-децилтиолом $\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{SH}$ [24]. Наиболее подробно изучена кинетика реакций QDI и QMI с PhSH в хлорбензоле и в полярном протонодонорном растворителе *n*-пропанол. Схематически эти реакции можно записать следующим образом:



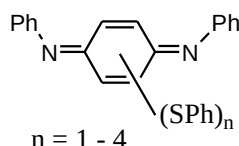
В случае QDI продуктами реакции являются тиозамещенные по центральному кольцу *N,N'*-дифенил-1,4-фенилендиамины (I), тиозамещенные хинондиимины (II), а также *N,N'*-дифенил-1,4-фенилендиамин H_2QDI и дифенилдисульфид PhSSPh. Структуры этих продуктов представлены ниже. Аналогичные продукты установлены для реакции с участием QMI. Большинство экспериментов проводилось в условиях $[\text{PhSH}]_0 \gg [\text{QDI}]_0$, когда можно было считать, что на начальных стадиях реакция QDI с PhSH не продвигалась дальше стадии образования монотиозамещенного *N,N'*-дифенил-1,4-фенилендиамина I, $n = 1$.

Кинетические закономерности реакций изучали методом кинетической спектрофотометрии, часто в режиме мониторинга на длине волны 450 нм (максимум полос поглощения QDI и QMI). Изучение проводилось с использованием начальных скоростей расходования хинониминиров w_{QI} , $T = 343 \text{ K}$, барботаж Ar. Кинетика реакции QDI с PhSH в

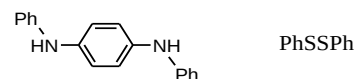
хлорбензоле при 343 К исследовалась в работе [25]. Были определены порядки реакции по компонентам: по хинондиимину $n_{\text{QDI}} = 1.5$, по тиофенолу $n_{\text{PhSH}} = 1.0$. Было показано, что инициаторы (азо-бис-изобутиронитрил и тетрафенилгидразин) ускоряют реакцию, что указывало на ее цепной механизм. Было установлено, что в зависимости от условий эксперимента длина цепи меняется от одного десятка до нескольких десятков звеньев.



(I)



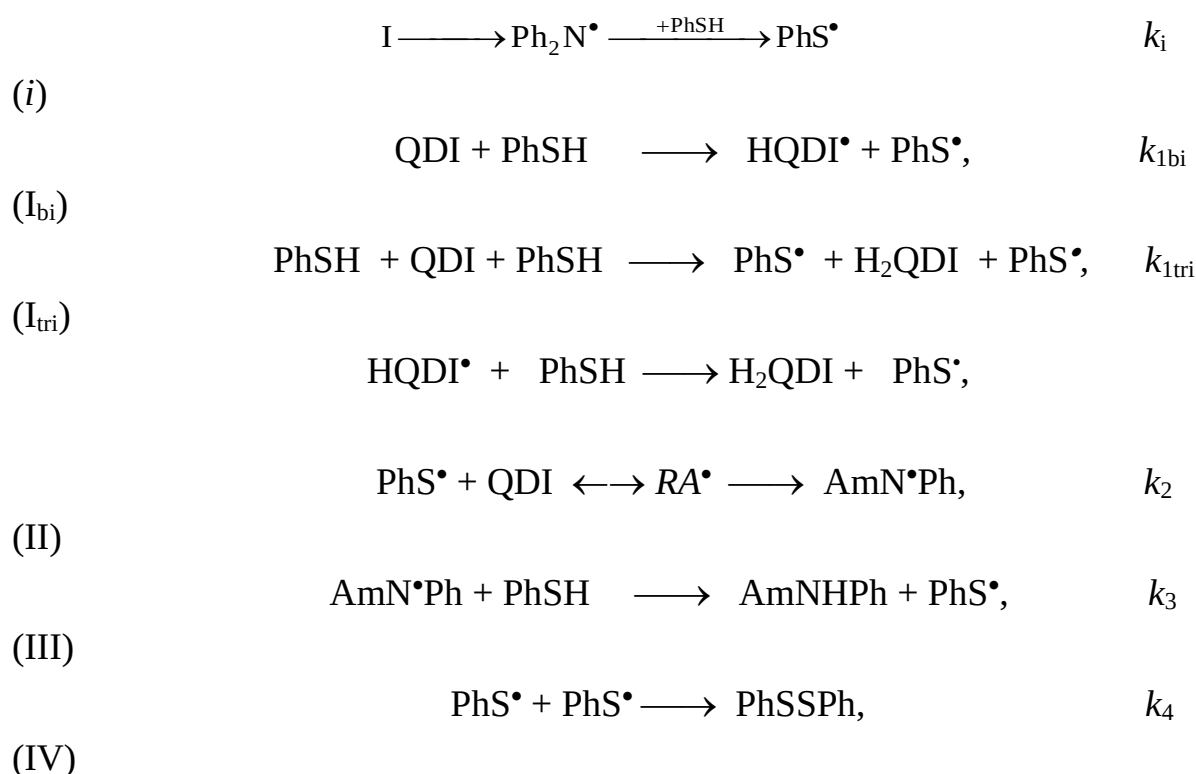
(II)



H₂QDI

На основании полученных кинетических данных был предложен цепной механизм (кинетическая схема) реакции, согласующийся с экспериментальными данными:

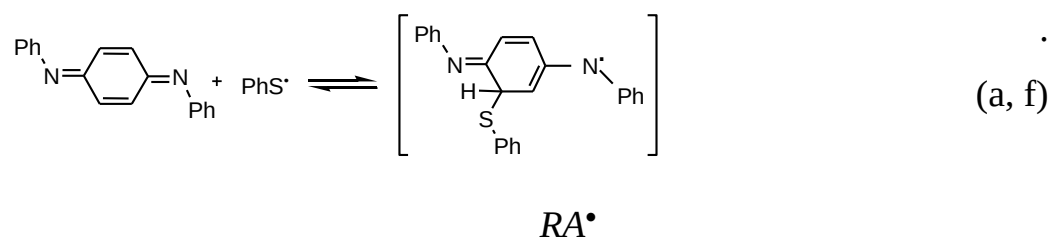
Схема 1



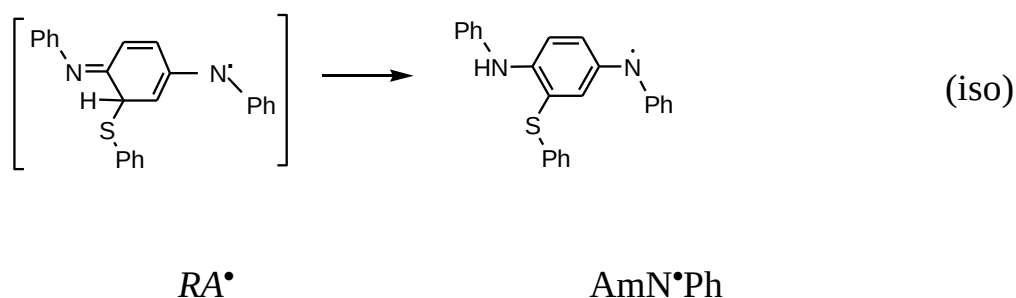
Согласно этому механизму, инициирование цепей идет одновременно по реакциям второго и третьего порядка между хинондиимином и тиофенолом, определены константы скорости этих стадий при 343 К:

$k_{bi} = 0.014 \pm 0.002$ л моль⁻¹ с⁻¹; $k_{tri} = 22.8 \pm 1.8$ л² моль⁻² с⁻¹. Лимитирующей стадией продолжения цепи является реакция (II) взаимодействия тиильного радикала с QDI, получена оценка константы скорости этой стадии: $k_2 \sim 1.3 \times 10^6$ л моль⁻¹ с⁻¹ при 343 К.

Реакция (II), по предположению, является сложной. Она включает в себя обратимую стадию ассоциации PhS• с циклогексадиеновым фрагментом QDI с образованием радикального аддукта RA•



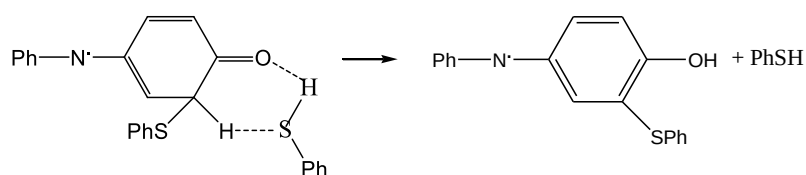
который может не только дефрагментироваться на исходные реагенты PhS• и QDI (реакция (f)), но также изомеризоваться в диариламинильный радикал AmN•Ph:



являющийся вторым сортом радикалов, ведущих цепь на стадии (III).

Механизм изомеризации радикальных аддуктов $RA^\bullet$ в соответствующие феноксильные и ароматические аминильные радикалы $AmN^\bullet Ph$ рассматривался методами квантовой химии [26]. Было показано, что изомеризация не может протекать по записанному выше внутримолекулярному механизму (iso), так как такой путь требует высокой энергии активации ~ 200 кДж моль⁻¹, что сравнимо или даже превышает по своей величине прочность С – Н-связи, разрываемой в кольце в месте присоединения радикала PhS. Предложен альтернативный бимолекулярный механизм реакции с участием молекулы исходного тиола, который встраивается в переходное состояние, расширяя его до шестичленного, выгодного для протекания реакции. По завершении реакции тиол регенерируется, выполняя, таким образом, одновременно роль катализатора

суммарной реакции. Это показано ниже на примере изомеризации радикального аддукта, образующегося в реакции хинонмоноимина QMI с PhSH:



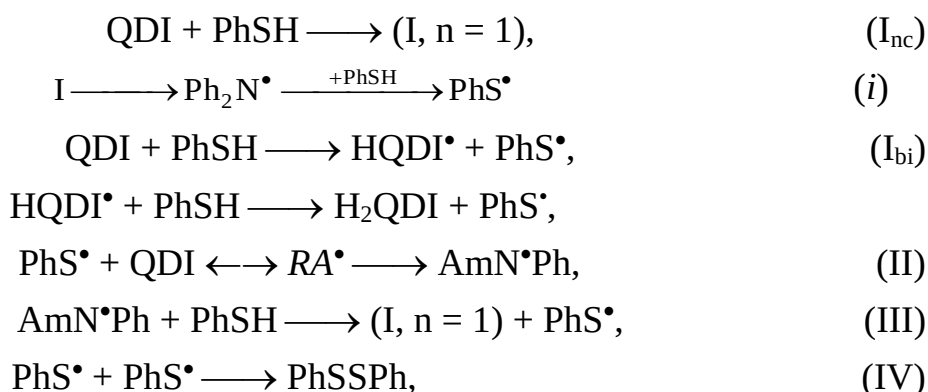
Необходимо заметить, что обратимая реакция между тиильными радикалами и ненасыщенными углерод-углеродными связями давно известна в литературе [27, 28]. В предложенном механизме цепной реакции QDI с PhSH такая реакция была введена нами в качестве предварительной стадии реакции (II) продолжения цепи.

В работе [29] изучена кинетика близкой реакции хинонмоноимина QMI с PhSH в хлорбензоле (343 К). Было найдено, что реакция протекает по механизму, предложенному для аналогичной реакции QDI с PhSH, и имеет два направления: цепное и нецепное. Инициирование по тримолекулярной реакции (I_{tri}) установить не удалось. Существенным отличием кинетики этих двух реакций является кажущийся обратимый характер реакции QMI с PhSH, проявляющийся при концентрациях PhSH, сравнимых или не слишком сильно превышающих концентрацию QMI. Вследствие этого для упрощения кинетических закономерностей и повышения надежности результатов изучение реакции проводилось в условиях, когда выполнялось неравенство $[PhSH] \gg [QDI]$. Найденные в таких условиях константы скорости элементарных стадий реакции QMI с PhSH оказались в 3 – 5 раз меньше, чем для аналогичной реакции с участием QDI. Обе цепные реакции имеют относительно короткие цепи, длина которых не превышает несколько десятков звеньев.

Кинетика реакции QDI с PhSH в *n*-пропаноле (343 К, Ar) была изучена в [30]. Сопоставление полученных результатов с данными, найденными для этой реакции в хлорбензоле, позволило установить некоторые отличия в кинетике. В частности, замена растворителя с хлорбензола на *n*-пропиловый спирт приводит при прочих равных условиях к значительному увеличению скорости реакции. Изменяются порядки реакции по реагентам: если по тиофенолу $n = 1.0$ в обоих растворителях, то замена хлорбензола на *n*-пропанол вызывает уменьшение порядка по QDI от $n = 1.5$ до $n = 1.2$. В хлорбензоле реакцию QDI с PhSH можно считать радикально-цепной, но в *n*-

пропаноле реакция протекает по двум параллельным каналам, из которых один является цепным, а второй таковым не является, а протекает (согласно литературным данным) по гетеролитическому механизму. В целом, кинетика реакции в *n*-пропаноле с согласуются с механизмом, предложенным для реакции QDI с PhSH в хлорбензоле, дополненным стадией (I_{nc}) нецепного взаимодействия реагентов:

Схема 2



Скорости реакции по каждому направлению зависят от концентраций реагентов и присутствия инициатора; при равных концентрациях реагентов $\sim 10^{-4}$ моль л⁻¹ скорости по обоим направлениям соизмеримы друг с другом. Цепная реакция характеризуется короткими цепями, длина которых составляет несколько звеньев. В отсутствие инициатора генерирование цепей идет по бимолекулярной реакции прямого взаимодействия реагентов, причем константа скорости этой реакции в *n*-пропаноле на порядок выше, чем в хлорбензоле.

В работе [31] изучено влияние состава растворителя хлорбензол - *n*-пропанол на реакцию QDI с PhSH. Показано, что кинетические закономерности реакции по каждому из направлений реакции существенно зависят от содержания пропанола-1. При увеличении содержания пропанола-1 происходит увеличение скорости обоих направлений, но при этом скорость нецепного направления увеличивается в большей степени, чем скорость цепного направления. Увеличение содержания пропанола-1 приводит к одновременному росту в 20 - 30 раз констант скорости как стадии генерирования радикалов по реакции между реагентами, так и константы скорости нецепной бимолекулярной реакции, длина цепи цепной реакции при этом уменьшается. При замене хлорбензола на пропанол-1 наблюдается уменьшение в 2 раза константы скорости лимитирующей стадии продолжения цепи (реакции хинондиимина с фенилтиильным радикалом),

что связано с образованием Н-комплексов между π -системой хинондиимина и протоном пропанола-1.

Это было показано при изучении роли комплексообразования между реагентами и роли сольватации реагентов растворителями в цепных реакциях хинониминов с тиолами [32]. В этой работе с использованием квантово-химических методов (DFT-расчет PBE/сс-pVDZ) и с помощью аддитивно-мультипликативной модели были рассчитаны термодинамические характеристики комплексообразования хинониминов с тиофенолом в CCl_4 , хлорбензоле и этаноле, а также хинониминов и тиофенола с указанными растворителями. Оба использованных подхода свидетельствовали о том, что образование молекулярных комплексов в системах «хинонимин-тиофенол» сопровождается уменьшением энтальпии на 10 – 30 кДж моль⁻¹, что оказывает не очень большое влияние на механизм реакции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Пиотровский К.Б., Тарасова З.Н.* Старение и стабилизация синтетических каучуков и вулканизаторов. М.: Химия, 1980. 264 с.
2. *Догодкин Б. А., Донцов А. А., Шеринев В. А.* Химия эластомеров. 2-е изд. М., Химия: 1981. 376 с.
3. *Coran A.Y.* Vulcanization: conventional and dynamic. // *Rubber Chem. and Techn.* 1995. V. 68. No. 3. P. 351.
4. *Maender O. W., Rostek C. J., Katritzky A. R., Odens H. H., Voronkov M. V.* (2010). Alkylthio-and aryl (heteroyl) thio-substituted p-phenylenediamines, their manufacture and their use in rubber. U.S. Patent No. 7,718,722.
5. *Kumagai Y.* Polycyclic aromatic hydrocarbon quinines as redox and electrophilic chemicals contaminated in the atmosphere. // *J. Health Sci.* 2009. V. 55. P. 887.
6. *Liebeke M., Pother D.C., van Duy N. et. al.* Depletion of thiol-containing proteins in response to quinones in *Bacillus subtilis*. // *Mol. Microbiol.* 2008. V. 69. P. 1513.
7. *Methods in Enzymology.* V. 378, 382 / Eds. Sies H., Packer L. San Diego, London: Elsevier Acad. Press, 2004.
8. *Машиковский М.Д.* Лекарственные средства. – 15-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: ООО «Издательство Новая Волна», 2005. – 1200 с.
9. *James T. H., Snell J.M., Weissberger A.* Oxidation processes. XII.1 The autoxidation of hydroquinone and of the mono-, di- and trimethylhydroquinones. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1938. V. 60. P. 2084.
10. *James T. H., Weissberger A.* Oxidation processes. XIII.1 The inhibitory action of sulfite and other compounds in the autoxidation of hydroquinone and its homologs. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1939. V. 61 (2). P. 442.
11. *Snell J.M., Weissberger A.* The reaction of thiol compounds with quinones. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1939. V. 61. P. 450.
12. *Finley K.Th.* The addition and substitution chemistry of quinones. In: the chemistry of the quinoid compounds. // Ed. S. Patai. Part 2, Ch. 17. London–New York–Sydney–Toronto: John Wiley & Sons. 1974. P. 877.
13. *Кутырев А.А., Москва В.В.* Нуклеофильные реакции хинонов. // *Успехи химии.* 1991. Т. 60. С. 134.

14. Афанасьева Г.Б., Цой Е.В., Чупахин О.Н., Сидоров Е.О., Коновалов С.В. Тиолирование 1,4-бензохинон-4-фенилимина алкан- и арентиолами. // Журн. орг. химии. 1985. Т. 21. С. 1926.
15. Гадомская А.В., Гадомский С.Я., Варламов В.Т. Цепной механизм реакций N,N'-дифенил-1,4-бензохинондиимина с тиофенолом и *n*-децилтиолом. // Кинетика и катализ. 2012. Т. 53. С. 550.
16. Monks T.J., Hanzlik R.P., Cohen G.M. et al. Contemporary issues in toxicology. Quinone chemistry and toxicity. // Toxicology and Appl. Pharmacol. 1992. V. 112. P. 2.
17. Wlodek L. Beneficial and harmful effects of thiols. // Pol. J. Pharmacol. 2002. V. 54. P. 215–223.
18. Kumagai Y. Polycyclic aromatic hydrocarbon quinines as redox and electrophilic chemicals contaminated in the atmosphere. // J. of Health Science. 2009. V. 55. No. 6. P. 887.
19. Eyer P. Reactions of oxidatively activated arylamines with thiols: reaction mechanisms and biologic implications. An overview. // Environ. Health Perspect. 1994. V. 102 (Suppl. 6). P. 123.
20. Inouye H., Leistner E. Biochemistry of quinones. In: the chemistry of the quinoid compounds. // Ed. Patai. Part 1. V. 2. Rappoport Z.-Chichester-New York-Brisbane-Toronto-Singapore: John Wiley & Sons. 1988. P. 1293–1350.
21. O'Brian P.J. The molecular mechanisms of quinone toxicity. // Chem. Biol. Interact. 1991. V. 80. P. 1.
22. Vadnere M.K., Maggiora L., Mertes M.P. Thiol addition to quinones: Model reactions for the inactivation of thymidylate synthase by 5-*p*-benzoquinonyl-2'-deoxyuridine 5'-phosphate. // J. Med. Chem. 1986. V. 29. P. 1714.
23. Гадомская А.В., Варламов В.Т. Цепной механизм реакции N,N'-дифенил-1,4-бензохинондиимина с 2-меркаптобензотиазолом. // Докл. АН. 2011. Т. 439. С. 767.
24. Гадомская А.В., Гадомский С.Я., Варламов В.Т. Цепной механизм реакций N,N'-дифенил-1,4-бензохинондиимина с тиофенолом и *n*-децилтиолом. // Кинетика и катализ. 2012. Т. 53. С. 550.
25. Варламов В.Т., Гадомская А.В. Кинетика и механизм цепной реакции N,N'-дифенил-1,4-бензохинондиимина с тиофенолом в хлорбензоле. // Журн. физ. химии. 2015. Т. 89. С. 629.
26. Варламов В.Т., Крисюк Б.Э. Уникальная особенность цепных реакций тиолов с хинонимидами: тиолы как реагенты и одновременно катализаторы на лимитирующей стадии продолжения цепи. // Известия АН. Сер. хим. 2016. № 2. С. 401.
27. Walling C., Helmreich W. Reactivity and reversibility in the reaction of thiyl radicals with olefins. // J. Am. Chem. Soc. 1959. V. 81. P. 1144.
28. Turunc O., Meier M.A.R. The thiol-ene (click) reaction for the synthesis of plant oil derived polymers. // Europ J. Lipid Sci. Technol.. 2013. V. 115. P. 41.
29. Варламов В.Т., Гадомский С.Я. Кинетика и механизм цепной реакции N-фенил-1,4-бензохинонмоноимина с тиофенолом в хлорбензоле. // Журн. физ. химии. 2017. Т. 91. С. 792.
30. Варламов В.Т., Гадомский С.Я., Гадомская А.В. Механизм реакции N,N'-дифенил-1,4-бензохинондиимина с тиофенолом в *n*-пропиловом спирте. // Кинетика и катализ. 2015. Т. 56. С. 277.
31. Варламов В.Т., Гадомская А.В. Влияние состава бинарного растворителя хлорбензол-пропанол на механизм реакции N,N'-дифенил-1,4-бензохинондиимина с тиофенолом. // Известия АН. Сер. хим. 2016. № 8. С. 2046.
32. Варламов В.Т., Крисюк Б.Э., Григорьев В.Ю. Молекулярные комплексы и сольватационные взаимодействия в реакции хинонимидов с тиолами. // Известия АН. Сер. хим. 2018. № 10. С. 1851.

ГЕТЕРОГЕННОЕ ИНИЦИИРОВАНИЕ РАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ ОКИСЛЕНИЯ И ПОЛИМЕРИЗАЦИИ ПРИ УЧАСТИИ КАТИОННЫХ ПАВ

Касаикина О.Т., Березин М.П., Потапова Н.В., Круговов Д.А.

Федеральный исследовательский центр

«Химическая физика» РАН

Институт проблем химической физики РАН

Рассмотрено влияние катионных поверхностно-активных веществ (КПАВ) на генерирование радикалов при распаде гидропероксидов (LOOH) в смешанных прямых и обращенных мицеллах {nLOOH-mКПАВ}, инициирование радикалов в мономолекулярных слоях КПАВ, адсорбированных на твердой поверхности разных носителей, применение гетерогенных катализаторов в радикальных процессах окисления и полимеризации, влияние умеренного магнитного поля на скорости радикальных процессов, инициированных системами КПАВ- LOOH.

Содержание

1. Введение
2. Каталитическое действие катионных ПАВ на радикальный распад LOOH в смешанных мицеллах {nLOOH-mКПАВ}.
3. Гетерогенные системы, полученные путем адсорбции КПАВ на твердых носителях, специфика окисления и полимеризации, инициированных гетерогенными катализаторами.
4. Магнитные эффекты в радикальных процессах, инициированных системами КПАВ- LOOH.

Гидропероксиды (LOOH) являются первичными продуктами окисления молекулярным кислородом большинства углеводородов и липидов [1,2]. В отличие от исходных углеводородов и липидов гидропероксиды являются амфифильными соединениями, поэтому в присутствии мицеллообразующих поверхностно-активных веществ (ПАВ) в окисляющемся субстрате самопроизвольно образуются смешанные микроагрегаты ПАВ-LOOH. Исследования роли ПАВ в процессах окисления углеводородов и липидов показали, что в зависимости от химической природы ПАВ и окисляемого субстрата может иметь место ингибирование [2-6], катализ окисления [7-12] и отсутствие всякого влияния [4, 8].

Каталитическое действие осуществляют катионные ПАВ (КПАВ), которые ускоряют распад гидропероксидов на радикалы в смешанных мицеллах при умеренной температуре в органических и водных средах [9,13], согласно следующей схеме:



При этом КПАВ не расходуется, а LOOH ускоренно и с меньшей энергией активации распадается с образованием радикалов. Благодаря этому смеси

КПАВ + LOOH могут применяться в качестве липофильных и гидрофильных инициаторов свободных радикалов. Необходимо отметить, что ацетилхолин (ACh), важнейший нейромедиатор, играющий существенную роль в нервно-мышечной и когнитивной активности живых существ, в органических средах подобно КПАВ катализирует радикальный распад гидропероксидов [14]. Ацетилхолин хлорид (ACh), как и многие КПАВ, является четвертичной аммониевой солью, но, в отличие от КПАВ, в молекуле ACh нет объемного гидрофобного заместителя, ACh хорошо растворяется в воде и не обладает поверхностной активностью [13]. Тем не менее, при диспергировании в углеводородной среде совместно с гидропероксидами ACh образует агрегаты типа обращенных мицелл, в которых, очевидно, и ускоряется генерирование радикалов [14].

Для практических целей более удобны гетерогенные катализаторы, которые можно отделять от продуктов реакции. В наших работах гетерогенные катализаторы разложения гидропероксидов на радикалы получали путем адсорбции КПАВ и ACh на твердые носители. В качестве твердых носителей были взяты тонкодисперсные вещества, которые применяются в качестве добавок-наполнителей при создании полимерных композиционных материалов: глина (М, натрия монтмориллонит) [15-17], микрокристаллическая целлюлоза (Cel) [18-20], хитозан (Х) [21].

Оценку скоростей генерирования радикалов проводили с использованием модельных цепных реакций окисления лимонена и полимеризации стирола. Скорости обеих цепных реакций окисления и полимеризации описываются уравнением [22,23]:

$$R = a [LH]R_i^{0.5}, \quad (2)$$

где R_i -скорость инициирования, $a = k_p/(2k_t)^{0.5}$ - отношение констант скорости роста (k_p) и обрыва (k_t) цепи. Поскольку для обоих процессов известны k_p и k_t , [22, 23], скорость инициирования рассчитывали по уравнению:

$$R_i = (R/([LH] \cdot a))^2. \quad (3)$$

Эффективность нанесенного катализатора зависит как от величины адсорбции ПАВ, так и от влияния подложки на активность каталитической системы. В Таблице 1 приведены данные по адсорбции бромид ацетилтриметиламмония (СТАВ) и ACh на использованных носителях и скорости инициирования радикалов, вычисленные по формуле (3) из экспериментально измеренных скоростей окисления и полимеризации.

Таблица 1. Адсорбция СТАВ и скорости генерирования радикалов, измеренные при окислении лимонена (2 М) в растворе хлорбензола, содержащем LOOH (0.2 М) и 4,7 % катализатора, и при полимеризации стирола, содержащего 0.05 М гидропероксида кумила и 4% (мас) катализатора, при 60°C [24]

Катализатор	Адсорбция КПАВ, $\Gamma \cdot 10^4$, моль/Г	$R_i \cdot 10^7$, моль/л с Окисление лимонена	$R_i \cdot 10^7$, моль/л с Полимеризация стирола
-		0.58	0.42
М/СТАВ	5.70	2.40	0.76
Cel/СТАВ	1.85	12.90	7.60
Chi/СТАВ	0.17	2.70	4.80
М/ACh	12,2	11,5	6,5
Cel/ACh	8,0.	5,8	6,5
X/ACh	0,42	1,2	0,63

Адсорбция ACh в несколько раз превышает адсорбцию СТАВ на полярных носителях, в особенности, на целлюлозе, с которой ацетилхолин может связываться не только благодаря кулоновскому взаимодействию, но и за счет водородных связей ацетильной группы.

На рис.1 представлены кинетические кривые полимеризации стирола (а) и MMA (б) с добавками полученных катализаторов [25].

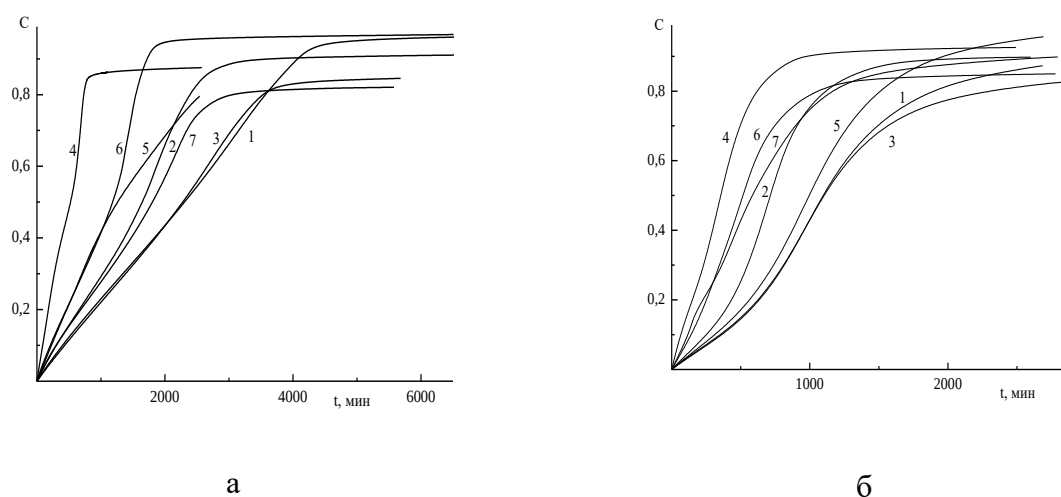


Рис. 1. Зависимость конверсии стирола (а) и MMA (б) от времени в процессе полимеризации, инициированной 0.05М гидропероксида кумила, с добавками 4% (масс) гетерогенных катализаторов: 1 – без катализатора; 2- Chi/СТАВ; 3 – Chi/ACh; 4 – Cel/СТАВ; 5 – Cel/ACh; 6 – М/СТАВ; 7 – М/ACh; 60°C [25].

Видно, что в обоих мономерах добавки катализаторов увеличивают скорости полимеризации, и в стироле скорости значительно ниже по сравнению с полимеризацией ММА.

Ряды активности катализаторов (в расчете на единицу массы) в стироле и ММА имеют вид:

Cel/CTAB > Cel/ACh > M/CTAB > M/ACh > Chi/CTAB > Chi/ACh в стироле,
Cel/CTAB > M/ACh > M/CTAB > Chi/CTAB > Cel/ACh > Chi/ACh в ММА.

Примечательно, что СТАВ и АСh хорошо сорбируются на целлюлозе и монтмориллоните и сохраняют при этом каталитическую активность в разложении гидропероксида на радикалы. Эти результаты могут быть полезны в разных практических областях для создания новых дезинфицирующих и медицинских материалов на основе целлюлозы.

Чтобы сравнить влияние носителя на активность СТАВ и АСh в генерировании радикалов, использовали параметр, аналогичный удельной скорости инициирования радикалов, равный

$$\omega_i = (R_i - R_{0i}) / ([\text{LOOH}] \cdot [\text{КПАВ}]_s), \quad (4)$$

где R_i и R_{0i} - скорости генерирования радикалов с катализатором и без него, $[\text{КПАВ}]_s$ - брутто-концентрация КПАВ, которая вносится в реакционную смесь в составе катализатора.

В Таблице 2 приведены данные по брутто-концентрациям КПАВ на использованных носителях и удельные скорости инициирования радикалов ω_i . Более высокая адсорбция СТАВ и АСh на монтмориллоните (Таблица 1), очевидно, связана с более развитой поверхностью слоистого алюмосиликата CloisiteNa по сравнению с поверхностью используемых образцов целлюлозы и хитозана.

Таблица 2. Брутто-концентрации ППАВ и удельные скорости генерирования радикалов при полимеризации стирола и ММА, $[\text{ГПК}] = 0,05\text{М}$, при 60°C

№	Катализатор	[ПАВ], мМ	$\omega_i \times 10^4$ (М с) ⁻¹	[ПАВ]*, мМ	$\omega_i \times 10^4$ (М с) ⁻¹
		Стирол		Метилметакрилат	
1	СТАВ*	1	38		
2	М/СТАВ	21,3	1,5	22,3	0,081
3	Cel/СТАВ	10,5	16,0	7,2	1,14
4	Chi/СТАВ	0,55	16,7	0,6	0,63
5	АСh*	1,5	8,5		
6	М/АСh	45	0,3	47,7	0,085
7	Cel/АСh	29	1,1	31,3	0,005
8	Chi/АСh	1,4	0	1,6	0,005

*На основании данных [26] по инициированию радикалов в системе СТАВ-LOOH

**На основании данных [14] по инициированию радикалов в системе АСh-LOOH

Из данных Таблицы 2 следует, что наибольшую активность в разложении гидропероксида на радикалы СТАВ и АСh проявляют в смешанных с LOOH мицеллах. При адсорбции на твердом носителе, по-видимому, затрудняется доступ гидропероксида в изменившийся двойной электрический слой, что приводит к уменьшению скорости генерирования радикалов.

Относительно невысокие значения ω_i для М/СТАВ и М/АСh могут быть связаны с участием подложки в гетеролитическом распаде гидропероксида кумила. Специальными опытами было показано, что при выдерживании раствора гидропероксида кумила с добавкой исходного монтмориллонита в реакционной смеси обнаруживается фенол, который образуется в результате гетеролитического разложения алкилароматических гидропероксидов на сульфатах, фосфатах, и, очевидно, на алюмосиликатах.

Низкие значения ω_i для всех катализаторов с нанесенным АСh в среде MMA, по-видимому, обусловлены частичным растворением АСh в полярном MMA и снижением активности LOOH за счет водородных связей со сложноэфирной группой MMA.

Генерирование радикалов на поверхности твердого носителя с иммобилизованным КПАВ при наличии в растворе гидропероксидов открывает принципиальную возможность получения полимерных покрытий путем радикальной полимеризации ненасыщенных соединений, инициированной адсорбированным на поверхности носителя катионным ПАВ. Нами были приготовлены образцы - плоские стекла с адсорбционным слоем СТАВ. Стекла наполовину погрузили в раствор гидропероксида трет-бутила в стироле. Анализ поверхности проводили методом атомно-силовой микроскопии (АСМ), который позволяет проводить количественное исследование распределения механических свойств поверхностного слоя, таких как модуль Юнга, адгезия, локальная деформация.

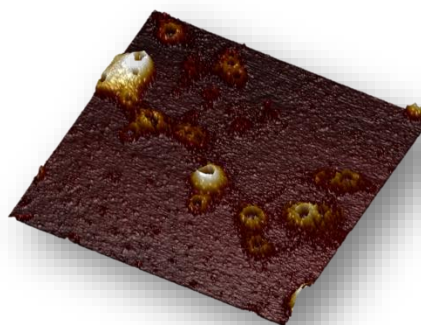
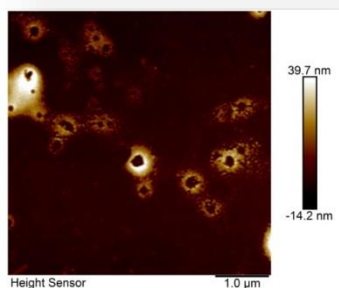


Рис. 2 (а). АСМ характеристики поверхности стекла, модифицированного СТАВ, с образовавшимся полистиролом(б) 3D изображение поверхности: общий вид образца

На АСМ изображении поверхности стекла, которая была погружена в стирол (рис. 2), хорошо заметны участки пленки полистирола с характерным модулем Юнга. На 3D АСМ изображении поверхности (рис. 2б) видны похожие на вулканы разного размера усеченные конусы полимера, высотой до 60 нм и более тонкие участки пленки неправильной формы с линейным размером порядка нескольких микрон.

Полученные данные показывают, что поверхность, модифицированная катионным ПАВ, может стимулировать образование полимерной пленки при контакте с виниловым мономером, содержащим гидропероксид.

Для измерения скоростей инициирования радикалов (R_i) часто применяют метод ингибиторов [1,2,23]. В систему вводят акцептор радикалов, стехиометрически реагирующий с радикалами, и измеряют скорость его расходования. В мицеллярных системах выбор акцептора затрудняется наличием в большинстве акцепторов полярных групп, что способствует их взаимодействию с мицеллами. В случае смешанных мицелл $\{n\text{LOOH}-m\text{КПАВ}\}$, в которых концентрируется гидропероксид и активируется его пероксидная связь, взаимодействие акцепторов фенольной природы или нитроксидов с мицеллами может приводить к их дополнительному расходованию за счет непосредственного окисления [14,27]. Поэтому скорости генерирования радикалов в смешанных мицеллах определяли из данных по скоростям модельных цепных реакций окисления лимонена и полимеризации стирола и ММА (см. выше Таблицы 1 и 2). Подходящим акцептором радикалов в системе смешанных обращенных мицелл может служить неполярный абсолютно гидрофобный полиеновый углеводород β -каротин, который является эффективным акцептором алкильных и пероксильных радикалов [28,29]. Эти эксперименты выявили специфические свойства генерирования радикалов в смешанных мицеллах СТАВ и АСh с гидропероксидом третбутила (ГПТБ) (рис. 3). Кислород и внешнее постоянное умеренное магнитное поле (магнитная индукция $B = 150$ мТл) уменьшают скорость инициирования. В более рыхлых мицеллах АСh–ГПТБ скорости инициирования ниже, чем в мицеллах СТАВ–ГПТБ, и замедляющее действие магнитного поля выражено в меньшей степени. Важно, что замедляющий эффект магнитного поля ослабевает в присутствии парамагнитных частиц – кислорода и относительно стабильных радикалов [27]. В настоящее время уделяется большое внимание изучению действия

магнитных и электромагнитных полей на химические и, в особенности, на биологические процессы [30–41]. Основной вклад в магнитные эффекты в биосистемах могут вносить процессы, в которых генерируются и участвуют радикалы, ион-радикалы, парамагнитные частицы, неспаренные электроны которых являются носителями спинового магнетизма и взаимодействуют с магнитными полями. Магнитные эффекты могут проявляться только в многоспиновых системах, когда имеются, по меньшей мере, два спина, т.е. может образоваться радикальная пара. Магнитные поля способны индуцировать спиновые триплет-синглетные переходы в таких парах, изменять их спиновое состояние и реакционную способность [31–38].

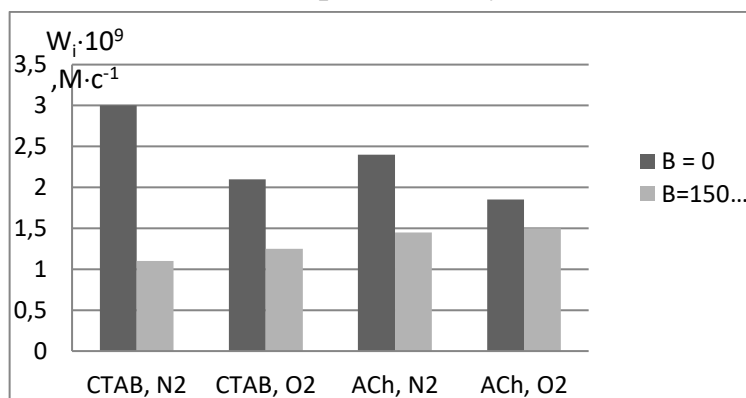


Рис. 3. Скорости инициирования радикалов в системах СТАВ-ГПТБ и АСh– ГПТБ в хлорбензоле в инертной атмосфере (в токе азота) и на воздухе (O₂) во внешнем статическом магнитном поле ($B=150$ мТл) и в отсутствие поля ($B=0$); 37°C. брутто-концентрации СТАВ и АСh 1.7 мМ; ГПТБ - 25 мМ, β -каротина 0,01 мМ;

В системе СТАВ–ГПТБ (рис. 3) кислород снижает W_i на 30%, а магнитное поле – на 60%. В случае более крупных и менее упорядоченных микроагрегатов АСh–ГПТБ эти эффекты выражены слабее: кислород уменьшает W_i на 24%, а магнитное поле – на 41%. В присутствии кислорода влияние внешнего магнитного поля ослабевает. Наблюдаемые магнитные эффекты аномально большие – обычно в радикальных реакциях они не превышают 25% [42–46] и отрицательные. Согласно теории, подкрепленной многочисленными экспериментами, внешнее и внутреннее магнитное поле облегчает синглет-триплетные переходы в радикальных парах, что затрудняет геминальную рекомбинацию и увеличивает выход радикалов в объем растворителя. Иными словами, магнитное поле оказывает положительный эффект на скорость выхода радикалов из радикальной пары.

В работе [38] экспериментально показано, что умеренное магнитное поле 0,6 Т увеличивает скорость окисления углеводов и липидов, и даже имеет место полевая зависимость положительного магнитного эффекта (МЕ),

но она наблюдается только при низких концентрациях O_2 . Доминирующий вклад в магнитный эффект (МЕ) вносит реакция алкильных радикалов с кислородом: $R\cdot + O_2 \rightarrow RO_2\cdot$. Эта реакция стимулируется взаимодействием Зеемана, которое влияет на встречную пару ($R\cdot O_2$), производя преобразование квартетного спинового состояния, в котором радикалам запрещено реагировать, в дублетное спиновое состояние, в котором рекомбинация разрешена. При высокой концентрации кислорода эта реакция не является лимитирующей стадией и не оказывает влияния на общую скорость окисления, и, следовательно, магнитный эффект не наблюдается. Согласно последним исследованиям, значительное влияние МФ при умеренной интенсивности МФ на кинетику цепного свободнорадикального процесса (полимеризация, окисление) можно наблюдать в фотоиницированных реакциях, проводимых в вязких средах [47].

Фосфатидилхолин (РС) является цвиттерионным поверхностно-активным веществом, в котором катион холина связан с фосфатом. При взаимодействии с солями кальция нарушается цвиттерионная связь и фосфатидилхолин превращается в катионное поверхностно-активное вещество.

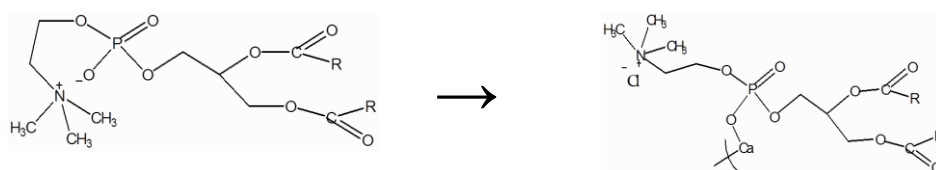


Таблица 3. Магнитные эффекты в расходе β -каротина при окислении в цепном режиме в присутствии смешанных мицелл фосфатидилхолина с ГПТБ

Система	$W_{Car} \times 10^8$, М/с	$W_{Car} \times 10^8$, М/с,МП	МЕ
β -Каротин + АИБН	28,2	28,2	0
β -Каротин + ГПТБ + РС + $CaCl_2$	5,07	4,49	-0,13
β -Каротин + ГПТБ + РС + $MgSO_4$	3,58	2,13	-0,4
β -Каротин+ ГПТБ + РС + $Fe(acac)_3$	7,3	7,3	0
β -Каротин + ГПТБ + $Fe(acac)_3$	7,0	7,0	0

Условия: β -Carotene 0,7 mM; AIBN 20 mM; РС 1,8 mM; $CaCl_2$ 1,3 mM; $MgSO_4$ 1,1 mM; $Fe(acac)_3$ 0,36 mM; ГПТБ 40 mM; 50°C

Мы использовали модельную реакцию цепного-радикального окисления β -каротина для изучения влияния магнитного поля на генерацию радикалов

при разложении азоинициатора AIBN и гидропероксида в присутствии РС, обработанного солями Са и Mg.

Оказалось, что при гомогенном инициировании радикалов в результате распада инициатора AIBN или распада гидропероксида, катализируемого ацетилацетонатом железа, магнитное поле не влияет на скорость расщепления β -каротина. Однако в случае РС в сочетании с Са или Mg, т.е. в смеси образующегося катионного поверхностно-активного вещества и гидропероксида, наблюдается отрицательный магнитный эффект.

Возможно, замедляющее действие кислорода и магнитного поля на скорость инициирования радикалов в смешанных мицеллах-агрегатах катионное ПАВ-гидропероксид обусловлено их влиянием на свойства двойного электрического слоя и ориентацию пероксидной связи, гомолиз которой определяет скорость распада гидропероксида на радикалы.

Работа поддержана грантами РФФИ 17-03-00364 и 18-33-00742, РНФ 14-23-00018

Литература

1. Эмануэль Н.М., Денисов Е.Т., Майзус З.К. Цепные реакции окисления углеводов в жидкой фазе. М.: Наука. 1965. с. 375.
2. Denisov E.T., Afanas'ev I.B. Oxidation and Antioxidants in Organic Chemistry and Biology. CRC Press, Boca Raton, FL 33487. 2005. p. 1095.
3. Карташева З.С., Максимова Т.В., Коверзанова Е.В., Касаикина О.Т. // Нефтехимия. 1997. Т. 37. № 2. С. 153.
4. Kasaikina O.T., Kortenska V.D., Kartasheva Z.S., et al. // Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp. 1999. V. 149. № 1-3. P. 29.
5. Касаикина О.Т., Карташева З.С., Писаренко Л.М. // Патент РФ №2375416. Б.И. №34, 10.12.2009.
6. Kellerby S.S., McClements D.J., Decker E.A. // J.Agric.Food Chem. 2006. V.54. №20. P. 7879.
7. Касаикина О.Т. // В сб. «Окисление, окислительный стресс и антиоксиданты», М.: Изд-во РУДН. 2006. с. 48.
8. Касаикина О.Т., Карташева З.С., Писаренко Л.М. // Журн. Общ. Хим. 2008. № 8. С. 1298.
9. Касаикина О.Т., Голявин А.А., Круговов Д.А., et.al. // Вест.МГУ. Сер.хим. 2010.№3.С. 246.
10. Касаикина О.Т., Карташева З.С., Писаренко Л.М. //Патент РФ №2348608, Б.И. №7. 10.03.2009
11. Kasaikina O.T., Kancheva V.D., Maximova T.V., // Oxid. Comm. 2006. № 3. P. 574.
12. Круговов Д.А., Писаренко Л.М., Кондратович В.Г., et.al.// Нефтехимия. 2009.№ 2. С. 216.
13. Трунова Н.А., Круговов Д.А., Богданова Ю.Г., Касаикина О.Т. // Вестник МГУ сер. хим. 2008. № 4. С. 260.
14. Круговов Д.А., Менгеле Е.А., Касаикина О.Т. // Изв. АН, Сер. хим. 2014, №8, С.1837.
15. Unuabonah E.I., Taubert A. // Applied Clay Science. 2014. V. 99. P. 83.
16. Ray S.S., Okamoto V. // Prog. Polym. Sci. 2003. V. 28. P. 1539.
17. Utracki L.A. Clay –Containing Nanocomposites. V.1, 2. Rapra Technology Limited. U.K. 2004.
18. Zheng Y., Monty J., Linhardt R. J. // Carbohydrate Research. 2015. V. 405. P. 23.
19. Feldman D. // J. Macromolec. Sci., Part A: Pure and Applied Chemistry. 2015. V. 52. № 4. P. 322.

20. Chirayil, Cintil Jose; Mathew, Lovely; Thomas, Sabu. // 2014. V. 37 № 1-2 P. 20.
21. MandenBroek L.A.M., Knoor R.J.I., Kappen F.H.J., Boeriu C.G. // Carbohydrate Polymers. 2015. V. 116. P. 237.
22. Писаренко Л.М., Круговов Д.А., Щеголихин А.Н., Касаикина О.Т. // Изв. АН, Сер.хим., 2008. № 1. С. 80.
23. Denisov E.T., Denisova T.G. Handbook of antioxidants: bond dissociation energies, rate constants, activation energies and enthalpies of reactions. Boca Raton: CRC press. 2000.
24. Касаикина О.Т., Круговов Д.А., Менгеле Е.А. Березин М.Р., Фокин Д.А. // Нефтехимия. 2015. Т. 55. №6. С. 535.
25. Касаикина О. Т., Потапова Н. В., Круговов Д. А., Березин М. П. // ВМС, Сер.В, 2017, Т. 59, № 3, С. 181.
26. Н.А.Трунова, З.С. Карташева, Т.В.Максимова, Ю.Г.Богданова, О.Т. Касаикина, // Коллоидный журнал, Т. 69, № 5, с.697-702, 2007.
27. Касаикина О. Т., Писаренко Л. М. // Изв. АН, Сер. хим, 2015, № 10 С. 2319.
28. Ozhogina O.A., Kasaikina O.T. β -Carotene as an interceptor of free radicals. *Free Rad. Biol. & Med.* V.19. №5. P.575-581 (1995)
29. Касаикина О.Т. Окисление полиеновых углеводов., Хим. физ.1995, Т.14. №10. С.72.
30. Бучаченко А.Л. //Успехи химии, 2014, Т.83 (1) С. 1.
31. Buchachenko A.L. Magneto-Biology and Medicine. New York: Nova Science Publishers. 2014. 225 p.
32. Saunders.R. Progress in Biophysics and Molecular Biology, 2005, V.87(2-3), P. 225.
33. Ghodbane J, Lahbib A., Sakly M, Abdelmetek H. // BioMed Research Int. V.2013, ID 602987; <http://dx.dot.org/10.1155/2013/602987>.
34. Okano H.,// Frontiers in Bioscience, 2008, V.13, P. 6106.
35. Buchachenko A.L.. Magnetic Isotope Effects in Chemistry and Biochemistry. Nova Science Publishers, New York, 2009.
36. Касаикина О. Т., Потапова, Н. В., Круговов Д. А., Писаренко Л. М. // Кинетика и Катализ, 2017, Т. 58, № 5, С. 567.
37. Buchachenko A.L. Lawler R. G. // Acc. Chem. Res. 2017, 50, 877–884 DOI: 10.1021/acs.accounts.6b00608
38. E.M. Pliss, A.M. Grobov, A. K. Kuzaev, A. L. Buchachenko *J Phys Org Chem.* 2019; 32:e3915. DOI: 10.1002/poc.3915
39. A.Diaconu, L.E. Nita, A.P. Chiriac, M. //Intern. J. Biol. Macr. 2018, 119, 974; doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.033
40. R. H. Keens, S. Bedkihal, and D.l R. Kattnig// Physical Review Letters, 2018 <http://hdl.handle.net/10871/33924>.
41. C. Sampson, R. H. Keens, D. R. Kattnig *Phys.Chem.Chem.Phys.*, 2019, 21, 13526.
42. Бучаченко А.Л., Сагдеев Р.З., Салихов К.М. Магнитные и спиновые эффекты в химических реакциях. Новосибирск, «Наука», 1978. 296 с.
43. Salikhov K.M., Magnetic Isotope Effect in Radical Reaction, Springer, Wien, 1996.
44. Levin P.P. Shafirovich V.Ya, Kuzmin, V.A. // J.Phys.Chem.1992, V.96, P.200.
45. Levin, P. P.; Kuzmin, V. A. // Chem. Phys. 1992, 162, 79.
46. Levin P.P., Efremkin A.F., Khudyakov I.V. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2015, DOI: 10.1039/c5pp00024f
47. Khudyakov I.V. Progress in Organic Coatings. 2018, V.121 P.151.

ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭНЕРГЕТИКИ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВЫЧИСЛИТЕЛЬНЫХ МЕТОДОЛОГИЙ

Хурсан С.Л.

Уфимский институт химии УФИЦ РАН, Уфа, Россия

KhursanSL@anrb.ru

Информация об энергетических характеристиках химических соединений необходима для технологических расчетов, анализа механизмов химических реакций, наконец, для понимания фундаментальной взаимосвязи между строением вещества и его энергией, т.е. реакционной способностью. Несмотря на значительный прогресс экспериментальных методов изучения молекулярной энергетики, теоретические термохимические приемы широко используются для оценки и, все чаще, для прецизионного измерения энтальпий образования, энергий диссоциации связей, активационных барьеров и других энергетических величин химических соединений, особенно, при исследовании высокоактивных метастабильных интермедиатов химических реакций. В изобарно-изотермических условиях эти энергетические величины связаны между собою простыми соотношениями:

$$D(A-B) = H^\circ(A^\bullet) + H^\circ(B^\bullet) - H^\circ(AB) = \Delta_f H^\circ(A^\bullet) + \Delta_f H^\circ(B^\bullet) - \Delta_f H^\circ(AB) \quad (1)$$

$$H^\ddagger = H^\circ(\text{ПС}) - \sum H^\circ(\text{Рг}) = \Delta_f H^\circ(\text{ПС}) - \sum \Delta_f H^\circ(\text{Рг}), \quad (2)$$

D – энергия диссоциации (прочность) связи $A-B$, H° – стандартная абсолютная энтальпия вещества, $\Delta_f H^\circ$ – стандартная энтальпия образования (298 К, если не указано иное), $H^\ddagger$ – энтальпия активации (активационный барьер) реакции, ПС – переходное состояние реакции, Рг – реагенты. В дальнейшем, в зависимости от удобства использования, мы будем использовать одну из перечисленных энергетических величин, молчаливо полагая, что пересчет в любую другую легко осуществим с помощью уравнений (1) и (2).

В лекции рассмотрены основные теоретические подходы к расчету энергетических характеристик органических молекул и радикалов. Поскольку энергия вещества определяется его химическим составом и строением, в качестве субструктурного элемента – носителя энергии – в

различных подходах рассматривают отдельный атом, входящий в состав исследуемой частицы (*атомный эквивалент*), химическую связь (*связевой эквивалент*), группу атомов, химически связанных между собой (*групповой эквивалент*), большой фрагмент молекулы (*макроинкремент*) или, наконец, молекулу целиком. В результате различных приемов детализации исследуемой структуры и используемых теоретических моделей появилось значительное число разнообразных методов теоретической оценки энергосодержания химического вещества. Их можно, в значительной степени условно, разбить на три группы.

1. Эмпирические методы. В описываемых методах расчет энтальпии образования требует информации об экспериментальных значениях $\Delta_f H^\circ$ ряда других соединений, а также использует самые простые эмпирические модели соотношений типа «структура - свойство», в частности, принципов аддитивности и подобия. Очевидно, что естественным ограничением этих методов является прогноз $\Delta_f H^\circ$ только для структурно-подобных соединений, химических аналогов или гомологов тех соединений, энтальпии образования которых были использованы в качестве экспериментальных реперных точек отсчета. Очевидно и то, что на точность термохимической оценки влияет надежность измерения реперных $\Delta_f H^\circ$. В практике своих исследований мы использовали эмпирические модели двух типов.

1.1. Методы, основанные на принципе аддитивности термохимических свойств. Это, в первую очередь, наиболее известный и в свое время широко используемый метод аддитивности термохимических инкрементов С. Бенсона [1]. Энтальпия образования соединения рассчитывается в виде суммы энтальпийных вкладов термохимических групп. Группа представляет собой поливалентный атом (валентность ≥ 2) вместе со всеми его лигандами, т.е. ковалентно-связанными атомами. Метод Бенсона предельно прост и, в то же время, в ряде случаев довольно точен. Одним из основных недостатков метода Бенсона является невозможность учета в рамках аддитивной схемы невалентных взаимодействий, т.е. взаимодействий химически не связанных атомов или групп в молекуле. Невалентные взаимодействия могут иметь различную природу: электростатическую, стерическую и т.д. Учет невалентных взаимодействий в методе Бенсона осуществляется в виде соответствующих поправок. Использование поправочных вкладов делает

метод Бенсона существенно менее удобным, однако, игнорирование поправок приводит к неудовлетворительным результатам.

Очевидным способом преодоления недостатка метода Бенсона является включение невалентных поправок в инкрементную схему расчета $\Delta_f H^\circ$. Это достигается укрупнением термохимической группы путем включения в нее ковалентно-связанных атомов как первого, так и второго (и, в принципе, более отдаленного) окружения центрального атома. Инкрементная схема подобного ряда была использована в [2] и в более структурированной форме – при анализе массива 154 $\Delta_f H^\circ$ насыщенных ациклических углеводородов – в серии работ [3-5]. Расширенные схемы расчета $\Delta_f H^\circ$ являются значительно более точными, но обладают непреодолимым недостатком, препятствующим их широкому применению: они оперируют неприемлемо большим числом инкрементов, причем это число возрастает в геометрической прогрессии при увеличении размера термохимической группы. Так, если метод Бенсона в приложении к насыщенным ациклическим углеводородам оперирует четырьмя инкрементами и двумя поправками (средняя абсолютная погрешность MAD составляет при этом ≤ 1 ккал/моль для изученного массива углеводородов), расширенный базис авторского метода [3] требует использования 35 условно независимых инкрементов (MAD = 0.094 ккал/моль). В действительности, наблюдается простая связь между инкрементами расширенного базиса, что позволяет уменьшить число инкрементов до 12 (MAD = 0.105 ккал/моль) в ограниченном базисе и до 7 - в минимальном базисе без существенной потери в точности расчета $\Delta_f H^\circ$, MAD = 0.131 ккал/моль [4].

1.2. Методы сравнительного расчета. Отличительной особенностью описываемых методов является то, что искомая величина $\Delta_f H^\circ$ вычисляется из энтальпии образования родственного или схожего по тем или иным параметрам соединения на основании известного соотношения между расчетной и реперной величинами $\Delta_f H^\circ$. Метод сравнительного расчета отражает выполнение общего соотношения *линейности свободных энергий* (ЛСЭ), согласно которому изменения в свободных энергиях реакций ΔG° (или в свободных энергиях активации $\Delta G^\ddagger$), вызываемые в различных реакциях одинаковыми вариациями структуры реагирующих соединений или среды, связаны линейными зависимостями:

$$\delta_R \Delta G_i = a \cdot \delta_R \Delta G_j + b, \quad (3)$$

где δ_R – оператор изменения структуры (например, при введении заместителя R) или среды; i, j - индексы реакций. Уравнение (3) отражает широкую эмпирическую закономерность: сходные изменения в строении соединений приводят к сходным изменениям в реакционной способности. Оно не вытекает из принципов термодинамики, поэтому корреляционные соотношения, основанные на принципе ЛСЭ, принято относить к экстратермодинамическим. Заслуживающим внимания приемом для получения корреляционных соотношений между $\Delta_f H^\circ$ соединений различных классов является подход, предложенный Комиссаровым В.Д. [6]. Он основан на анализе взаимосвязи тепловых эффектов различных радикальных реакций. Автором получен ряд соотношений, некоторые из них приведены ниже:

$$\Delta_f H^\circ(\text{ROH}) = 4.926 \cdot (-0.797 \cdot \Delta_f H^\circ(\text{RH}) + \Delta_f H^\circ(\text{RCH}_3) - 0.9) \quad (4)$$

Уравнение (4) выполняется для ROH, включая ненасыщенные спирты, фенолы, кислоты и гидропероксиды и исключая метанол и первичные спирты. Средняя погрешность расчета по уравнению (4) составляет ~1 ккал/моль, максимальная – ~3 ккал/моль для бензойной кислоты и метилгидропероксида. Еще одним примером множественной регрессии является уравнение

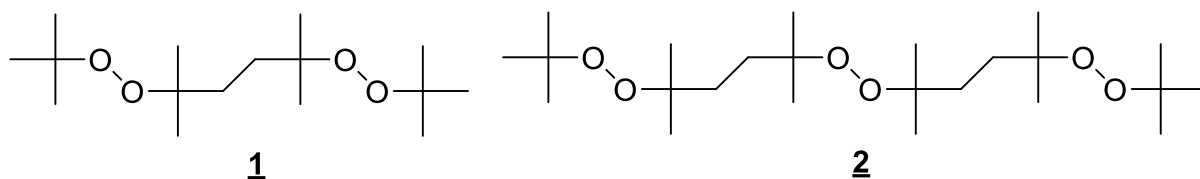
$$\Delta_f H^\circ(\text{ROOH}) = 0.174 \cdot \Delta_f H^\circ(\text{RH}) + 0.826 \cdot \Delta_f H^\circ(\text{ROH}) - 11.5, \quad (5)$$

Область применения – для таких RH, как углеводороды, спирты, кетоны, простые и сложные эфиры, ацетали.

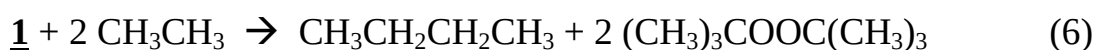
Используя принцип подобия исследуемой молекулы и соединений сравнения, Дж. Попл и соавт. [7] предложили для термохимических расчетов применение так называемых *изодесмических реакций* (ИДР). Изодесмические реакции – это превращения, чаще всего формальные, в которых число связей каждого типа остается неизменным, и только перераспределение связей в «продуктах» ИДР имеет место. Интересно отметить, что изначально использование ИДР предполагалось как прием, повышающий точность термохимических оценок с помощью *ab initio* квантово-химических расчетов. Однако эта концепция может быть с успехом применена и сама по себе. По определению, в ИДР в явном виде используется баланс атомных и связевых эквивалентов. Развивая принцип максимального подобия, можно дополнить ИДР требованием баланса более высокого структурного порядка, а именно группового баланса. При отсутствии невалентных взаимодействий в участниках ИДР (или при их взаимной компенсации) такая формальная

реакция представляет собой термoneйтральный процесс, т.е. соблюдение всех вышеперечисленных балансов приводит к автоматическому выполнению теплового баланса реакции, $\Delta_f H^\circ = 0$. Такую реакцию мы будем называть *гомодесмической*, ГДР. Отметим, что, согласно рекомендациям ИЮПАК, для ГДР предлагается термин «гомодесмотический» [8]. Разумного объяснения “лишнему” суффиксу в последнем термине мы не видим. Более естественным нам представляется термин «гомодесмическая реакция» (*homodesmic reaction*). Нелишне добавить, что в кристаллохимии используется понятие «гомодесмические кристаллы» (*homodesmic crystals*).

Таким образом, конструируя ГДР и полагая ее термoneйтральность, можно легко рассчитать $\Delta_f H^\circ$ одного из участников ГДР, при условии, что энтальпии образования остальных соединений известны. Эффективность данного приема была продемонстрирована нами ранее на примере расчета $\Delta_f H^\circ$ некоторых пероксидов. Так, Ю.Я. Ван-Чин-Сяном экспериментально определены $\Delta_f H^\circ$ в жидкой фазе и энтальпии испарения соединений **1** и **2**,



что позволяет вычислить их газofазные энтальпии образования. С другой стороны, для этих пероксидов можно записать следующие ГДР:



Полагая формальные реакции (6) и (7) термoneйтральными и используя для ди-*трет*-бутилпероксида $\Delta_f H^\circ = -83.6$ ккал/моль [9], легко вычислить $\Delta_f H^\circ(\underline{\mathbf{1}}) = -157.0$ (-156.9 ± 1.6) ккал/моль и $\Delta_f H^\circ(\underline{\mathbf{2}}) = -230.5$ (-228.7 ± 2.1) ккал/моль. В скобках приведены результаты экспериментального определения энтальпии образования. В обоих случаях разница между экспериментальным и оценочным значением энтальпии образования пероксидного соединения меньше погрешности определения $\Delta_f H^\circ$.

2. Полуэмпирические методы. Задача теоретического определения энергии химической частицы в стандартных условиях с использованием аппарата квантовой механики формулируется строго, поэтому мы вправе ожидать получения точных значений энергосодержания вещества расчетными методами, в частности, квантово-химическими. Однако,

возникающие при этом вычислительные трудности, зачастую практически непреодолимые, обусловили появление упрощенных процедур. Иногда эти упрощения настолько серьезны, что становится необходимым введение в расчетную схему эмпирических параметров, часто лишенных ясного физического смысла, но сохраняющих работоспособность схемы в целом. Конспективно перечислим основные подходы, используемые для оценки энергетических характеристик вещества.

2.1. Полуэмпирические методы квантовой химии. Значительная часть компьютерных ресурсов при *ab initio* расчетах используется при вычислении огромного количества многоцентровых двухэлектронных интегралов. Отказ от расчета подавляющего количества таких интегралов и замена оставшихся на эффективные или эмпирические величины привели к появлению ряда полуэмпирических методов. Наибольшее распространение получили такие методы как AM1 [10], PM3 [11], а позднее PM6 [12]. Анализ последующего развития этого направления квантовой химии не входит в задачу настоящей лекции. Параметризацию полуэмпирических методов проводили по тестовым наборам соединений с надежно установленными энергетическими характеристиками, что позволяет оптимизировать строение молекул непосредственно по величине стандартной энтальпии образования. Отметим также, что удачная параметризация компенсирует предельное упрощение теории лишь частично, что отражается в получении умеренно надежных результатов расчета. В настоящее время, в практике работы нашей лаборатории полуэмпирические методы квантовой химии вытеснены другими, более точными подходами.

2.2. Молекулярная механика. Оказывается возможным построение такой полуэмпирической схемы строения молекул, когда волновое уравнение не решается вовсе, а силы, действующие на атомы, уподобляются силам механической деформации в соответствии с законом Гука, $E = kx^2/2$. Это позволяет радикально снизить вычислительные затраты, что делает возможным описывать предельно сложные системы, содержащие десятки тысяч атомов. Представления, основанные на таком подходе, составляют существо *молекулярной механики* [13], широко используемой при моделировании биологических объектов – белков, вирусов, клеток и т.п.

Учитывая, что молекула, имеющая $3N - 6$ степеней свободы, характеризуется набором равновесных межатомных расстояний r , валентных

и деформационных углов θ и φ , увеличение энергии молекулы за счет отклонения ее геометрических параметров r , θ , φ от оптимальных значений r_0 , θ_0 , φ_0 можно описать по закону упругой деформации:

$$V = \frac{1}{2} \sum_i f_{r,i} \cdot (r_i - r_{0i})^2 + \frac{1}{2} \sum_j f_{\theta,j} \cdot (\theta_j - \theta_{0j})^2 + \frac{1}{2} \sum_k f_{\varphi,k} \cdot (\varphi_k - \varphi_{0k})^2, \quad (8)$$

i, j, k – число межатомных расстояний, валентных и деформационных углов в молекуле, соответственно, суммарно $3N - 6$; f – силовые константы для соответствующих деформаций. Уравнение (8) представляет пример простейшего варианта *валентного силового поля*. Разработано множество различных вариантов силовых полей, включающих линейные (например, $f' \cdot (r - r_0)$), перекрестные ($f'' \cdot (r - r_0)(\theta - \theta_0)$) члены и вклады более высоких порядков ($f''' \cdot (r - r_0)^n$, $n = 3, 4$) для придания потенциалу некоторого подобия кривой Морзе. Кроме того, в силовое поле могут быть включены и иные потенциалы типа Леннарда-Джонса, Букингема, Кулона, Джинса (диполь-дипольное взаимодействие) и т.д. Набор силовых констант представляет собой параметризацию соответствующего метода молекулярной механики. Зачастую набор параметров подбирают для решения частной задачи, например, корректного описания пептидной связи, что находит применение в моделировании белковых структур.

Применение методов молекулярной механики для расчета энтальпийных характеристик органических молекул осуществляется по принципу аддитивных схем расчета (см. п. 1.1) с использованием, как правило, связевых инкрементов [13]. Усложненная параметризация силового поля позволяет учитывать и ряд невалентных эффектов, но в целом точность расчетов $\Delta_f H^\circ$ остается на уровне эмпирических подходов. Развитие и совершенствование аппарата вычислительной квантовой химии, прогресс информационных технологий позволили в настоящее время создать для исследования молекулярной энергетики более качественные и надежные продукты, чем методы силового поля.

2.3. Модель переходного состояния Е.Т. Денисова. Одним из самых заметных достижений последних лет в области химической кинетики стала модель переходного состояния реакций радикального отрыва [14], предложенная Е.Т. Денисовым в 1990 г. и распространенная позже на другие радикальные реакции. В рамках предложенного подхода профиль поверхности потенциальной энергии реакции упрощенно описывается пересечением двух парабол, одна из которых соответствовала колебательной

моде разрывающейся связи, а вторая – образующейся. Денисовым также была предложена и модель, учитывающая ангармонизм колебаний (модель пересекающихся кривых Морзе), однако она не имела особых преимуществ над более простой моделью пересекающихся парабол (МПП). Применение МПП к обширному массиву экспериментальных данных позволило Денисову и соавт. провести количественную систематизацию радикальных реакций различных типов, выявить и проанализировать факторы, определяющие скорость этих реакций, предложить качественный продукт для прогноза реакционной способности химических соединений в реакциях с участием свободных радикалов. Еще одним достоинством МПП является возможность расчета энергии диссоциации химической связи из кинетических данных по исследуемому и реперному соединению, претерпевающих одинаковый тип радикального превращения:

$$D = D_r + \frac{1+\alpha}{\alpha^2} \left(\sqrt{\frac{E_0}{E_r}} - 1 + \alpha \right) (E - E_r), \quad (9)$$

где E – энергия активации, E_0 – энергия активации термонеutralной реакции (общая характеристика радикальной реакции данного типа), α^2 – отношение силовых постоянных рвущейся и образующейся связей, индекс r относится к реперному соединению. Как показывает практика применения уравнения (9), погрешность расчета D не превышает, как правило, 1 ккал/моль.

С помощью МПП была существенно расширена база данных по величинам D (см., например, монографии [15, 16]), а значит и по энергосодержанию свободных радикалов (уравнение (1)). Достоинствами метода Денисова являются экспрессность оценки D , простота вычислений, хорошая точность при условии использования надежных экспериментальных данных и удачного выбора реперного соединения. К недостаткам модели МПП следует отнести нестрогость в трактовке энтропийного фактора (предэкспоненциальные множители в уравнении Аррениуса для данного типа реакций рассматриваются как постоянные величины), отсев сомнительных экспериментальных данных имеет элемент субъективизма. Но в целом, модель МПП демонстрирует хорошую сходимость с независимыми экспериментальными данными и теоретическими оценками, как, например, в случае из нашей практики – $D(\text{O-H})$ фенольных антиоксидантов [17].

3. Неэмпирические методы. Строгость и изящность квантово-механических представлений о природе химического вещества вкупе с поражающим воображение прогрессом информационных технологий и вычислительных возможностей создают предпосылки для прямого и точного расчета энергии химических частиц и, следовательно, их реакционной способности. Хотя эти надежды вполне обоснованны, существует ряд объективных причин, затрудняющих получение точных решений. Во-первых, реальные химические системы в общем случае неприемлемо сложны для расчета, поэтому необходимо введение модельных ограничений. Впрочем, разумный выбор модели минимизирует ошибку до несущественных величин. Во-вторых, квантово-механические уравнения состояния для молекулярных систем не имеют аналитического решения. Поэтому расчет энергии вещества современными квантово-химическими методами, помимо модельных ограничений, сопряжен с рядом источников погрешности, главные из которых – проблема корректного описания коррелированного движения электронов, несовершенство базисных наборов АО и релятивистские эффекты для элементов нижней половины Периодической таблицы. Эти составляющие общей погрешности расчета, в принципе, могут быть учтены, однако масштаб вычислений и ресурсоемкость расчета при этом столь велики, что в настоящий момент *точные неэмпирические расчеты применимы только к малым химическим системам*. Тем не менее, можно привести интересные примеры таких расчетов из нашей практики.

3.1. Радикал $\text{XeF}^\bullet$. Дифторид ксенона является исключительно мощным фторирующим агентом и окислителем, способным окислять воду. В ходе превращений XeF_2 распадается с образованием радикальных и катион-радикальных интермедиатов, энергетические характеристики которых изучены недостаточно. В первую очередь, плохо изучена термохимия $\text{XeF}^\bullet$ радикала. Ввиду малого размера частиц возможно применение высокоуровневых методов квантовой химии для прямого расчета энтальпии образования $\text{XeF}^\bullet$, прочности связи $\text{Xe-F}^\bullet$ и потенциала ионизации IP . Расчеты стандартной абсолютной энтальпии XeF_2 и продуктов его распада [18] проводили по уравнению:

$$H^\circ = E_{\text{CBS}} + \text{ZPE} + \text{TC} - E_{\text{SO}} - E_{\text{R}} \quad (10)$$

где E_{CBS} – экстраполированная величина полной энергии на уровне теории CCSD(T) с базисными наборами *aug-cc-pVnZ* для атома F и *aug-cc-pVnZ-PP* с

релятивистским основным псевдопотенциалом – для атома Хе, $n = D - Q$; ZPE и TC – энергия нулевых колебаний и термическая энтальпийная коррекция к 298 К ($n = Q$); E_{SO} – спин-орбитальная поправка и E_R – релятивистская поправка Дугласа-Кролла-Гесса в скалярном релятивистском приближении второго порядка. Далее, по уравнению (1) рассчитали тепловые эффекты элементарных реакций процесса разложения дифторида ксенона и энергетические характеристики индивидуальных частиц (табл. 1, приведены данные для 0 К).

Таблица 1. Энтальпии образования $\Delta_f H^\circ$ при 0 К (ккал/моль), потенциалы ионизации IP (эВ) и межатомные расстояния R (Å) для исследованных соединений (CCSD(T)/CBS расчет)

Частица	$\Delta_f H^\circ$ эксп.	$\Delta_f H^\circ$ расч.	IP эксп.	IP расч.	R эксп.	R расч.	T_1
XeF^+	253.2	256.25	10.3	10.4	1.84	1.865	0.011
XeF^-	–	–66.79	–	–	–	2.950	0.012
$\text{XeF}^\bullet$	15.07	15.47	–	3.56	–	2.334	0.026
XeF_2	–25.3	–25.27	–	–	1.977	1.977	0.014
$\text{XeF}_2^{\bullet+}$	–	265.37	12.33	12.60	–	1.904	0.038
$\text{F}^\bullet$	18.47	18.03	3.40	3.39	–	–	0.007
F^-	–59.91	–60.25	–	–	–	–	0.020
$\text{Xe}^{\bullet+}$	279.72	279.55	12.13	12.12	–	–	0.006

Как видно из данных таблицы 1, соответствие с известными экспериментальными данными – количественное ($\Delta E < 1$ ккал/моль) в широчайшем диапазоне тепловых эффектов исследуемых реакций (от 0 до 280 ккал/моль). Результаты расчета выявили, что первая ступень диссоциации XeF_2 характеризуется $D(\text{FXe-F}) = 59.7$ ккал/моль, тогда как на второй ступени $D(\text{Xe-F}^\bullet)$ предельно мала, всего 3.1 ккал/моль (298 К). Интересно отметить, что в катионе XeF^+ энергия диссоциации связи Хе-Ф достаточно велика (42.1 ккал/моль). Причину низкой термической стабильности радикала объясняет его электронное строение. Кроме классической резонансной структуры с однократно занятой верхней МО преимущественно $5p_z$ -типа Хе, заметный вклад (35%) в волновую функцию

ХеF[•] имеет резонанс с неспаренным электроном на внутренней МО преимущественно 2p_z-типа F атома. Эта резонансная структура полностью согласуется с крайне низкой энергией диссоциации связи в ХеF[•] радикале.

3.2. *Изонитрозилгидроксид HOON*. Исследуя свойства пероксидных интермедиатов окислительных процессов, мы обнаружили частицу очень необычного строения – HOON. До наших исследований эту частицу рассматривали как представителя класса пероксидов – гидропероксинитрен, при этом доказательств образования HOON не приводилось. Наши первичные расчеты показали [19], что в исследуемом соединении длина связи О-О удивительно велика (~1.9 Å) для пероксидной молекулы и мала – для слабосвязанного комплекса двух частиц. Кроме того, природа химического связывания в этом «комплексе» совершенно не очевидна. Эти обстоятельства побудили нас к обширному теоретическому исследованию HOON [20]. Сложность расчетов усугублял выраженный многоконфигурационный характер волновой функции молекулы. Были использованы три различных уровня теории для описания коррелированного движения электронов: CCSD(T), CASPT2 и MR-AQCC. При экстраполяции к совершенному базисному набору (CBS) Даннинга используемые методы давали согласующиеся результаты по строению HOON, но существенно расходящиеся по энергетическим характеристикам. Расчет проводили для реакции $\text{HO}^\bullet + \text{NO}^\bullet \rightarrow \text{HOON}$, тепловой эффект которой равен прочности О-О связи в HOON с противоположным знаком. Найдено, что ΔE_{CBS} этой реакции равна -6.5 (CCSD(T)) и -8.7 (CASPT2) ккал/моль. Расчет в наиболее сложном приближении, но без CBS экстраполяции – MR-AQCC/*aug-cc-pVTZ* – дает $\Delta E_{\text{CBS}} = -10.5$ ккал/моль. Приведенный пример показывает, что даже высокоуровневые методы в сложных случаях не обеспечивают требуемой точности. Проблема была решена с помощью композитного расчета (см. ниже, п. 4.1). С учетом ZPE участников вышеприведенной реакции найдено, что $D(\text{HO-ON}) = 8.0$ ккал/моль, т.е. при столь большой длине О-О связь удивительным образом прочна настолько, что существование HOON в криогенных условиях вполне возможно [20]. Наши теоретические выводы были полностью подтверждены результатами прямой спектральной идентификации HOON с помощью микроволновой спектроскопии с Фурье-преобразованием и техники двойного резонанса [21]. На основании спектральных данных подтверждено уникальное строение

HOON с необычно длинной O-O связью. Позднее, в работе [22] с использованием обобщенного метода валентных связей дана ясная валентная картина химического связывания в HOON. Установлено, что в молекуле реализован по сути новый вид химической связи – дальнейшее взаимодействие неспаренных электронов, локализованных на терминальных атомах азота и кислорода, причем это взаимодействие усиливается неподеленной электронной парой на центральном атоме кислорода, $\text{H}-\text{O}^{\bullet}-\text{O}^{\bullet}-\text{N}$.

4. Комбинированные методы. В данную группу методов мы включили подходы, в которых реализован расчет энергосодержания молекул с одновременным использованием двух или более различных теоретических моделей или методов, описанных выше.

4.1. Композитные методы квантовой химии. Поскольку высокоуровневые методы, сочетающие в себе предельно полный учет электронной корреляции и совершенный базисный набор, требуют неприемлемых ресурсных затрат, был разработан ряд более экономичных вычислительных процедур. Вместо одного очень сложного и затратного расчета проводятся несколько более простых вычислений, моделирующих по инкрементной схеме последовательное усложнение расчета до высокоуровневого с помощью ряда поправок к умеренно сложному, базовому расчету. Такие методы получили название *композитных*. В популярном квантово-химическом пакете Gaussian реализовано несколько таких стандартных расчетных схем, разработанных научными группами Попла (Gn), Петерсона (CBS) и Мартина (W1) [23]. Композитные методы позволяют проводить прямые расчеты энергии молекул с высокой степенью точности ($\Delta E \leq 1$ ккал/моль). Но при этом они остаются достаточно ресурсоемкими: исследуемые химические системы, для которых возможно применение композитных методов, невелики – не более 10-15 тяжелых атомов (для W1 еще меньше).

Возможно использование и других композитных схем. Так для решения проблемы невоспроизводимости расчета энергии HOON (см. выше) нами был применен композитный расчет в программе CFOUR [20], моделирующий высокоуровневое приближение $E(\text{CCSDTQ}[\text{ae}]/\text{aug-cc-pVTZ})$ по следующей схеме:

$$\begin{aligned} E(\text{CCSDTQ}[\text{ae}]/\text{aug-cc-pVTZ}) &= E(\text{CCSDT}[\text{ae}]/\text{cc-pVTZ}) + \Delta E(\text{Q}) + \Delta E(+), \\ \Delta E(\text{Q}) &= E(\text{CCSDTQ}[\text{fc}]/\text{cc-pVDZ}) - E(\text{CCSDT}[\text{fc}]/\text{cc-pVDZ}), \end{aligned}$$

$$\Delta E(+) = E(\text{CCSD(T)}[ae]/\text{aug-cc-pVTZ}) - E(\text{CCSD(T)}[ae]/\text{cc-pVTZ}).$$

Найдено, что изменение полной энергии при образовании HOON при рекомбинации HO• и NO• радикалов равно $\Delta E_{\text{CBS}} = -9.3$ ккал/моль. Этот результат хорошо согласуется с данными многоконфигурационных расчетов (см. выше) и демонстрирует необходимость включения четверных возбуждений в кластерный оператор для получения надежных значений термодимических характеристик HOON.

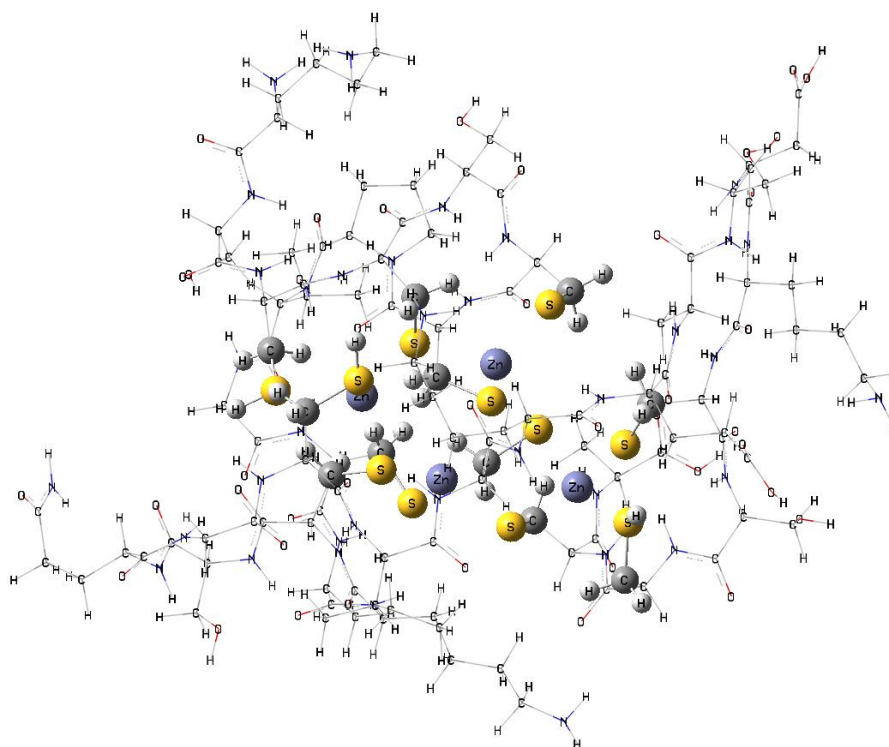


Рис. 1. Оптимизированная структура металлотионеина человека в комплексе с 4 ионами Zn^{2+} . Расчет в двухслойной модели MO:MM (B3LYP/DZP:UFF). Сферами обозначены атомы, включенные во внутренний слой MO (ионы цинка и остатки цистеинов). Аминокислотная цепочка, формирующая окружение ионов металла, описана с помощью силового поля.

4.2. Гибридные методы. При описании систем большого размера даже умеренно сложные приближения неприменимы из-за ресурсных ограничений. Для упрощения теоретической модели были разработаны гибридные подходы, в которых небольшая центральная часть исследуемой системы описывается умеренно сложным методом квантовой химии (МО), а остальная часть, формирующая окружение центра, моделируется более простым методом – полуэмпирическим (МО) или вообще с помощью силового поля (ММ). Наряду с двуслойными системами (МО:МО или МО:ММ) возможно деление системы на три слоя (МО:МО:ММ), каждый из

которых описывается в своем приближении. Гибридные методы нашли свое применение в материаловедении и при моделировании сложных биологических объектов. Точность расчета энергии в этих системах, как правило, невысока. В нашей исследовательской практике с помощью гибридных методов мы изучали [24] связывание ионов тяжелых металлов низкомолекулярными специфическими белками – металлотионеинами (рис. 1), в которых аминокислотная цепочка, насчитывающая «всего» 28-31 звеньев, способна аккумулировать 3-4 иона тяжелых металлов (Zn, Co, Cd и Pb).

4.3. *Термохимические методики вычислительной квантовой химии.* С развитием вычислительных методов современной квантовой химии появилось большое количество научных работ, предлагающих схемы, сочетающие *ab initio* или DFT расчеты и эмпирические модели оценки термохимических параметров органических молекул. В силу широкой распространенности аддитивных методов, простоты и хорошей точности, их альянс с квантовыми расчетами выглядел многообещающим. Однако, один из главных недостатков аддитивных схем – слишком большое число инкрементов с известными энтальпийными характеристиками – преодолеть не удалось. Во всех схемах подобного рода энтальпия образования вещества вычисляется по формуле:

$$\Delta_f H^\circ = H^\circ - \sum n_i \cdot \Phi_i, \quad (11)$$

H° – стандартная абсолютная энтальпия исследуемой молекулы, рассчитанная в выбранном квантово-химическом приближении; Φ_i – энтальпийный вклад i -го субструктурного элемента; n_i – количество таких вкладов в молекуле.

В контексте применимости аддитивных методов показательна работа Гатри [25], в которой для стандартного тестового набора из 180 соединений автор применил достаточно простой уровень теории (B3LYP//RHF/6-31G*) в четырех вариантах метода аддитивности: атомных эквивалентов (АЭ), модифицированных АЭ, связевых и групповых эквивалентов (СЭ и ГЭ). Энтальпийный вклад Φ в уравнении (11) соответствовал эффективной энтальпии атома, связи и группы, соответственно. В методе МАЭ Гатри расширенно трактовал понятие «атом», применяя его к фрагментам CH_3 , CH_2 , CH , NO_2 и т.д. В целом, точность модели при укрупнении субструктурного

элемента закономерно увеличивалась, однако, при этом росло и число инкрементов схемы:

Аддитивный метод:	АЭ	МАЭ	СЭ	ГЭ
Число инкрементов схемы (Φ_i):	12	18	32	79
Стандартное отклонение, ккал/моль	2.64	1.97	1.72	1.26

Если для сравнительно простых 180 соединений метод ГЭ требует 79 параметров, то очевидно, что для описания многообразия химического строения органических соединений необходимо огромное число инкрементов, что делает такую схему малофункциональной. Значительно более удобным для термохимических расчетов в комбинации с квантово-химическим подходом является сравнительный метод. Для произвольной реакции сравнения, в которой исследуемое вещество X является одним из реагентов, стандартная энтальпия образования рассчитывается по уравнению:

$$\Delta_f H^\circ(X) = H^\circ(X) + \sum \nu_p \cdot \Phi_p - \sum \nu_n \cdot \Phi_n, \quad (12)$$

где $\Phi_i = H^\circ(i) - \Delta_f H^\circ(i)$, индексы «р» и «п» относятся к реагентам и продуктам, соответственно. Существенно, что, в отличие от метода аддитивности, где энтальпийный вклад Φ суть эффективная величина, в сравнительном методе Φ имеет ясный физический смысл и точное значение в рамках выбранного квантово-химического приближения. В качестве реакции сравнения можно использовать реакцию атомизации (АР), произвольную реакцию (ПР), изо- или гомодесмическую реакцию (ИДР и ГДР). В результате тщательного термохимического анализа 89 соединений тестового набора и 10 квантово-химических приближений, от самых простых до композитных, показано [26], что

– усложнение квантово-химического приближения закономерно улучшает точность термохимических оценок (оценено по величине среднего абсолютного отклонения, MAD) независимо от выбранной реакции сравнения. Также закономерно уменьшается величина максимальной ошибки расчета (MAX);

– нет разумной альтернативы методу ГДР. Надежность метода настолько высока, что для изученного тестового набора величина MAD для всех уровней теории не превышает 1 ккал/моль, уменьшаясь до 0.4 ккал/моль при использовании композитных процедур.

В качестве примера в табл. 2 приведены результаты расчета $\Delta_f H^\circ$ метилформиата. Видно, что высокоуровневый метод расчета (компаративные методы G3 и G4) нетребователен к типу реакции сравнения. С другой стороны, гомодесмическая методология позволяет использовать более простые уровни теории без существенной потери точности расчета.

Таблица 2. Расчет стандартной энтальпии образования метилформиата (ккал/моль), $X = \text{HCOOCH}_3$ с использованием различных реакций сравнения и уровней квантово-химического расчета

	Реакция сравнения	B3LYP	M06-2X	G3	G4	*
АР	$X \rightarrow 4\text{H} + 2\text{C} + 2\text{O}$	-82.3	-85.7	-86.2	-85.9	1.8
ПР	$X \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$	-86.8	-88.7	-85.1	-85.4	1.6
ИДР	$X + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HCOOH} + \text{CH}_3\text{OH}$	-82.6	-84.5	-86.1	-85.8	1.6
ГДР	$X + \text{MeCOOH} \rightarrow \text{MeCOOMe} + \text{HCOOH}$	-85.8	-84.8	-85.5	-85.5	0.4
	Стандартное отклонение по реакции	2.3	1.9	0.5	0.2	

* Стандартное отклонение по методам расчета.

B3LYP = B3LYP/6-31G(d); M06-2X = M06-2X/cc-pVTZ.

В практике термохимических расчетов для исследуемого соединения подбирают одно, реже – два-три гомодесмических уравнения. При таком подходе есть возможность получения ошибочной величины термохимической характеристики, если, например, энергия реперного соединения определена неточно. Более надежным является использование согласованного набора ГДР, обеспечивающего возможность проверки воспроизводимости расчетов, анализа причин отклонений, что повышает достоверность теоретического определения термодинамической характеристики. В общем случае количество ГДР, которые могут быть использованы для исследуемого соединения, бесконечно. Принимая те или иные ограничения по способу формирования ГДР, можно свести их число в полном наборе к конечной величине. При этом, однако, исследователь сталкивается с двумя проблемами: во-первых, с рутинной обработкой больших массивов информации, во-вторых, с появлением взаимосогласованных ГДР, т.е. формальных реакций, являющихся простой комбинацией двух (или

более) других ГДР, входящих в используемый набор. Эти проблемы решены нами [27, 28] с помощью автоматизированного алгоритма получения реакций разделения групп (РРГ – разновидность ГДР), основанного на теоретико-графовом представлении анализируемых структур. Исследуемая молекула представляется в виде графа внутренних групп, которому соответствует матрица смежности внутренних групп. Последовательное обнуление элементов матрицы смежности позволяет сформировать независимый полный набор ГДР для исследуемого соединения.

Достоинства гомодесмического метода и особенности его применения иллюстрированы результатами расчета $\Delta_f H^\circ$ тестового набора ациклических органических соединений различных классов [27].

Таблица 3. Средние абсолютные и максимальные отклонения при расчете $\Delta_f H^\circ$ органических соединений с помощью полного набора ГДР (ккал/моль)

Класс	Число соединений	А		В		С	
		MAD	MAX	MAD	MAX	MAD	MAX
Углеводороды	16	0.48	1.22	0.43	1.15	0.26	1.05
Спирты и простые эфиры	20	0.43	1.84	0.48	1.10	0.36	1.41
Карбонильные соединения	7	0.55	0.93	0.36	0.67	0.62	0.98
Амины, амиды, нитрилы	10	0.72	1.82	0.72	1.17	0.62	1.29
Всего	53	0.53		0.50		0.41	

А: B3LYP/6-31G(d); В: M06-2X/cc-pVTZ; С: G3.

Авторский подход применим не только для расчетов энтальпий образования органических соединений. Физический смысл идеальной ГДР заключается в балансе всех энергетических валентных и невалентных взаимодействий в реагентах и продуктах формальной реакции, что приводит к общему термохимическому балансу. Следовательно, при несоблюдении

Таблица 4. Энергии напряжения цикла E_s и энергия *gauche*-взаимодействий E_{gauche} (ккал/моль) для производных циклопропана и циклопропена

Соединение	E_s			E_{gauche}
	Лит. данные	G3	G4	G4
Циклопропен	(53.78) ^a	55.28 ± 0.17	54.90 ± 0.17	–
Циклопропан	27.65 ± 0.10	28.35 ± 0.14	27.75 ± 0.17	–
Метиленциклопропан	–	39.60 ± 0.12	39.48 ± 0.05	0.41 ± 0.10
1-Метилциклопропен	–	55.19 ± 0.29	55.00 ± 0.26	–
Этинилциклопропан	–	27.53 ± 0.05	27.08 ± 0.05	-0.50 ± 0.05
Винилциклопропан	–	28.15 ± 0.10	27.80 ± 0.12	–
Метилциклопропан	27.46 ± 0.07	28.20 ± 0.07	27.77 ± 0.07	0.48 ± 0.07
1,2-Диметилциклопропан	28.08 ± 0.10	28.15 ± 0.29	27.87 ± 0.24	0.50 ± 0.02
1,1-Диметилциклопропан	28.06 ± 0.07	28.01 ± 0.10	27.37 ± 0.19	0.45 ± 0.05
Дициклопропил	55.02 ± 0.05	56.33 ± 0.10	55.71 ± 0.10	0.55 ± 0.02
Спиропентан	64.27 ± 0.10	63.34 ± 0.17	64.05 ± 0.22	0.60 ± 0.02
Бициклобутан	65.89 ± 0.10	68.09 ± 0.22	67.26 ± 0.22	0.53 ± 0.02
Этинилциклобутан	(26.29) ^a	25.88 ± 0.07	25.86 ± 0.10	-0.53 ± 0.07

^a Поправка на энергию напряжения цикла в методе Бенсона [1].

какого-либо баланса тепловой эффект ГДР становится энергетической характеристикой некомпенсированных взаимодействий. Одной из проблем теоретических методов определения термодинамических характеристик органических соединений является сложность учета невалентных взаимодействий стерического происхождения. Так, в хорошо сконструированном аддитивно-групповом методе термодинамических инкрементов Бенсона [1] невалентные эффекты (1,4-, 1,5-взаимодействия, энергии напряжения циклов) учитываются в виде поправок, причем зачастую оценочной величины, что нарушает стройность расчетной схемы Бенсона. Развиваемая нами концепция РРГ позволяет надежно изучать невалентные стерические эффекты путем конструирования полного набора ГДР с некомпенсированными валентными взаимодействиями. Эта задача решена

на примере стерического эффекта циклических соединений. Действительно, энергия напряжения цикла (E_s) – фундаментальная характеристика циклического органического соединения, во многом определяющая химические свойства вещества. Надежное прямое определение E_s экспериментальными методами невозможно. Объектами исследования выбраны 12 углеводов, содержащих трехчленные насыщенные и ненасыщенные циклы. В ряде ГДР декомпозиция исследуемого соединения приводит к разветвленным ациклическим соединениям. Поэтому, в общем случае тепловой эффект ГДР определяется разностью энергии напряжения E_s циклического соединения и суммарной энергии sp^3 - sp^3 *гош*-взаимодействий в продуктах ГДР. Установлено выполнение правила аддитивности для *гош*-эффекта, что позволило определить величину E_s в исследуемых соединениях и проследить ее зависимость от особенностей строения C_3 -циклических углеводов.

Таким образом, нами разработан комбинированный метод высокоточного определения энергетических характеристик органических соединений, сочетающий рутинные квантово-химические вычисления в простых, умеренно сложных и сложных приближениях и оригинальную методику структурной декомпозиции химических соединений с помощью теории графов. Предлагаемый метод использует принцип максимального подобия исследуемого соединения и соединений сравнения. Кроме сохранения термохимического баланса реакций сравнения, данный подход в приложении к квантово-химическим вычислениям позволяет эффективно компенсировать основные погрешности простых и умеренно-сложных уровней теории (электронная корреляция, несовершенство базисного набора) при расчете структурно-подобных реагентов и продуктов ГДР. В целом, авторская методология позволяет

- генерировать полный набор независимых ГДР для исследуемого соединения;
- контролировать воспроизводимость термохимических оценок, т.е. надежность измерений;
- обоснованно выявлять недостоверные экспериментальные данные;
- упрощать квантово-химический уровень теории, что позволяет распространить гомодесмический метод на химические системы большого размера;

- анализировать как энтальпийные характеристики вещества, так и невалентные эффекты строения;
- алгоритмизировать рутинные вычисления.

Все вычисления проводили на оборудовании центра коллективного пользования «Химия» Уфимского Института химии УФИЦ РАН. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 18-07-00584 А, а также в рамках Государственного задания по теме НИР УФИХ УФИЦ РАН АААА-А17-117011910028-7 (серийный номер 0246-2018-0018).

ЛИТЕРАТУРА

1. Benson S.W. *Thermochemical Kinetics. Methods for the Estimation of Thermochemical Data and Rate Parameters. Second Edition.* New York: John Wiley & Sons, 1976, 320 p.
2. Pedley J.B., Naylor R.D., Kirby S.P. *Thermochemical Data of Organic Compounds.* London: Chapman & Hall, 1986, 792 p.
3. Хурсан С.Л. // *Баш. хим. журнал*, 1995, Т.2, №3-4, С.50-54.
4. Хурсан С.Л. // *Баш. хим. журнал*, 1996, Т.3, №4, С.51-55.
5. Хурсан С.Л. // *Баш. хим. журнал*, 1997, Т.4, №1, С.37-41.
6. Комиссаров В.Д. *Энтальпии образования ROH, ROOH, ROOOH и соответствующих оксильных радикалов: Препринт доклада.* Уфа: Ин-т химии БНЦ УрО АН СССР, 1989, 22 с.
7. Hehre W.J., Radom L., Schleyer P.v.R., Pople J.A. *Ab Initio Molecular Orbital Theory.* New York: John Wiley, 1986, 548 p.
8. International Union of Pure and Applied Chemistry. *Compendium of Chemical Terminology (Gold Book).* Version 2.3.3, 2014-02-24.
9. Хурсан С.Л., Антоновский В.Л. // *Изв. Академии наук. Сер. Хим.*, 2003, №6, С.1241-1253.
10. Dewar M.J.S., Zoebisch E.G., Healy E.F. // *J. Amer. Chem. Soc.*, 1985, V.107, P.3902-3909.
11. Stewart J.J.P. // *J. Comp. Chem.*, 1989, V.10, P.209-220.
12. Stewart J.J.P. // *J. Mol. Model.*, 2007, V.13, P.1173-1213.
13. Буркерт У., Эллинджер Н. *Молекулярная механика.* Пер. с англ., М.: Мир, 1986, 364 с.
14. Денисов Е.Т. // *Усп. химии*, 1997, Т.66, С.953-971.
15. Denisov E.T., Denisova T.G., Pokidova T.S. *Handbook of Free Radical Initiators.* Hoboken: John Wiley & Sons, 2003, 879 p.

16. Luo Yu-Ran *Handbook of Bond Dissociation Energies in Organic Compounds*. Boca Raton: CRC Press, 2003, 362 p.
17. Хурсан С.Л. // Кинет. Катал., 2016, Т.57, С.164-175.
18. Ovchinnikov M.Yu., Masyagutova G.A., Khursan S.L. // *J. Fluorine Chem.*, 2018, V.209, P.1-5.
19. Talipov M.R., Khursan S.L., Safiullin R.L. // *J. Phys. Chem. A*, 2009, V.113, P.6468-6476.
20. Talipov M.R., Timerghazin Q.K., Safiullin R.L., Khursan S.L. // *J. Phys. Chem. A*, 2013, V.117, P.679-685.
21. Crabtree K.N., Talipov M.R., Martinez O., O'Connor G.D., Khursan S.L., McCarthy M.C. // *Science*, 2013, V.342, No.6164, P.1354-1357.
22. Takeshita T.Y., Dunning T.H. // *J. Phys. Chem. A*, 2016, V.120, P.6846-6850.
23. Foresman J.B., Frisch А. *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods, 3rd ed.* Wallingford, CT: Gaussian, Inc., 2015.
24. Peshkov S.A., Khursan S.L. // *Comput. Theor. Chem.*, 2017, V.1106, P.1-6.
25. Guthrie J.P. // *J. Phys. Chem. A*, 2001, V.105, P.9196-9202.
26. Хурсан С.Л. // *Вестник Баш. ун-та*, 2014, Т.19, С.395-401.
27. Хурсан С.Л., Исмагилова А.С., Ахмеров А.А., Спивак С.И. // *Ж. физ. химии*, 2016, Т.90, С.569-575.
28. Хурсан С.Л., Исмагилова А.С., Спивак С.И. // *Докл. Академии наук*, 2017, Т.474, С.454-457.
29. Ахметшина Е.С., Хурсан С.Л. // *Изв. Академии наук. Сер. Хим.*, 2019, в печати.

ФОТОДИНАМИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ. КИНЕТИКА ГИБЕЛИ РЯДА МУЗЕЙНЫХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ И КРАСНОГО СВЕТА

Сторожок Н.М., Тимохина Т. Х., Паромова Я. И.

Кафедра химии, кафедра микробиологии . Тюменский государственный медицинский университет Минздрава России Ул. Одеская 54. г. Тюмень, 625023. Россия Тел./ факс: (3452) 20-74-21, E-mail: storozhoknm@tyumsmu.ru

Аннотация

Экспериментально изучена кинетика гибели эталонных музейных штаммов микроорганизмов в результате фотодинамического действия красного света и ряда нетоксичных фотосенсибилизаторов в процессе водоподготовки воды. В качестве объектов исследования использовали прокариотические клетки *Escherichia coli* ATCC 35218, клетки эукариотов *Candida albicans* ATCC 24433. Фотосенсибилизаторами служили эозин Н, флуоресцеин натрия, метиленовый синий и рибофлавин (витамин В₂) в концентрациях 10 мг/л. Установлен фотодинамический эффект в отношении клеток микроорганизмов, приводящий к их гибели в присутствии фотосенсибилизаторов и красного света. Показано, что наиболее эффективными в отношении эукариотов (на примере *Candida albicans* ATCC 24433) являются рибофлавин и флуоресцеин, способствующие уменьшению количества колоний клеток за 2 часа наблюдений более чем в 3,0 и 11,0 раз, соответственно. Установлено, что гибель прокариотических клеток на примере *Escherichia coli* ATCC 35218 наиболее эффективно вызывают метиленовый синий, рибофлавин (витамин В₂). За 2 часа наблюдений в их присутствии за счет фотодинамического действия происходит уменьшение микрофлоры в 36,0 и 90,0 раз, соответственно. Фотодинамический эффект эозина в отношении исследуемых микроорганизмов был наименьшим, что объясняется особенностями его химической структуры, включающей фенольные группы, которые, как известно, проявляют антиоксидантное действие. Показано, что флуоресцеин и метиленовый синий наиболее перспективны для эффективного летального действия в отношении патогенной микрофлоры в воде бассейнов. Для водоподготовки питьевых вод, используемых для приготовления пищи и напитков в общественном, в том числе дошкольном и школьном питании наиболее эффективен рибофлавин, что позволит не только исключить возможность массовых отравлений, но и обеспечить со стаканом воды потребление суточной нормы витамина В₂.

Введение

Нередко отмечаются случаи массового пищевого отравления людей в результате нарушения гигиенических требований к воде, используемой для

приготовления пищи. Каждый случай массового отравления в общественном питании вызывает широкое обсуждение. Вода, используемая в пищевых целях, требует специальных процедур водоподготовки, обеспечивающих гибель микроорганизмов. Одним из новых перспективных способов борьбы с микробиологическим загрязнением воды наряду с хлорированием и озонированием является применение фотодинамического метода, предусматривающего использование света и фотосенсибилизаторов. В основе метода лежит фотоиндуцированное сенсибилизатором образование активных форм кислорода, которые вызывают активацию свободнорадикальных процессов окисления, приводящих к гибели патогенных микроорганизмов.

Начало исследований фотодинамического эффекта связано с работами О. Рааб и Г. фон Таппейнера [1, 2], которые в 1897 году обнаружили, что инфузории и другие простейшие, окрашенные производными акридина, останавливают рост и погибают при освещении. Это явление было названо фотодинамическим эффектом (действием) (ФД), что обозначало влияние света на динамику роста клеток, их подвижность и гибель. Вскоре было показано, что для фотодинамического повреждения клеток кроме красителя и света нужен кислород. Фотодинамический эффект обнаружен у всех живых организмов. В течение 20 столетия изучены первичные механизмы фотодинамической гибели клеток, представленные в обзорах [3, 4]. Показано, что у прокариот в результате фотодинамического действия индуцируются множественные повреждения: утрата способности формировать колонии, повреждение ДНК, белков, клеточных мембран. Для проявления фотодинамического эффекта необходимо присутствие фотосенсибилизатора - вещества, повышающее чувствительность тканей и клеток к свету. Критическим эффектом воздействия фотосенсибилизатора является образование в организме активных форм кислорода, действие которых в результате фотоокисления большинства биологически значимых структур: липидов биологических мембран, аминокислот (метионина, гистидина, триптофана и др.), нуклеозидов полисахаридов приводит к повреждению и гибели клеток.

Выделяют два типа фотодинамических процессов. В фотодинамическом эффекте I типа фотовозбужденные молекулы сенсибилизаторов S переходят в возбужденное синглетное состояние $1S^*$, а затем в долгоживущее

триплетное состояние $3T^*$ и реагируют с субстратом RH и молекулами среды, в частности, с водой. При этом образуются промежуточные свободнорадикальные интермедиаты, которые затем взаимодействуют с кислородом и дают сложную смесь высокоактивных продуктов радикальной природы, которые продолжают реакции свободнорадикального окисления и повреждают биоструктуры. Одним из повреждающих факторов является синглетный кислород 1O_2 , который может разрушать клетки в непосредственной близости от молекул фотосенсибилизаторов. Окислительная способность синглетного кислорода на 2 порядка выше, чем обычного кислорода. Он может повреждать все основные компоненты клеток. В нуклеиновых кислотах он атакует в основном пару тимин и урацил, а также вызывает поперечные сшивки ДНК-ДНК или ДНК-белок, односторонние разрывы ДНК. Эти воздействия усугубляются тем, что ферменты, репарирующие ДНК, особенно чувствительны к синглетному кислороду. Однако, в интерфазных клетках ДНК не является первоочередной мишенью для ФД воздействия, т.к. фотосенсибилизаторы обычно локализуются в цитоплазме и не проникают в ядро [3,4]. В белках легче всего фотоокисляются дисульфидные связи, образуемые цистеином, глутатионом, липоевой кислотой. Также фотоокислению подвержены гистидин, тирозин, триптофан и фенилаланин, особенно, если они расположены на поверхности глобул и доступны для фотосенсибилизатора. Они обычно играют ключевую роль в ферментативной активности, и поэтому белки очень чувствительны к фотодинамическому воздействию. Белки теряют активность в результате фотоиндуцированного нарушения структуры активного центра, внутренних сшивок или межмолекулярных сшивок с другими белками, липидами, РНК и ДНК. В фотодинамических реакциях I типа радикальные пары, образующиеся при переносе электронов, относительно стабильны в водной среде, где обратный перенос электронов затруднен. В неполярных липидных средах время жизни и растворимость 1O_2 выше. Следовательно, фотодинамические реакции I типа легче протекают в цитозоле, а II типа – в липидной фазе биомембран. Таким образом, фотодинамические реакции с участием гидрофильных фотосенсибилизаторов преимущественно протекают по первому типу, а гидрофобных – по второму. Реакции II типа доминируют в повреждающем действии большинства фотосенсибилизаторов, включая порфирины, хлорины, фталоцианины и т.д. Развитие окислительного стресса,

нарушение функций клеток и, в итоге, их гибель обусловлены интенсивной генерацией активных форм кислорода: суперсокидного анион-радикала (O_2^-), гидроксильного, гидропероксильного радикалов ($OH\bullet$, $HO_2\bullet$), пероксида водорода (H_2O_2), синглетного кислорода (1O_2). Фотодинамический эффект проявляется как при УФ-облучении, но особенно эффективно свет действует в красном диапазоне длин волн (620-780) нм. С 1903 г. началось изучение потенциальной терапевтической ценности фотодинамического эффекта, впервые был вылечен рак кожи с помощью окрашивания эозином и освещения ярким солнечным светом [5], с 1970 г. фотодинамическая терапия получила достаточно широкое применение для лечения опухолей, обзоры [6, 7], в лечении заболеваний пародонта [8-15].

В качестве фотосенсибилизаторов применяют метиленовый зеленый, акридиновый оранжевый и профлавин, метиленовый синий и толуидиновый синий, индоцианиновый зеленый, бенгальский розовый, эозин, куркумин, хлорин, порфирины, фталоцианины, халькоген-содержащие бензофеноксациновые красители, конъюгаты наночастиц с метиленовым синим, порфирином или хлорином е. Наиболее эффективны катионные фотосенсибилизаторы, поскольку положительный заряд усиливает взаимодействие красителя с отрицательно заряженной поверхностью микроорганизма.

В последние годы широко исследуется фотодинамический эффект в целях очистки питьевой воды, контроля за микробной загрязненностью аквариумов и бассейнов [16-21].

В настоящей работе представлен опыт инактивации ряда микроорганизмов в воде за счет фотодинамического эффекта с использованием красного света и ряда нетоксичных фотостабилизаторов в процессе водоподготовки воды для пищевых целей.

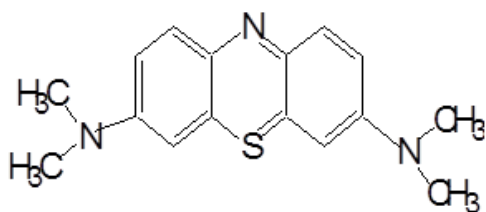
Изучали динамику роста и гибели эталонных музейных штаммов микроорганизмов разных типов: прокариотических клеток, *Escherichia coli* ATCC 35218 а также клеток эукариотов *Candida albicans* ATCC 24433.

Бактерия *Escherichia coli* (*E. coli*) обнаруживается в кишечнике людей и теплокровных животных. Большинство штаммов *E. coli* безвредны, однако некоторые штаммы, например, O157:H7, O121, O104:H4 и O104:H21, синтезируют потенциально смертельные токсины, могут при низкой гигиене приготовления пищи способствовать заражению человека алиментарным

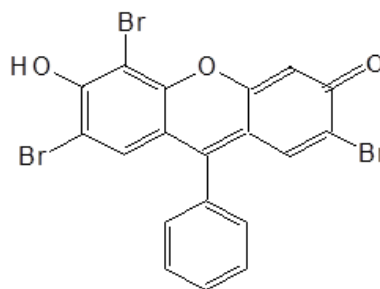
путём. Способность вирулентных штаммов некоторое время выживать в окружающей среде делает их важным индикатором для исследования наличия следов фекальных загрязнений в воде.

Представителей рода *Candida* (в первую очередь — *Candida albicans*) относят к условно-патогенным разновидностям грибковой инфекции. Микроорганизмы рода *Candida* входят в состав нормальной микрофлоры рта, пищевода, влагалища и толстой кишки большинства здоровых людей. Заболевание обусловлено не просто наличием грибов рода *Candida*, а их размножением в большом количестве или попаданием более патогенных штаммов гриба. Чаще всего кандидоз возникает у людей при снижении общего и местного иммунитета.

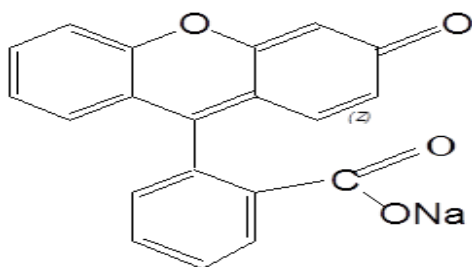
В качестве сенсibilизаторов использовали метиленовый синий (I), эозин (II), флуоресцеин натрия (III) и рибофлавин (витамин B₂) (IV). Формулы соединений приведены на схеме 1.



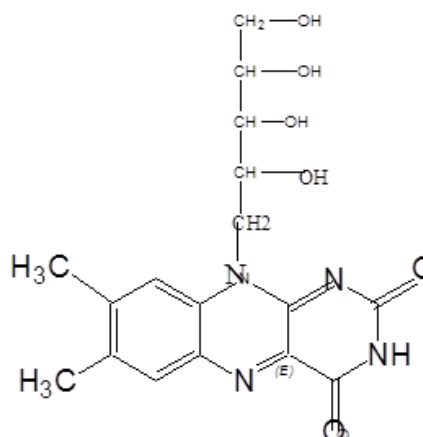
Метиленовый синий (I)



Эозин (II)



Флуоресцеин натрия (III)



Рибофлавин (витамин B₂) (IV)

Схема 1. Формулы фотосенсибилизаторов

Изучаемые соединения применяются в медицине, как правило, в качестве антисептических, противомикробных препаратов. Флуоресцеин широко

используется как диагностическое средство для выявления поражений роговой оболочки глаза, препарат для флюоресцентной ангиографии [22].

Экспериментальная часть. В стерильной посуде готовили культуру микроорганизмов. В каждую колбу с контролем и опытом вносили равное количество микроорганизмов (1,5 тыс/мл для *Candida albicans* ATCC 24433 и 75,0 тыс/мл для опытов с *Escherichia coli* ATCC 35218). В колбы со стерильным физиологическим раствором добавляли в сравнимых концентрациях 10 мг/л один из фотосенсибилизаторов: метиленовый синий (I), эозин (II), флуоресцеин (III) и рибофлавин (IV). Содержимое реакционных сосудов перемешивалось, что обеспечивало высокую концентрацию кислорода в жидкости.

Колбы помещались под лампу, излучающую красный свет с длиной волны (620-780 нм), мощностью 250 Вт. В опытах (облучение светом в присутствии фотосенсибилизатора) и контроле (облучение красным светом) в одно и то же время отбирались пробы 0,1 мл, которые равномерно наносились в чашку Петри с питательной средой (мясной бульон + агар). Мясо-пептонный агар готовился заранее, расплавлялся в водяной бане, а затем охлаждался до 40°C. Из реакционных колб стерильной пипеткой отбирались пробы через 2, 5, 10, 20, 30, 40, 60 и 120 мин, вносились в стерильные чашки Петри с мясо-пептонным агаром, проба тщательно растиралась по всей поверхности стерильной петлей. Чашки Петри помещались вверх дном в термостат на 48 часов. Через 48 часов производили подсчет колоний на поверхности и в глубине агара. В каждой из контрольных точек достоверность разности средних показателей определялась по критерию Стьюдента [23].

Результаты и их обсуждение

При изучении влияния фотосенсибилизаторов на *Candida albicans* ATCC 24433 и *Escherichia coli* ATCC 35218 было показано, что без облучения количество микроорганизмов *Candida albicans* в течение 2 часов наблюдения уменьшается на 10-12% (рис. 1 а), для *Escherichia coli* на 20% (рис. 1, б). При экспозиции проб в потоке красного света без фотосенсибилизатора для упомянутых микроорганизмов происходит снижение количества колоний в 3,0 и 1,5 раза, соответственно. (рис 1, а, б).

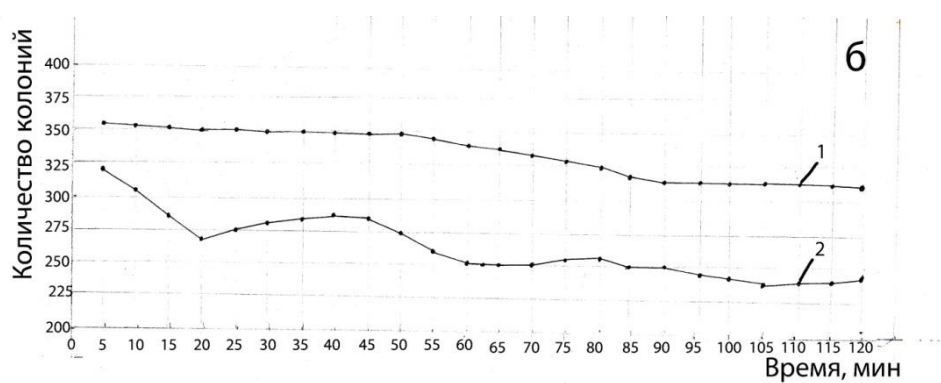
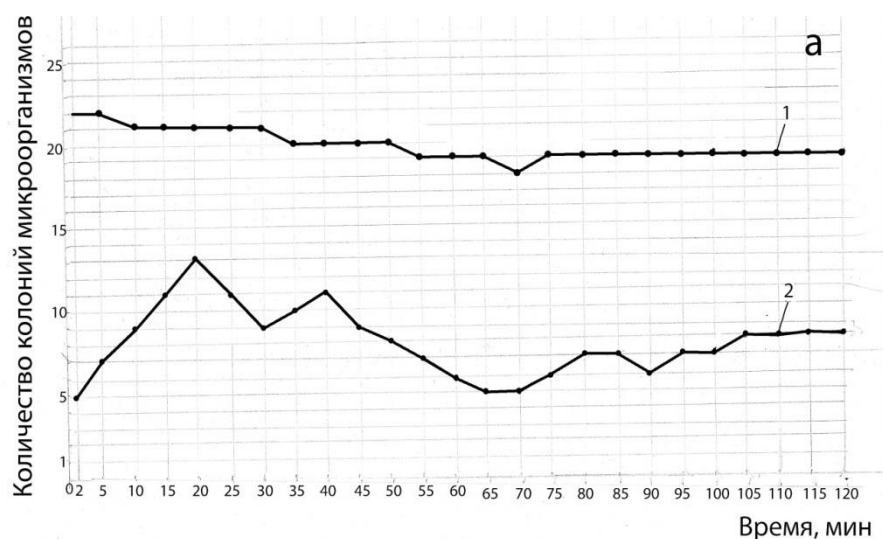


Рис. 1а Динамика изменения количества микроорганизмов *Candida albicans* ATCC 24433 по действием красного света. $T = 20^{\circ}\text{C}$, скорость перемешивания 100 об/мин.
 Рис. 1 б Динамика изменения количества микроорганизмов *Escherichia coli* ATCC 35218 под действием красного света. $T = 20^{\circ}\text{C}$, скорость перемешивания 100 об/мин.

Снижение количества колоний микроорганизмов под влиянием красного цвета объясняется фотодинамическим эффектом, обусловленным присутствием в клетках эндогенных фотосенсибилизаторов, к которым относят гемоглобин, порфирины, входящие в состав ряда ферментов и витаминов.

В присутствии экзогенных фотосенсибилизаторов происходит более существенное снижение количества микроорганизмов. Сравнение между собой ряда фотосенсибилизаторов позволило установить различия в их действии. На фото 1 показано количество колоний *Candida albicans* ATCC 24433 при 2 часовой экспозиции проб в красном свете в присутствии флюоросцеина (III), эозина (II) и метиленового синего (I).

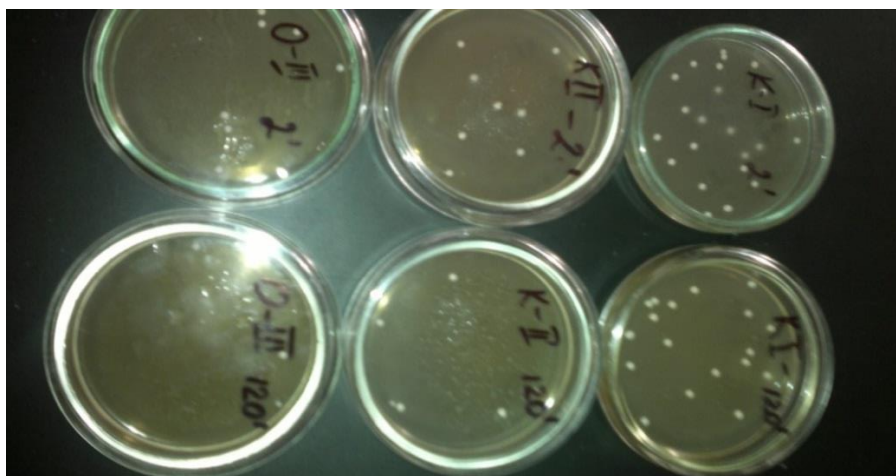


Фото 1 Влияние метиленового синего (I) (справа), эозина (II) (в центре) и флуоресцеина (III) (слева) при облучении красным светом на динамику роста колоний *Candida albicans* ATCC 24433. Концентрация фотосенсибилизатора 0,10 мг/л; Время экспозиции 2 часа. Красный свет ($\lambda=620-780$ нм), мощность лампы 250 Вт. $T=20^{\circ}\text{C}$, скорость перемешивания 100 об/мин.

На фото 1 видно, что фотодинамическое действие красителей отличается между собой, флуоресцеин в сравнении с метиленовым синим и эозином производит практически полное летальное действие. При этом эффективность ФД очевидна уже через 2 мин наблюдения (фото 2). В опыте с метиленовым синим количество колоний снижается в 1,7 раза, а в пробах с флуоресцеином – в 11,0 раз.

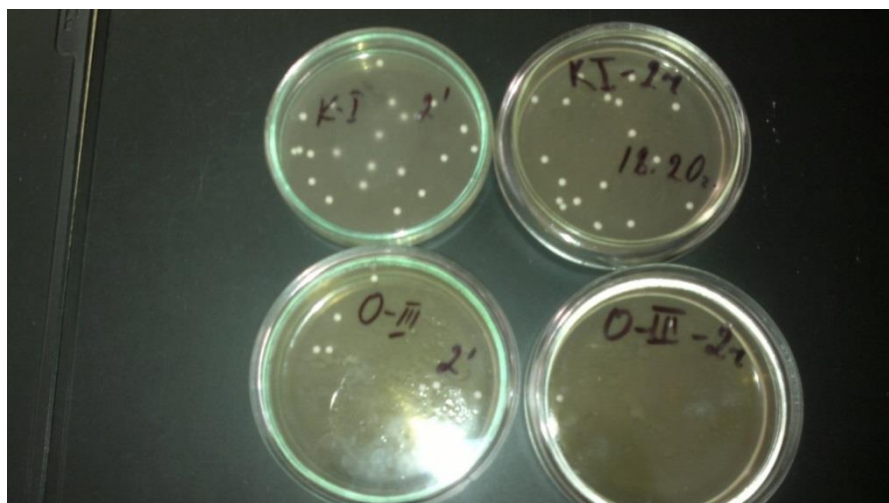
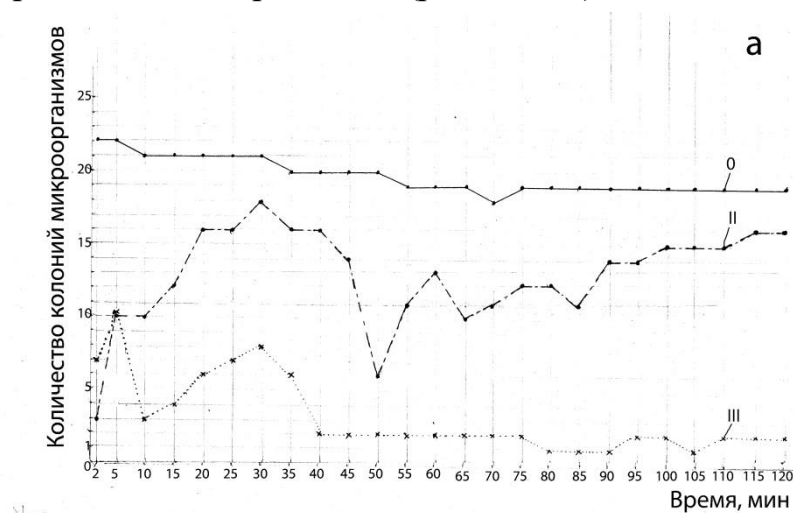


Фото 2 Влияние метиленового синего (I) (вверху) и флуоресцеина (III) (внизу) на динамику роста колоний *Candida albicans* ATCC 24433 при облучении 2 мин (слева), 2 часов (справа). Концентрация фотосенсибилизатора 0,10 мг/мл; Красный свет($\lambda=620-780$ нм), мощность лампы 250 Вт. T= 20°C, скорость перемешивания 100 об/мин.

Видно, что в присутствии флуоресцеина за 2 часа экспозиции удается добиться практически полной гибели микроорганизмов (фото 2). Изучение кинетики роста эукариотических клеток *Candida albicans* ATCC 24433 в присутствии исследуемых фотосенсибилизаторов показало, что ФД проявляют все красители (рис. 2, а, б).



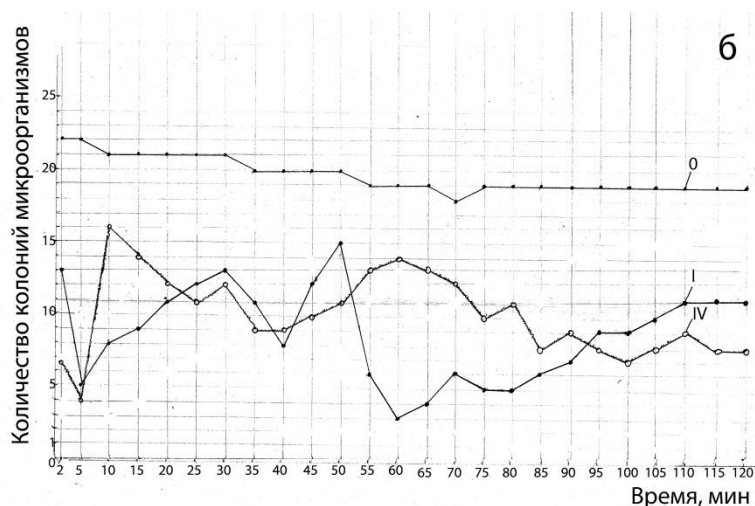


Рис. 2 а) Зависимость изменений количества клеток *Candida albicans* ATCC 24433 без красителя

(0), в присутствии эозина (II), флуоресцеина (III). Облучение красным светом ($\lambda=620-780$ нм), мощность лампы 250 Вт. Концентрация фотосенсибилизатора 0,10 мг/мл; $T=20^{\circ}\text{C}$, скорость перемешивания 100 об/мин.

Рис. 2 б) Зависимость изменений количества клеток *Candida albicans* ATCC 24433 без красителя

(0), в присутствии метиленового синего (I), рибофлавина (IV). Облучение красным светом ($\lambda=620-780$ нм), мощность лампы 250 Вт. Концентрация фотосенсибилизатора 0,10 мг/л; $T=20^{\circ}\text{C}$, скорость перемешивания 100 об/мин.

Из рис. 2, а видно, что эозин оказался наименее эффективным. Очевидно, что это связано с особенностями химического строения соединения. В структуре эозина имеются фенольные группы, которые, как известно, действуют как антиоксиданты, способные непосредственно взаимодействовать со свободными радикалами [24, 25], что приводит к снижению интенсивности свободнорадикальных процессов. Уменьшение количества активных форм кислорода ведет к уменьшению ФД. Действие метиленового синего и рибофлавина сравнимо между собой, флуоресцеин наиболее эффективен, приводит практически полной гибели микроорганизмов. (рис. 2, а). Указанные выше красители уступали флуоресцеину в среднем на 30% (рис 2).

Кинетика гибели клеток *Escherichia coli* ATCC 35218 с исходной концентрацией 75 тыс/мл в присутствии метиленового синего (I), эозина (II), флуоресцеина (III), рибофлавина(IV) приведена на рис. 3.

Из анализа рис. 3 следует, что эозин приводит к гибели клеток *Escherichia coli* ATCC 35218 только в первые 20 мин наблюдений, через час и до конца наблюдений их количество становится более высоким, чем в контроле.

Причины низкой эффективности эозина объясняются ингибирующим действием фенольной группы, тормозящей развитие свободнорадикального окисления [24, 25], а, следовательно, и ФД фотосенсибилизатора.

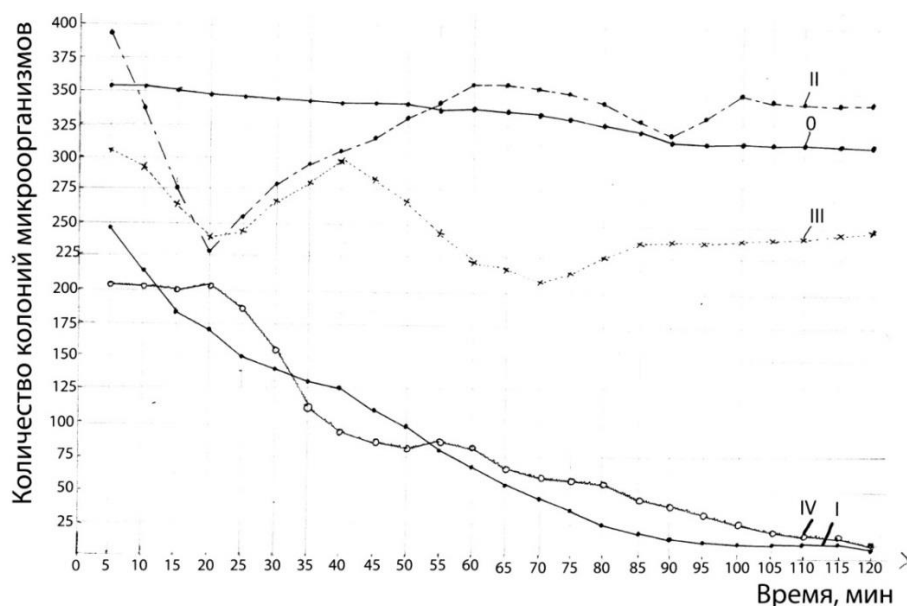


Рис. 3 Зависимость изменений количества клеток *Escherichia coli* ATCC 35218, исходная концентрация 75 тыс./мл, без красителя (0), в присутствии метиленового синего (I), эозина (II), флуоресцеина (III), рибофлавина(IV). Концентрация фотосенсибилизатора 100 мг/л; Облучение красным светом ($\lambda=620-780$ нм), мощность лампы 250 Вт. $T=20^\circ\text{C}$, скорость перемешивания 100 об/мин.

При изучении ФД ряда фотосенсибилизаторов установлено, что флуоресцеин в отношении *Escherichia coli* ATCC 35218 в концентрации 100 мг/л значительно менее эффективен, нежели в концентрации 10 мг/л в отношении клеток *Candida albicans* ATCC 24433. Так, за 2 часа наблюдений количество клеток прокариотов снижается в 1,5 раза, тогда как в тех же условиях уровень эукариотов уменьшается в 11,0 раз. Недостатком флуоресцеина является его низкая растворимость в воде и появление окраски раствора даже при низкой концентрации 10 мг/л. Указанные свойства уменьшают перспективы его применения для обеззараживания воды в бассейнах и для целей водоподготовки воды для пищевых целей.

В отношении *Escherichia coli* ATCC 35218 метиленовый синий и рибофлавин, вносимые в концентрации 100 мг/л оказывают наиболее эффективное летальное действие (рис. 3). Указанные фотосенсибилизаторы за 2 часа наблюдений уничтожают практически 100 % микроорганизмов, вносимых исходно в относительно высоких концентрациях 75 тыс./мл (рис. 3). Следует отметить, что для природных водоемов обычно используются меньшие

концентрации сенсibilизаторов, разовое внесение составляет 1,0-2,5 мг/л.[18], значительного подавления численности патогенных микроорганизмов добиваются при многократном внесении фотосенсибилизатора в течение длительного времени (7-28 суток).

Исследуемые фотосенсибилизаторы целесообразно применять для быстрого фотодинамического обеззараживания воды. В процессе водоподготовки воды, используемой для пищевых целей в детских санаториях, школьных и дошкольных учреждениях, наиболее перспективен рибофлавин (витамин В₂). Соединение является важным эссенциальным фактором, регулирует белковый, углеводный, липидный обмен, поддерживает зрительную функцию глаза, входит в состав флавопротеинов, которые являются важным звеном в цепи переноса электронов, регулируют окислительно-восстановительные процессы. Витамин В₂ достаточно сложно получить с пищей, поскольку в большинстве продуктов он присутствует в низких количествах. При использовании рибофлавина в концентрации 10 мг/л для водоподготовки питьевой воды и ее фотодинамической обработки, предназначенной для приготовления пищи, позволит получить суточную норму витамина для детей с 200 мл, взрослого – с 300 мл воды. Прием большего количества рибофлавина 5-10 мг/сутки используется в лечебных целях в течение длительного времени (до полугода), передозировки не представляют опасности, поскольку витамин В₂ относится к водорастворимым витаминам и элиминируется из организма в течение суток.

Выводы

[1] Красный свет в отсутствии фотосенсибилизаторов на 10-20% уменьшает количество музейных штаммов микроорганизмов: эукариот *Candida albicans* ATCC 24433 и прокариот *Escherichia coli* ATCC 35218.

Все изученные сенсibilизаторы проявляют фотодинамическое действие, которое проявляется уже через 2 мин наблюдения. В отношении *Candida albicans* ATCC 24433 метиленовый синий и флуоресцеин производят наибольший летальный эффект и снижают количество колоний за 2 часа экспозиции воды в потоке красного света в 1,7 раза, в 11,0 раз, соответственно.

Эозин в отношении *Candida albicans* ATCC 24433 и *Escherichia coli* ATCC 35218 проявлял низкое фотодинамическое действие, что объясняется особенностями его химической структуры.

В отношении *Escherichia coli* ATCC 35218 рибофлавин и метиленовый синий и, вносимые в концентрации 100 мг/л наиболее эффективны, за 2 часа наблюдений уничтожают практически 100 % микроорганизмов. Рибофлавин (витамин В₂) перспективен для применения в технологии специальной водоподготовки воды для дошкольного и школьного питания.

Литература

- [1] Über die Wirksamkeit fluoreszierender Stoffe auf Infusorien Paaß O. Z. Biol. **1900**. Vol. 39. P.524-546.
- [2] Therapeutische Versuche mit fluoreszierenden Stoffen Von Tappeiner, H. / H. Von Tappeiner, A. Jesionek Muench. Med. Wochenschr **1903**. Vol. 47. P.2042–2044.
- [3] Фотодинамическое действие и синглетный кислород Красновский А.А. мл. Биофизика **2004**.т. 49. № 2. С. 305-321.
- [4] Владимир Ю.А., Потапенко А.Я. Физико-химические основы фотобиологических процессов М. Дрофа. **2016**. 285с.
- [5] Zur Behandlung der Hautcarcinome mit fluorescenzenden Stoffen Jodlbauer A., Tappeiner H. Dtsch. Arch.Med. **1905**.В. 82. P. 223-226.
- [6] Исторический очерк развития фотодинамической терапии Странадко, Е.Ф.Лазерная медицина. **2002**. Т. 6. №1. С. 4-8.
- [7] Основные направления фотодинамической терапии в медицине Салмин Р.М. Новости хирургии. **2008**.№ 3.С. 155-162.
- [8] Photodynamic therapy in stomatology Konopka K, Goslinski T. J Dent Res. **2007**.Vol. 86(11). P.1126-1132.
- [9] Treatment of periodontal diseases by photodisinfection in comparison with removal of calculus and smoothing of the root surface. Andersen R., Loebel N., Hammond D., Wilson M. J Clin Dent. **2007**.-Vol. 18(2). P. 34-38.
- [10] Jepsen S. Short-term clinical effects of complex antibacterial and photodynamic therapy in periodontal treatment: a randomized clinical trial. Braun A., Dehn C., Krause F., J Clin Periodontol. **2008** .Vol. 35(10).P. 877-84.
- [11] Sensitization of pathogenic bacteria in periodontal tissues when they are destroyed by laser radiation of low power Wilson M., Dobson J., Sarkar S. Oral Microbiol Immunol. **1993**.Vol. 8(3), P.182-187.
- [12] Antibacterial photodynamic therapy with conservative treatment of acute periodontitis: a pilot randomized controlled clinical study de Oliveira RR, Schwartz-Filho HO, Novaes AB Jr, Taba M Jr. J Periodontol. **2007**. Vol. 78(6). P. 965-973.
- [13] Photodynamic inactivation of *Enterococcus faecalis* in dental root canals in vitro. Foschi F., Fontana C.R., Ruggiero K., Riahi R. et al. Lasers Surg. Med. **2007**. Vol.39. №10. P.782-787.
- [14] Evaluation of photodynamic therapy using a light-emitting diode lamp against *Enterococcus faecalis* in extracted human teeth Rios A., He J., Glickman G.N., Spears R., Schneiderman E.D., Honeyman A.L. J Endod. **2011** .Vol.37. №6. P.856-859.
- [15] Efflux pump inhibitor potentiates antimicrobial photodynamic inactivation of *Enterococcus faecalis* biofilm. Kishen A., Upadya M., Tegos G.P., Hamblin M.R. Photochem Photobiol., **2010**.Vol.86. №6. P.1343-1349.
- [16] Фотодинамическое обеззараживание воды Кузнецова Н.А., Калия О.Л. Химический журнал. **2013**.-т. 54, № 2, вып.1. С. 100-109.

- [17] Исследование токсичности веществ – сенсibilизаторов фотодинамического обеззараживания водной среды в двух-видовой тест-системе Ипатова В.И. Проходская В.Ю., Дмитриева А.Г. Материалы международной конференции «Современное состояние водных биоресурсов экосистем морских и пресных вод России: проблемы и пути решения. 2010. Ростов на Дону. С. 86-92.
- [18] Сравнительный анализ токсичности метиленового синего и профлавина для сапрофитных бактерий и фотодинамическое обеззараживание воды Перхванидзе В.А., Симаков Ю.Г., Баткаева Н.В. Общая биология. Серия естественные и технические науки, 2017. № 6. С. 3-9.
- [19] Физико-химические основы сенсibilизированной производными фталлоцианина и акридина фотоинактивации микроорганизмов в водных средах. Макаров Д.А. Автореферат. к.х.н. М. 2012. 25с.
- [20] Способ фотодинамической инактивации бактерий. Запорожцева З.В., Подсосонный В.А., Зродников В.С. Патент РФ 2316366. опубл. 10.02.2008.
- [21] Способ обеззараживания воды. Кузнецова Н.А., Сливка Л.К., Плешков Г.М., Макаров Д.А. и др. Патент РФ 2358909. опубл. 20.06.2009.
- [22] Машковский М.Д. Лекарственные средства, в 2 т. М.: ООО Новая волна. 2002. 608с.
- [23] Статистический анализ в медицине и биологии. Задачи, терминология, логика, компьютерные методы. Платонов А.Е. М.: РАМН. 2000. 51с.
- [24] Взаимосвязь химической структуры и ингибирующего действия стерически затрудненных фенолов при окислении метилолеата в гомогенной и микрогетерогенной системах. Сторожок Н.М., Перевозкина М.Г., Никифоров Г.А. Известия Академии наук. Серия химическая. 2005. № 2. С. 323-328.
- [25] Взаимосвязь химической структуры и антиоксидантных свойств N-замещенных амидов салициловой кислоты Сторожок Н.М., Медяник Н.П., Крысин А.П., Поздняков А.П., Креков С.А. Кинетика и катализ 2012. т. 53. № 2. С. 170-180.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛИПОСОМ\МИЦЕЛЛ ИЗ СОЕВЫХ ФОСФОЛИПИДОВ. ВЛИЯНИЕ НУТРИЦЕВТИКОВ И ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ.

**Пальмина Н.П., Сажина Н.Н., Богданова Н.Г., Плащина И.Г.,
Каспаров В.В., Бинюков В.И., Антипова А.С., Семёнова М.Г.**

*Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля РАН
Ул. Косыгина 4, г. Москва, 119334, РФ; e-mail : npalm@mail.ru*

Полиненасыщенные жирные кислоты ПНЖК (омега-3 и омега-6) играют важную роль в поддержании многих физиологических функций человека и животных, но они не синтезируются в организме и должны

поступать в него с пищей в достаточном количестве и в оптимальном соотношении (омега-6 : омега-3 ПНЖК = 1:1 - 4:1). Одной из важнейших задач современной науки о питании является создание функциональных продуктов с оптимальным составом ПНЖК. Однако, высокое содержание в ПНЖК ненасыщенных углеродных связей способствует их высокой способности к окислению и, как следствию, накоплению пероксидов и гидропероксидов, продуктов их разложения, обладающих токсичностью; летучих карбонильных продуктов, снижающих вкусовые качества продуктов. Кроме того, липофильная природа ПНЖК затрудняет их введение в водные напитки и продукты. Для преодоления этих ограничений предлагается вводить ПНЖК в пищевые продукты в виде липосом с добавками природных антиоксидантов и белков или биополимеров, обеспечивающих растворение в водной среде.

Так как многие физиологические процессы и метаболизм введённых комплексов зависят не только от их состава, но и от структурного состояния, размеров и формы, целью данной работы явилось изучение физико-химических свойств липосом, приготовленных из фосфатидилхолина сои (ФХ) и мицелл из лизофосфатидилхолина (ЛФХ), свободных и инкапсулированных биополимерами (казеинатом натрия и его ковалентными конъюгатами с мальтодекстринами), а также дополнительно стабилизированных рядом природных антиоксидантов (АО) растительного происхождения, и изменениям этих свойств в процессе пероксидного окисления сложных комплексов.

Методами ЭПР с применением спинового зонда 16-доксилстеариновой кислоты (C16) и атомно-силовой микроскопии (АСМ) исследовали такие свойства липосом и мицелл, как микровязкость глуболежащих областей липидного бислоя и их размеры. Средний диаметр и Z- потенциал липосом определяли методом динамического светорассеяния (ДСР), пероксидное

окисление характеризовали по накоплению первичных продуктов окисления, диеновых конъюгатов, спектрофотометрическим методом.

Липосомы ФХ и мицеллы ЛФХ отличаются по исходному уровню микровязкости : τ_c мицелл существенно (на 30%) выше, чем липосом. Это объясняется составом их ПНЖК : ЛФХ содержит в 1,5 раза меньше ω -6 линолевой кислоты (18:2) и в 3 раза меньше ω -3 линоленовой (18:3). Природные антиоксиданты растительного происхождения уменьшали микровязкость в липосомах из ФХ: экстракт имбиря на 24 %; экстракт чёрного перца и эфирное масло лимона на 16%; эфирное масло гвоздики (ЭМГ) и экстракт мяты - на 15%; эфирное масло кориандра и экстракт корицы - на 10%. Аналогичным образом действуют и полиненасыщенные жирные кислоты (α -линоленовая - АЛА -18:3 и декозогексаеновая -ДГА - 22:6) и льняное масло – (18:2+18:3), эффект составляет от 12 до 18% по отношению к контролю; ещё больший эффект ПНЖК обнаружен на вязких мицеллах (до 35%).

Инкапсуляция липосом и мицелл белками (казеинат натрия) или биополимерами (казеинат плюс различные мальтодекстрины) приводит к увеличению микровязкости в 1,3-1.5 раза. Методом атомно-силовой микроскопии показано, что сложные конгломераты из нескольких составляющих продуктов обладают более компактной структурой и занимают гораздо меньший объём.

Установлено, что введение в липосомы ω -3-альфа-линоленовой кислоты (ALA) ускоряет инициированное 2.2'-азобис-(амидинопропан)-дигидрохлоридом окисление липосом из ФХ; ЭМГ и казеинат натрия защищают от окисления даже при температуре 60°C. Развитие ПОЛ при 37°C и 60°C сопровождается увеличением микровязкости глубоко лежащих слоёв липидов, которое прямо пропорционально степени развития ПОЛ. Этот эффект обусловлен, главным образом, увеличением относительного содержания насыщенных жирных кислот в липидах липосом, хотя некоторый

вклад в него могут вносить и новые структурные формы окисленных липидов. Методами ДСР и АСМ показано, что ПОЛ вызывает увеличение среднего диаметра и объёма индивидуальных липосом, возрастание абсолютной величины их отрицательного Z-потенциала. Растительный антиоксидант и белок тормозят этот процесс.

Таким образом, можно заключить, что липосомы из ФХ могут быть удобными средствами для доставки жизненно важных ПНЖК в нужном соотношении в организм человека.

ПОТЕНЦИОМЕТРИЯ В ИССЛЕДОВАНИИ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ ВЕЩЕСТВ

А.В. Иванова

*Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Уральский федеральный университет имени первого
Президента России Б.Н. Ельцина», 620002, г. Екатеринбург, ул. Мира 28,
ХТИ
a.v.ivanova@urfu.ru*

В настоящее время, пожалуй, нельзя найти ни одной области медицины, биохимии, биофизики, фармации, пищевой технологии, в которой не изучались бы процессы свободно-радикального окисления и антиоксидантного действия. Тематика исследования антиоксидантных свойств веществ носит междисциплинарный характер и направлена на улучшение здоровья человека и увеличение продолжительности жизни. Одним из актуальных направлений в этой области является создание подходов к определению интегральных антиоксидантных параметров.

В условиях техногенного развития общества, ухудшения экологической ситуации и роста патологических состояний населения риск возникновения окислительного стресса (ОС) резко возрастает, а, следовательно, исследования антиоксидантных свойств различных объектов (биологических жидкостей, продуктов питания, БАД) становятся еще более востребованными.

С точки зрения концептуальных подходов можно выделить три группы способов: (i) определение индивидуальных антиоксидантов, (ii) оценка содержания продуктов перекисного окисления макромолекул и (iii) оценка интегральных параметров, учитывающих антиоксидантные свойства исследуемых объектов в совокупности.

Исследования последних десятилетий доказывают, что оценка интегральных показателей представляется наиболее перспективной, поскольку эффективность функционирования антиоксидантной системы связана не столько с концентрацией того или иного антиоксиданта, сколько с совокупным их действием. Интегральную оценку антиоксидантного действия осуществляют, как правило, через определение антиоксидантной-антирадикальной емкости.

По данным базы данных SCOPUS (рисунок 1), количество публикаций, в которых рассматриваются вопросы по определению интегральных антиоксидантных параметров различных объектов неуклонно растет и достигает в 2018 году значение около 20000 работ, что говорит о высокой актуальности затрагиваемой темы.

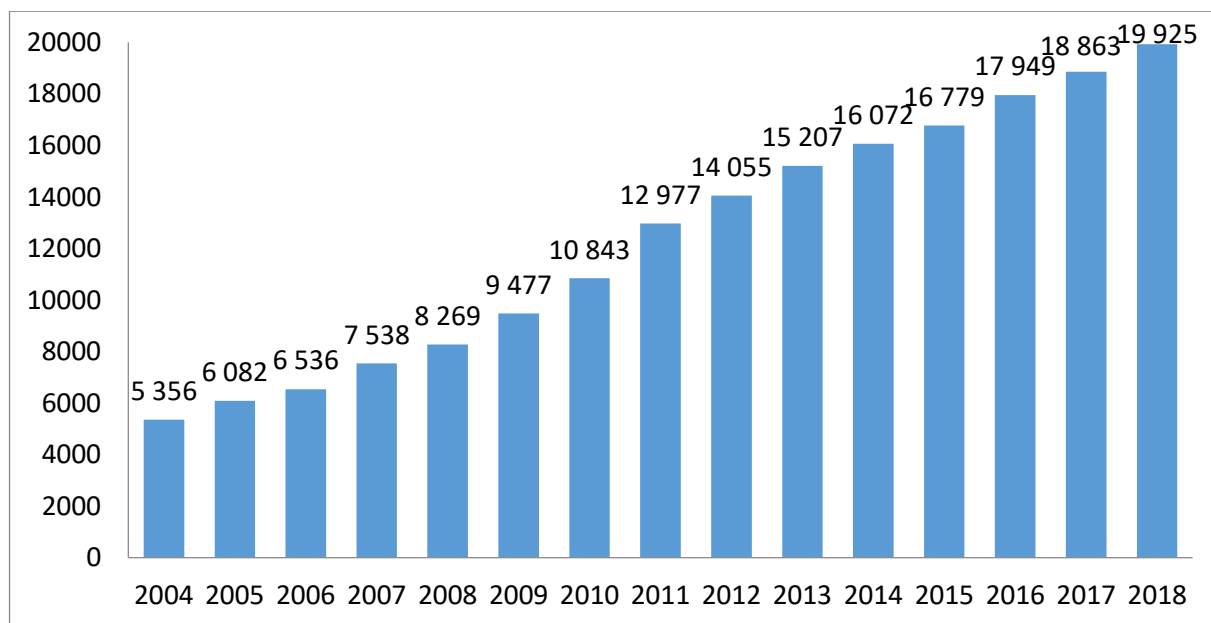


Рисунок.1 - Рост количества публикаций, посвященных определению интегральных антиоксидантных параметров различных объектов за последние 15 лет

Способы оценки интегральных параметров базируются в основном на применении моделей окислителей (i) нерадикальной природы [1,2] или (ii) свободных радикалов, которые можно подразделить на стабильные радикалы и радикал – генерирующие системы [1,3].

Интегральную оценку антиоксидантного действия осуществляют, как правило, через определение антиоксидантной/антирадикальной активности/емкости (АОА/АОЕ). По рекомендации IUPAC под антиоксидантной активностью (АОА) принято понимать параметры, связанные с кинетикой реакции между антиоксидантом и прооксидантом или кинетикой восстановления или поглощения радикалов, тогда как антиоксидантная емкость (АОЕ) отражает эффективность термодинамического преобразования модельного окислителя в реакции с антиоксидантом.) [4].

Круг существующих способов интегральной оценки антиоксидантных свойств достаточно широк, используются как спектральные, так и электрохимические методы. Выбор метода регистрации зависит, как правило, от свойств индикаторного вещества, концентрация которого меняется в процессе протекания сигналообразующей реакции. Однако, поскольку результаты исследования и выводы относительно эффективности антиоксидантной системы в конечном итоге необходимо интерпретировать по отношению к живым организмам, то способы интегральной оценки антиоксидантных свойств целесообразно рассмотреть не с позиции метода регистрации сигналообразующей реакции, а с позиции механизмов антиоксидантного действия.

В настоящее время известно несколько механизмов биологического действия антиоксидантов [5] (рисунок 2), при рассмотрении которых с химической точки зрения можно выделить три типа реакций [6,7]:

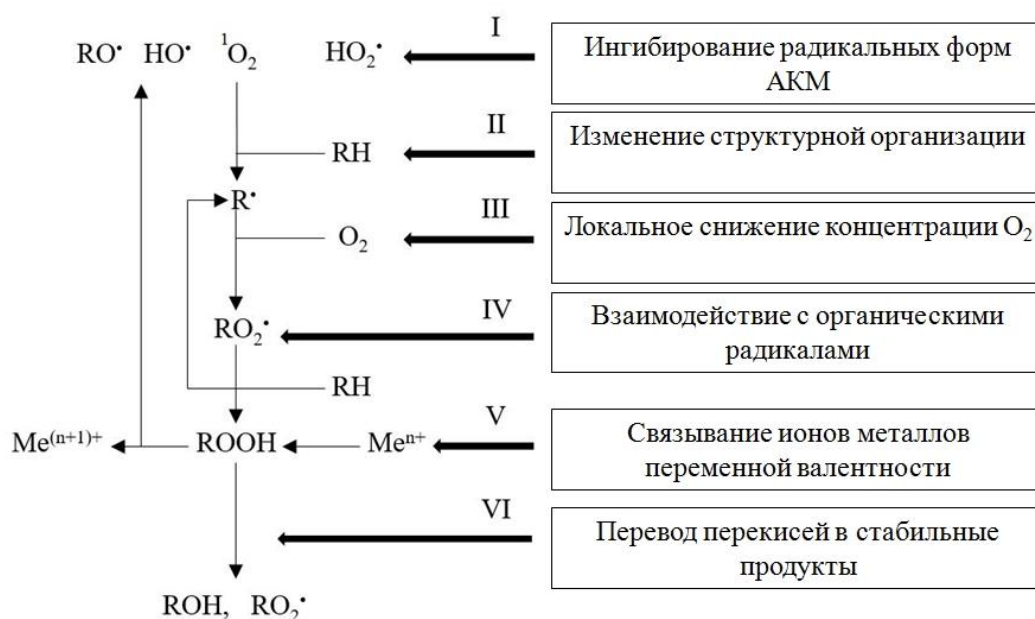


Рисунок 2. Механизмы биологического действия АО

- (i) реакции переноса электрона с АО на субстрат (реакция окисления АО);
- (ii) реакции переноса атома водорода с АО на субстрат, которые в водных средах можно рассматривать как перенос протона, сопровождающийся переносом электрона (реакция окисления АО);
- (iii) реакции переноса одной или нескольких пар электронов с образованием ковалентной связи по донорно-акцепторному механизму (реакция комплексообразования АО с ионами металлов переменной валентности).

Существование различных механизмов действия приводит к выводу, что для исследования антиоксидантных свойств необходимо создание комплексных подходов.

В целом, можно сформулировать следующие основные требования, которые желательно учитывать при разработке способов определения интегральной антиоксидантной емкости и от которых, в конечном итоге, будет зависеть широта их распространения:

обоснованность выбора модели окислителя;

физиологичность условий анализа;

реализация одного из механизмов действия антиоксидантов;

качество аналитических характеристик способа.

Принимая во внимание участие электронов во всех трех типах реакций, протекание этих реакций будет сопровождаться изменением

электрохимических параметров системы, в частности, потенциала. Поэтому применение электрохимических методов исследования для интегральной оценки антиоксидантных свойств является весьма целесообразным. Помимо соответствия принципов методов природе антиоксидантного действия, электрохимические методы обладают рядом достоинств - доступность, простота эксплуатации, экспрессность, чувствительность, возможность исследования мутных и окрашенных объектов, реализации как в портативном, так и в проточном вариантах анализа.

Потенциометрическое определение интегрального параметра антиоксидантной емкости (АОЕ), основанного на реакции переноса электрона

Одной из основных проблем при создании способов исследования антиоксидантных свойств, является обоснованность выбора модели окислителя. Расходование правильно подобранного окислителя в реакциях переноса электрона с антиоксиданта, может дать информацию об интегральном параметре антиоксидантной емкости.

Термодинамическая возможность протекания реакций между модельным окислителем и антиоксидантами исследуемого образца определяется окислительно-восстановительными потенциалами (ОВП) сопряженных пар участников, а степень их протекания зависит от разности этих потенциалов и скорости химических взаимодействий АО-окислитель. В предложенных в литературе подходах, как правило, термодинамика реакций не рассматривается. Реакции, положенные в основу многих известных методик определения АОЕ реализуются в кислых или щелочных средах, что не соответствует физиологическим условиям, а, следовательно, данные об антиоксидантных свойствах объектов трудно однозначно интерпретировать по отношению к организму. Существенной является также стехиометрия взаимодействия выбранного окислителя с АО, которая должна соответствовать количеству функциональных групп, проявляющих антиоксидантные свойства. Отсутствие универсальных единиц измерения является существенным препятствием при интерпретации и сравнении результатов исследования. При разработке способов оценки АОЕ важно

также учесть экспрессность анализа и возможность исследования окрашенных образцов.

Таким образом, можно сформулировать требования, выполнение которых необходимо для корректного определения интегральной величины АОЕ [8]: реакция переноса электрона с АО на молекулу окислителя должна быть термодинамически возможной;

ОВП окислителя в условиях анализа должен находиться между потенциалами АКМ и АО, но между ними должна существовать определённая разность.

реакция окислителя с АО должна реализовываться в условиях, близких к физиологическим;

реакция окислителя с АО должна протекать стехиометрично в соответствии с количеством функциональных групп, проявляющих антиоксидантные свойства;

должна быть реализуемой возможность получать результат в универсальных единицах измерения, например, М-экв;

должна быть обеспечена возможность анализировать широкий круг объектов, в том числе окрашенных;

скорость ОВ реакции должна быть достаточной высокой.

Таблица 1 - ОВП активных кислородных метаболитов (В, отн. НВЭ) [9]

АКМ	Стандартный потенциал, (pH=0)	Стандартный потенциал (pH=14)	Уравнение полуреакции	Потенциал системы (pH=7)
$\text{H}_2\text{O}_2/\text{OH}^\bullet$	+1.14		$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{H}^+ + \text{e} = \text{OH}^\bullet + \text{H}_2\text{O}$	+0.72
$\text{HO}_2^\bullet/\text{H}_2\text{O}_2$	+1.44		$\text{HO}_2^\bullet + \text{H}^+ + \text{e} = \text{H}_2\text{O}_2$	+1.02
$\text{H}_2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$	+1.763		$\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e} = \text{H}_2\text{O}$	+1.343
$\text{OH}^\bullet/\text{H}_2\text{O}$	+2.38		$\text{OH}^\bullet + \text{H}^+ + \text{e} = \text{H}_2\text{O}$	+1.96
$\text{HO}_2^\bullet/\text{H}_2\text{O}$	+1.65		$\text{HO}_2^\bullet + 3\text{H}^+ + 3\text{e} = 2\text{H}_2\text{O}$	+1.23
$\text{O}_2^\bullet/\text{OH}^-$		+0.645	$\text{O}_2^\bullet + 2\text{H}_2\text{O} + 3\text{e} = 4\text{OH}^-$	+1.205
$\text{O}_2^\bullet/\text{HO}_2^-$		+0.20	$\text{O}_2^\bullet + \text{H}_2\text{O} + \text{e} = \text{HO}_2^- + \text{OH}^-$	+0.62
$\text{HO}_2^-/\text{OH}^\bullet$		+0,184	$\text{HO}_2^- + \text{H}_2\text{O} + \text{e} = \text{OH}^\bullet + 2\text{OH}^-$	+1.024
$\text{OH}^\bullet/\text{OH}^-$		+1.985	$\text{OH}^\bullet + \text{e} = \text{OH}^-$	+2.405

Таблица 2 - ОВП модельных окислителей, используемых в качестве реагентов в способах определения интегрального параметра АОЕ [8]

Сопряженная пара окислителя	Метод	Потенциал, В отн. НВЭ
$I_2/2I^-$	Кулонометрия	+0.621
$Br_2/2Br^-$	Кулонометрия	+1.087
Ce^{4+}/Ce^{3+}	Цериметрия	+1.4 - +1.731
Cu(II)-неокупроин/Cu(I)-неокупроин	CUPRAC	+0.6
ABTS [®]	TEAC	+0.68
$Fe(III)(TPTZ)_2Cl_3 / Fe(II)(TPTZ)_2Cl_3$	FRAP	+0.7
$[1,10\text{-фенантролин}]Fe^{3+} / [1,10\text{-фенантролин}]Fe^{2+}$	FRAP	+1.02
1,1-дифенил-2-пикрилгидразил	DPPH метод	+0.495
$K_3[Fe(CN)_6] / K_4[Fe(CN)_6]$	Предлагаемый метод	+0.36

Сравнивая данные таблиц 1-2, легко видеть, что некоторые из этих моделей, имеют достаточно высокий стандартный потенциал, близкий к потенциалам АКМ, а в случае церия превышает его. С термодинамической точки зрения в нейтральной среде эти соединения будут хорошо окислять многие вещества, к числу которых могут относиться соединения, не обладающие антиоксидантными свойствами или даже действующие как оксиданты. Обсуждение вопросов термодинамики реакций АО с модельным окислителем появились только в последнее десятилетие в единичных работах, хотя этот вопрос заслуживает гораздо большего внимания.

Большое распространение получили методы, основанные на реакциях переноса электронов с АО на комплексы железа. Однако, соединения железа в зависимости от окружения имеют различные ОВП. В таблице 3 приведены значения стандартных потенциалов для сопряженной пары Fe^{2+}/Fe^{3+} в зависимости от природы лиганда.

Таблица 3 - Изменение потенциала сопряженной пары $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ в зависимости от природы лиганда [8]

Лиганд	Сопряженная ОВ пара	E^0 , В отн. НВЭ
-	$\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$	+0.77
HCl	$[\text{FeCl}_6]^{4-}/[\text{FeCl}_6]^{3-}$	+0.53
H_3PO_4	$[\text{Fe}(\text{PO}_4)_2]^{4-}/[\text{Fe}(\text{PO}_4)_2]^{3-}$	+0.41
HF	$[\text{FeF}_6]^{4-}/[\text{FeF}_6]^{3-}$	+0.40
KCN	$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$	+0.36
ЭДТА	$[\text{FeY}]^{2-}/[\text{FeY}]^{-}$	+0.12
$\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$	$[\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3]^{4-}/[\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3]^{3-}$	-0.02
1,10-фенантролин	$[\text{Fe}(\text{Phen})_3]^{2+}/[\text{Fe}(\text{Phen})_3]^{3+}$	+1.12
дипиридил	$[\text{Fe}(\text{DP})_3]^{2+}/[\text{Fe}(\text{DP})_3]^{3+}$	+1.10
2,4,6-трипиридил- триазин	$[\text{Fe}(\text{TPTZ})_2]^{2+}/[\text{Fe}(\text{TPTZ})_2]^{3+}$	+0.7

Из таблицы 3 видно, что в зависимости от лиганда ОВ свойства комплексов железа могут сильно варьироваться. Результаты, полученные этим методом с 2,4,6- трипиридил-триазином, 1,10-фенантролином и цианидами, очевидно, будут отличаться друг от друга.

Для реализации сигналообразующей реакции в нейтральной среде используемые комплексы должны быть достаточно устойчивы. Расчеты условных констант устойчивости показывают, что комплексы железа с фенантролином, дипиридилом и трипиридил-триазином относительно устойчивы только в кислых средах, тогда как комплекс цианидов как с двух, так и с трех валентным железом достаточно устойчив ($\beta > 10^8$) в широкой области pH, включая нейтральную среду (рисунок 3). К преимуществам комплексов железа с цианидами можно также отнести высокую электрохимическую обратимость и возможность использования обеих форм сопряженной пары.

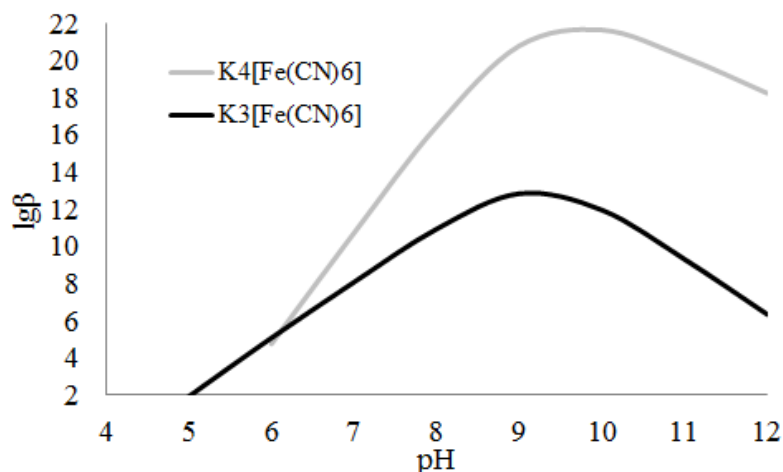
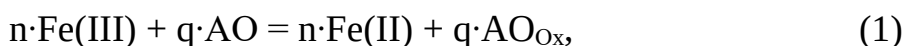


Рисунок 3 - Зависимость условной константы устойчивости комплексов $K_4[Fe(CN)_6]$ и $K_3[Fe(CN)_6]$ от pH

Изменение соотношения концентраций окисленной и восстановленной форм системы, содержащей $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$, являющего результатом протекания реакции переноса электрона с исследуемого АО на окисленный компонент системы (реакция 1), будет сопровождаться изменением потенциала, которое можно достаточно легко зафиксировать.



где АО – антиоксидант, AO_{Ox} – продукт окисления антиоксиданта; n , q – стехиометрические коэффициенты реакции.

Потенциал системы подчиняется уравнению Нернста, поэтому до введения анализируемого образца может быть выражен уравнением:

$$E = E^0 + b \cdot \lg \frac{C_{Fe(III)}^0}{C_{Fe(II)}^0} \quad (2)$$

где $b = 2.3 \cdot RT/nF$; E – потенциал в системе до введения анализируемого образца, мВ; $C_{Fe(III)}^0$, $C_{Fe(II)}^0$ – концентрации окисленной и восстановленной форм системы, М.

После завершения реакции окисленного компонента системы с исследуемыми АО потенциал системы будет определяться как:

$$E_1 = E^0 + b \cdot \lg \frac{C_{Fe(III)}^0 - \sum C_{AO_{1/z}}}{C_{Fe(II)}^0 + \sum C_{AO_{1/z}}} \quad (3)$$

где E_1 – измеряемый потенциал в системе после завершения реакции окисленного компонента системы с исследуемыми АО, мВ; $\sum C_{AO_{1/z}}$ – суммарное содержание АО в исследуемом образце, моль-экв/дм³.

Суммарное содержание АО в исследуемом образце будет соответствовать интегральному параметру АОЕ исследуемого раствора. Таким образом, изменение потенциала ($E_1 - E$) служит источником информации об АОЕ [10]:

$$AOE = \frac{C_{Fe(III)}^0 - \alpha \cdot C_{Fe(II)}^0}{1 + \alpha} \quad (4)$$

где

$$\alpha = \frac{C_{Fe(II)}^0}{C_{Fe(III)}^0} \cdot 10^{(E_1 - E)nF/RT}$$

Стехиометрический коэффициент реакции будет равен:

$$n = \frac{AOE}{C}, \quad (5)$$

где n – стехиометрический коэффициент уравнения 1; АОЕ – антиоксидантная емкость, рассчитанная по уравнению 4 в моль-экв/дм³; C – концентрация АО в моль/дм³.

Суть предлагаемого способа состоит в том, что в начальный момент времени потенциал системы E будет определяться соотношением исходных концентраций окисленной и восстановленной форм, в результате переноса электрона на сопряженную ОВ-пару, потенциал системы сдвинется до значения E_1 , которое будет являться функцией суммарного содержания АО в исследуемом растворе.

В качестве единиц измерения интегрального параметра АОЕ предложено использовать моль-эквиваленты, что является универсальными единицами, т.к. отражает суммарное число молей функциональных групп с антиоксидантным действием.

Возможность варьирования концентрациями и соотношением окисленной и восстановленной форм выбранной системы, позволяет подобрать рабочие условия для исследования модельных растворов АО и анализа различных реальных объектов, различающихся по уровню содержания в них АО.

В таблице 4 приведены стехиометрические коэффициенты n реакции модельных АО с гексацианоферратом (III) калия, полученные экспериментально потенциометрическим способом и теоретически ожидаемые. Экспериментально найденные стехиометрические коэффициенты в целом соответствуют числу антиоксидантных групп в соединении, что подтверждает корректность использования предлагаемого способа и выбранных единиц измерения. Несовпадение экспериментального и теоретического значения n в случае с рутином можно объяснить

стерическим фактором. В случае с пирокатехином несовпадение может быть обусловлено одновременным протеканием конкурирующих реакций комплексообразования.

Таблица 4 - Значения стехиометрических коэффициентов реакции АО с гексацианоферратом (III) калия для различных концентраций АО (М-экв)*

АО	$n_{\text{эксп}}$			$\bar{n}_{\text{эксп}}$	$n_{\text{теор}}$
	$1 \cdot 10^{-4}$ М-экв	$3 \cdot 10^{-4}$ М-экв	$5 \cdot 10^{-4}$ М-экв		
Цистеин	1.2	1.1	1.1	1.1	1
Глутатион	1.0	0.9	1.0	1.0	1
Мочевая кислота	1.9	1.8	2.0	1.9	2
Аскорбиновая кислота	1.8	2.0	1.9	1.9	2
Гидрохинон	2.1	1.8	2.0	2.0	2
Пирокатехин	4.8	4.8	5.0	4.9	2
Пирогаллол	5.0	5.1	5.3	5.2	2, 4
Кофейная кислота	1.3	1.4	2.0	1.6	2
Рутин	2.8	3.0	2.6	2.8	4
Кверцетин	3.7	4.2	3.8	3.9	2, 4
(+)Катехин	3.9	3.7	4.1	3.9	4
Галловая кислота	4.6	5.2	5.1	5.0	2

* $n_{\text{эксп}}$ – экспериментально полученное значение; $\bar{n}_{\text{эксп}}$ – среднее экспериментально полученное значение; $n_{\text{теор}}$ – ожидаемое значение, связанное со структурой АО

Наличие функциональной взаимосвязи АОЕ со структурой веществ позволяет использовать предложенный потенциометрический способ для исследования антиоксидантных свойств как известных соединений, так и новых, вновь синтезированных.

Следующим важным условием корректной реализации предложенного подхода интегральной оценки АОЕ, является достаточно большая скорость реакции окислителя с основными АО. Регистрация кинетических кривых зависимости изменения потенциала во времени дает возможность оценить период полупревращения АО в реакции с модельным окислителем. На рисунке 4 приведены типичные кинетические кривые изменения потенциала системы при протекании реакции АО с $K_3[Fe(CN)_6]$.

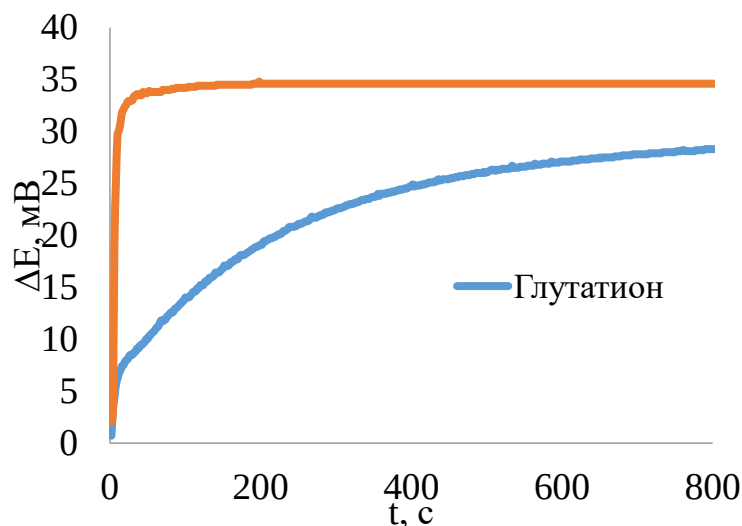


Рисунок 4. Кинетические кривые изменения ОВП системы от времени реакции при взаимодействии АО с $K_3[Fe(CN)_6]$. Исходная концентрация АО $2 \cdot 10^{-4}$ моль-экв/дм³

В таблице 5 приведены значения константы скорости реакции АО с гексацианоферратом (III) калия, рассчитанные из кинетических кривых в условиях избытка окислителя. Показано, что в данных условиях период полупревращения не зависит от начальной концентрации антиоксидантов, поэтому константу скорости реакции можно рассчитать, пользуясь соотношением (6) для реакций псевдопервого порядка:

$$k = \frac{\ln 2}{\tau_{1/2}}, \quad (6)$$

где $\tau_{1/2}$ - период полупревращения исследуемого АО, с; k – константа скорости реакции АО с гексацианоферратом (III) калия, 1/с.

Приведённые данные свидетельствуют о том, что реакция переноса электрона с АО на гексацианоферрат (III) калия является достаточно быстрой, что отвечает сформулированному требованию и позволяет считать потенциометрическую методику определения АОЕ экспрессной и применимой для поточных масштабных исследований.

Таблица 5 - Константы скорости реакций АО с $K_3[Fe(CN)_6]$ ($P=0,95$, $n=5$)

Вещество	k , 1/с				$k_{cp} \pm \delta$, 1/с	S_r
	$2 \cdot 10^{-4}$ моль- экв/дм ³	$5 \cdot 10^{-4}$ моль- экв/дм ³	$2 \cdot 10^{-3}$ моль- экв/дм ³	$5 \cdot 10^{-3}$ моль- экв/дм ³		
Пирогаллол	0.69	0.69	0.69	0.62	0.62 ± 0.08	0.09
Катехол	0.23	0.23	0.35	0.17	0.26 ± 0.07	0.18

Кофейная кислота	0.23	0.23	0.23	0.23	0.21 ± 0.02	0.06
Гидрохинон	0.23	0.23	0.23	0.14	0.21 ± 0.05	0.18
Аскорбиновая кислота	0.23	0.17	0.17	0.23	0.21 ± 0.02	0.08
Рутин	0.173	0.231	0.139	-	0.170 ± 0.003	0.010
Цистеин	0.17	0.08	-	-	0.11 ± 0.09	0.42
Мочевая кислота	0.05	0.05	-	-	0.06 ± 0.02	0.12
Глутатион	0.0046	0.0042	-	-	0.0045 ± 0.0002	0.019

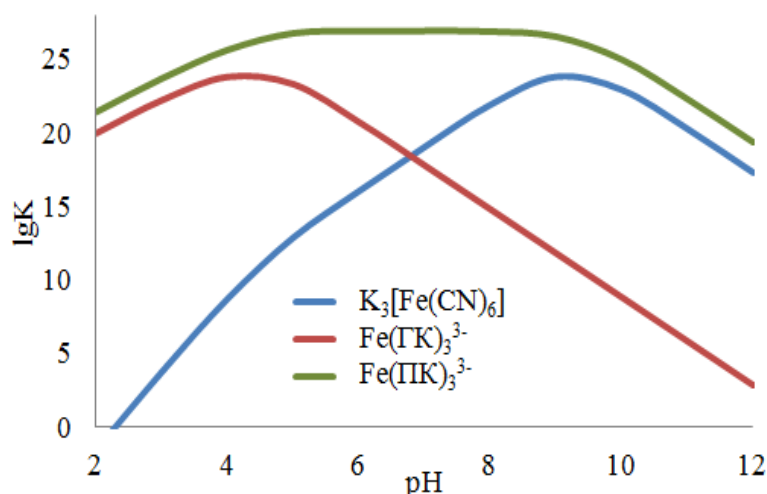


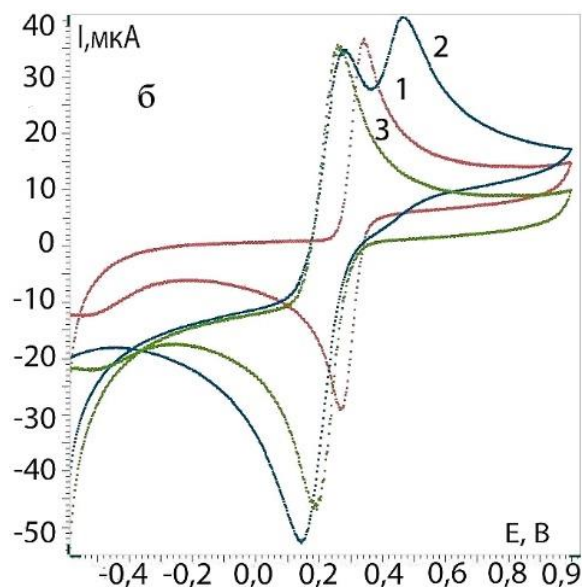
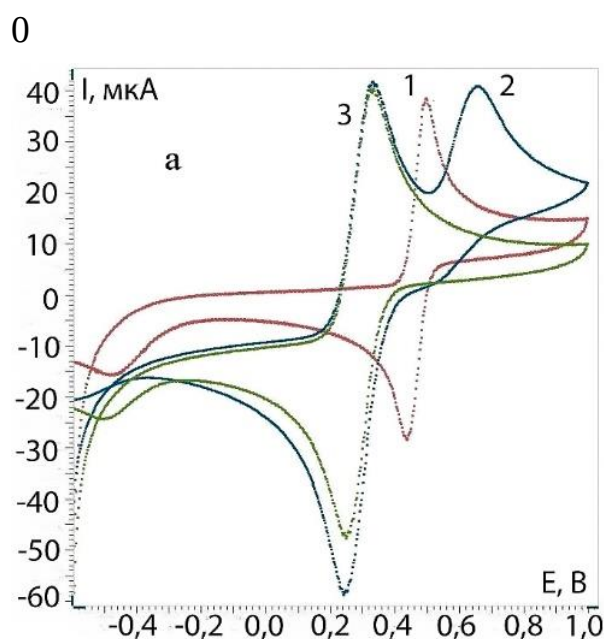
Рисунок 5 – Зависимость условной константы устойчивости комплексов железа с пирокатехином (ПК), с галловой кислотой (ГК), $K_3[Fe(CN)_6]$ от pH

Известно, что некоторые полифенольные соединения образуют с ионами металлов переменной валентности достаточно прочные комплексы [11]. Это может привести к возникновению конкурирующих реакций образования комплексов железа с полифенолами. Расчет условных констант (рисунок 5) показывает, что комплекс железа с пирокатехином более устойчив, чем гексацианоферрат в области pH от 2 до 9.

На циклических вольтамперограммах (ЦВА) (рисунок 6) отчетливо наблюдается появление нового пика при добавлении к раствору гексацианоферрата пирокатехина, отличного от пиков гексацианоферрата и пирокатехина (зарегистрированных по отдельности), который при повышении pH сдвигается в отрицательную сторону и постепенно сливается

с пиком гексацианоферрата. Аналогичная ситуация наблюдается и в случае с галловой кислотой. Экспериментальные данные, полученные методом ЦВА полностью согласуются с расчетом условных констант устойчивости. Такой характер изменения вольтамперограмм может свидетельствовать о протекании конкурирующих реакций комплексообразования.

Данные этого исследования объясняют завышенные значения стехиометрических коэффициентов для некоторых полифенолов. Однако, принимая во внимание, что, образование прочных комплексов с ионами железа является одним из механизмов антиоксидантного действия, то при определении АОЕ предлагаемым способом в ряде случаев можно говорить о регистрации суммарного эффекта, связанного как с переносом электрона, так и с комплексообразованием.



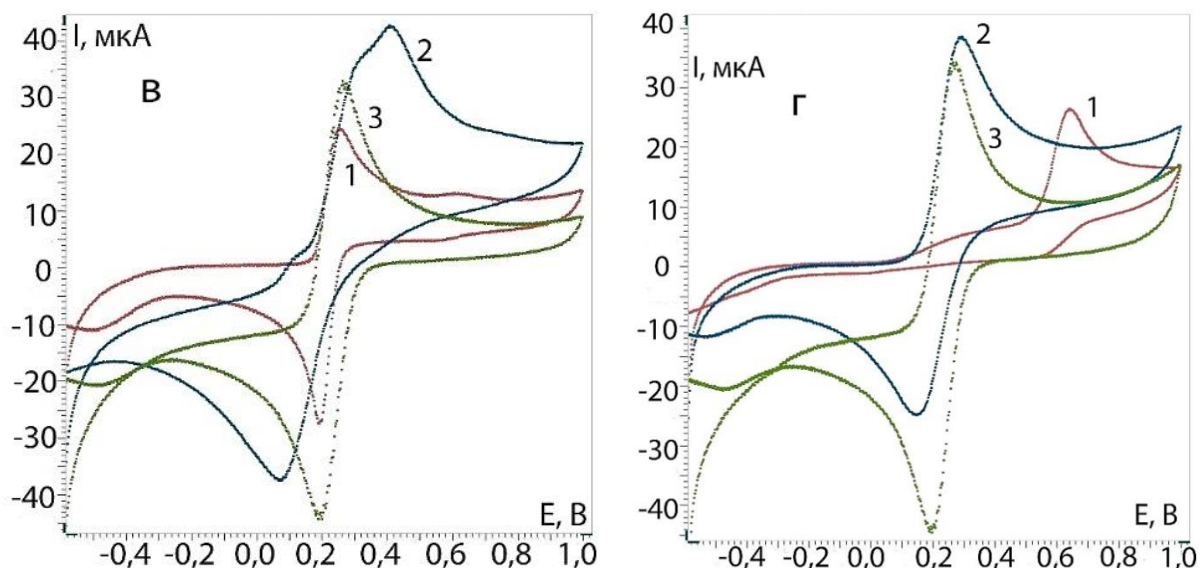


Рисунок 6. ЦВА 1 – пирокатехина, 2 - гексацианоферрата с пирокатехином, 3 - гексацианоферрата при pH 2 (а), 5 (б), 7 (в), 10 (г)

Потенциометрическое определение интегрального параметра антирадикальной емкости (АРЕ), основанного на реакции переноса атома водорода

В способах, основанных на реакциях с переносом атома водорода, измеряется способность АО «перехватывать/гасить» свободные радикалы посредством отрыва атома водорода. Поскольку в организме образование свободных радикалов происходит непрерывно, то для разработки методов, основанных на реакции переноса атома водорода в качестве модели окислителя лучше использовать не стабильные радикалы, а радикал – генерирующие системы.

Электронно-протонный перенос с молекулы АО на радикал также должен сопровождаться изменением ОВП системы, что позволяет использовать потенциометрию в качестве способа регистрации этих процессов.

Требования к модели окислителя (радикала) в реакции электронно-протонного переноса можно сформулировать следующим образом [12]:

- источником радикалов должна являться радикал-генерирующая система;
- генерация радикалов должна реализовываться в условиях, близких к физиологическим;
- образующиеся радикалы должны быть схожи по природе и строению с радикалами, образующимися в организме;
- доступность источника радикалов;

- должны быть известны кинетические параметры реакции генерирования радикалов в условиях проведения анализа;
- электронно-протонный перенос с молекулы АО на радикал также должен сопровождаться изменением ОВП системы;
- должна быть реализуемой возможность получать результат в универсальных единицах измерения, например, М-экв;
- должна быть обеспечена возможность анализировать широкий круг объектов, в том числе окрашенных.

В качестве источника радикалов выбран азоинициатор 2,2'-азобис(2-метилпропионамидин) дигидрохлорида (рисунок 7), успешно используемый в хемилюминесцентных методах исследования антирадикальных свойств и удовлетворяющий первым четырем из перечисленных выше требований.

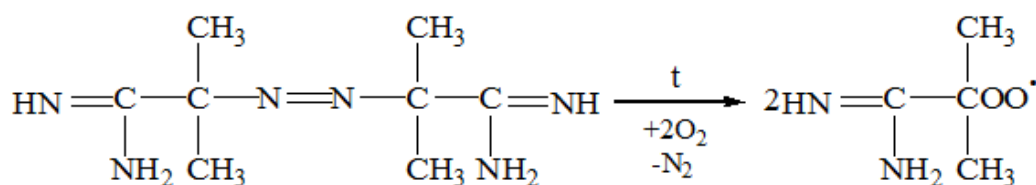


Рисунок 7 - Схема распада ААРН

Процессы электронно-протонного переноса (ингибирования радикала) могут быть охарактеризованы параметром антирадикальной емкости, который можно рассчитать следующим образом [12]:

$$\text{APE} = f[\text{InH}] = k_i \cdot [\text{R-R}] \cdot \tau, \quad (7)$$

где АРЕ – антирадикальная емкость, М-экв; τ – период индукции, с (время за которое АО полностью израсходуется в реакции с радикалами); $[\text{InH}]$ – концентрация антиоксиданта, М; k_i – константа скорости генерирования радикалов, с^{-1} ; $[\text{R-R}]$ – концентрация инициатора радикалов, М; f – коэффициента ингибирования, который показывает, сколько обрывов радикальных цепей приходится на одну молекулу ингибитора.

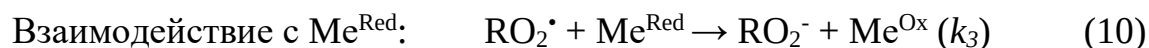
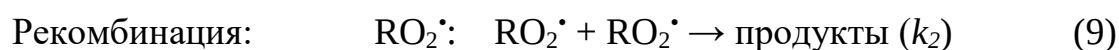
Таким образом, для определения АРЕ необходимо обладать информацией как о **(I)** времени полного расходования АО, так и о **(II)** константе скорости генерирования радикалов.

Исследование кинетики генерирования свободных радикалов потенциометрическим методом

Для количественного определения скорости или константы скорости генерирования используются, в основном, спектроскопические (хемилюминесцентные, ЭПР), манометрические и волюмометрические методы [13-16]. Однако данные, имеющиеся в литературе о скорости и константе скорости генерирования пероксильных радикалов либо представлены в узком диапазоне рН и температур, либо недостаточно хорошо согласуются между собой [17-20], поэтому при изменении условий проведения определения АРЕ не всегда корректно пользоваться литературными данными. Для получения наиболее достоверных результатов антирадикальных свойств соединений необходимо владеть информацией о реальной скорости или константе скорости генерирования радикалов в конкретных условиях, в которых реализуется данная реакция.

Для исследования кинетики реакции генерирования пероксильных радикалов предложен новый подход с использованием восстановленной формы металла в составе комплексного соединения $[\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}]$ в качестве акцептора радикалов и потенциометрической детекцией [21].

Кинетическая схема взаимодействия $[\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}]$ с радикалами $\text{RO}_2^\cdot$, образующимися при распаде инициатора I , включает в себя следующие реакции:



Новый подход для определения кинетических параметров реакции генерирования пероксильных радикалов основан на взаимодействии последних с восстановленной формой металла в составе комплексного соединения $[\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}]$, результатом которой является образование обратимой системы типа $[\text{Me}^{\text{Ox}}\text{L}]/[\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}]$ [22]. ОВП такой системы подчиняется уравнению Нернста. Сдвиг потенциала системы будет зависеть от количества генерируемых радикалов, вступивших во взаимодействие с $[\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}]$. Значение потенциала системы $[\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}]/[\text{Me}^{\text{Ox}}\text{L}]$ к моменту времени t_1 можно выразить согласно уравнению Нернста:

$$E^{t_1}[\text{Me}^{\text{Ox}}\text{L}]/[\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}] = E_{[\text{Me}^{\text{Ox}}\text{L}]/[\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}]}^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{C([\text{Me}^{\text{Ox}}\text{L}])^{t_1}}{C([\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}]^0) - C([\text{Me}^{\text{Ox}}\text{L}]^{t_1})} \quad (11)$$

В момент времени $t_2 = h \cdot t$, учитывая, что скорость генерирования остается постоянной, потенциал равен:

$$E^{t_2}[\text{Me}^{\text{Ox}}\text{L}]/[\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}] = E_{[\text{Me}^{\text{Ox}}\text{L}]/[\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}]}^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{h \cdot C([\text{Me}^{\text{Ox}}\text{L}])^{t_1}}{C([\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}]^0) - h \cdot C([\text{Me}^{\text{Ox}}\text{L}]^{t_1})} \quad (12)$$

Расчет скорости генерирования проводили по уменьшению концентрации акцептора $[\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}]$ в каждый момент времени по формуле (13) исходя из разности потенциалов в момент времени t_1 и t_2 .

$$C([\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}]^{t_2}) = C([\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}]^0) - \frac{C([\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}]^0)(h - \varphi)}{h \cdot (1 - \varphi)} \quad (13)$$

где $\varphi = 10^{(E_1 - E_2) \cdot n \cdot F / RT \cdot 2,303}$; $C([\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}]^0)$ - исходная концентрация акцептора, М; $C([\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}]^{t_2})$ - концентрация акцептора в момент времени t_2 , М; E_1 - потенциал, измеренный через промежуток времени $t_1 = t$, В; E_2 - потенциал, измеренный через промежуток времени $t_2 = ht$, В; h - отношение t_1 к t_2 .

Скорость генерирования (W_i) пероксильных радикалов определяли по формуле:

$$W_i = d\{C([\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}])\}/dt, \quad (14)$$

где $C([\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}])$ - концентрация акцептора, М.

Константу скорости генерирования пероксильных радикалов (k_i) рассчитывали как:

$$k_i = \frac{W_i}{2 \cdot C(\text{AAPH})} \quad (15)$$

где $C(\text{AAPH})$ - концентрация инициатора ААРН, М.

При выборе реагента в качестве акцептора радикалов руководствовались следующими требованиями [22]:

Высокие значения условной константы устойчивости комплексов при $\text{pH}=7$;

Термодинамическая вероятность протекания реакции между генерируемыми радикалами и реагентом ($E_{\text{RO}_2^\bullet} > E_{\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}}$) в условиях, близких к физиологическим;

Образующаяся в результате реакции с пероксильными радикалами ОВ система типа $[\text{Me}^{\text{Ox}}\text{L}]/[\text{Me}^{\text{Red}}\text{L}]$ должна быть обратима;

Скорость взаимодействия пероксильных радикалов с реагентом должна быть несоизмеримо выше, чем скорость образования этих радикала;

Коэффициент ингибирования акцептора должен равняться 1.

В качестве возможных акцепторов пероксильных радикалов были исследованы комплексы железа. Комплексные соединения железа широко применяются в электрохимических методах анализа, в частности, в потенциометрии. Поскольку ОВП комплексного соединения зависит от природы лиганда, входящего в его состав (Таблица 3), это дает возможность выбрать соединение с необходимым потенциалом. При ОВ превращении ионов железа, входящих в комплексное соединение, происходит перенос одного электрона, что делает эти соединения удобными при использовании в качестве акцептора радикалов, т.к. одноэлектронный перенос будет обеспечивать обрыв одной радикальной цепи.

Данных об ОВП системы ААРН в литературе не приводится. Известно, что стандартные электродные потенциалы свободных радикалов, в т.ч. пероксильных, имеют значения от 0.7 В до 2.4 В (Таблица 1), что дает основание считать их веществами с ярко выраженными свойствами окислителя. Исходя из значений стандартных потенциалов системы $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ в составе различных комплексных соединений (таблица 3) в качестве акцептора пероксильных радикалов в дальнейших исследованиях использовали комплекс железа (II) с ЭДТА $[\text{Fe(II)-EDTA}]^{2-}$ и $\text{K}_4[\text{Fe(CN)}_6]$. С целью учета конкурирующих кислотно-основных взаимодействий, рассчитаны условные константы устойчивости комплексов при разных значениях pH раствора. Согласно расчетам, оба комплекса с железом (II) и (III) имеют значения условной константы устойчивости более 10^8 при pH=7.

На рисунке 8 приведены графики изменения потенциала системы от времени реакции 8. Зависимости изменения концентрации комплексов $[\text{Fe(II)-EDTA}]^{2-}$ и $\text{K}_4[\text{Fe(CN)}_6]$ во времени, рассчитанные по формулам 13-14, имеют практически линейный вид ($R^2=0.998$ и 0.996 соответственно), что дает возможность рассчитывать скорость генерирования пероксильных радикалов по расходованию акцептора.

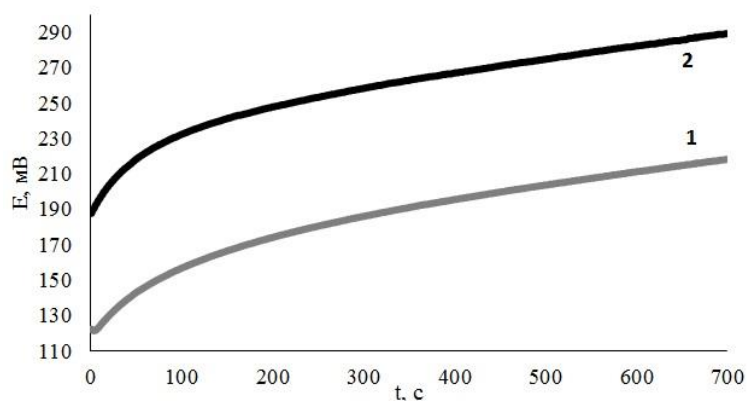


Рисунок 8 - Зависимости потенциала системы от времени, полученные при использовании 1 - $[\text{Fe(II)-EDTA}]^{2-}$, 2 - $\text{K}_4[\text{Fe(CN)}_6]$

В таблице 6 приведены значения величины скорости и константы скорости генерирования пероксильных радикалов, рассчитанные по изменению концентрации $[\text{Fe(II)-EDTA}]^{2-}$ и $\text{K}_4[\text{Fe(CN)}_6]$ в реакции 10.

Важно отметить, что данные, полученные с использованием $[\text{Fe(II)-EDTA}]^{2-}$ недостаточно воспроизводимы ($k_i \cdot 10^{-6} = 1.00 \pm 0.1$), а значение константы скорости генерирования (k_i) зависит от концентрации акцептора. Это может быть связано с низкой электрохимической обратимостью системы $[\text{Fe(II)-EDTA}]/[\text{Fe(II)-EDTA}]^{2-}$, выявленной методом ЦВА. Скорость генерирования, измеренная с использованием $\text{K}_4[\text{Fe(CN)}_6]$ в изученных условиях, не зависит от концентрации акцептора, следовательно порядок реакции по $\text{K}_4[\text{Fe(CN)}_6]$ можно принять равным нулю, а полученные константы скорости генерирования хорошо воспроизводятся при разных концентрациях акцептора ($k_i \cdot 10^{-6} = 0.92 \pm 0.06$ ($S_r = 0.04$)). Таким образом, в качестве акцептора радикалов выбран гексацианоферрат калия, как наиболее полно удовлетворяющий перечисленным выше требованиям.

Таблица 6 - Скорость (W_i) и константа скорости генерирования (k_i) $\text{RO}_2^\cdot$, рассчитанные по изменению концентрации акцептора ($C_{\text{АПРН}} = 0.1 \text{ М}$, $T = 37^\circ\text{C}$) ($n=5$, $P=0.95$)

Соединение	C, mM	$W_i, 10^{-7} \text{ М} \cdot \text{с}^{-1}$	S_r	$k_i, 10^{-6} \text{ с}^{-1}$	$\bar{k}_i, 10^{-6} \text{ с}^{-1}$
$[\text{Fe(II)-EDTA}]^{2-}$	0.20	2.4 ± 0.2	0.07	1.18 ± 0.08	1.00 ± 0.1 ($S_r = 0.13$)
	0.25	1.9 ± 0.2	0.08	0.97 ± 0.08	
	0.30	1.7 ± 0.1	0.08	0.86 ± 0.07	
$(\text{K}_4[\text{Fe(CN)}_6])$	0.15	1.7 ± 0.1	0.05	0.87 ± 0.07	0.92 ± 0.06 ($S_r = 0.04$)
	0.20	1.9 ± 0.2	0.06	0.94 ± 0.09	
	0.25	1.8 ± 0.1	0.04	0.88 ± 0.06	
	0.30	1.9 ± 0.1	0.03	0.97 ± 0.05	

Известно, что в отсутствие акцептора радикалов, устанавливается стационарная концентрация радикалов:

$$[\text{RO}_2^{\bullet}] = (W_i/2k_2)^{0.5} \quad (16)$$

В присутствии $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ радикалы вступают в реакции рекомбинации и взаимодействия с реагентом. В стационарных условиях скорость инициирования радикалов равна скорости их расходования:

$$W_i = 2k_2 \cdot [\text{RO}_2^{\bullet}]^2 + k_3 \cdot [\text{RO}_2^{\bullet}][\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]] \quad (17)$$

При высокой концентрации $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, когда выполняется условие:

$$k_3 \cdot [\text{RO}_2^{\bullet}][\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]] \gg 2k_2 \cdot [\text{RO}_2^{\bullet}]^2 \quad (18)$$

практически все образующиеся радикалы реагируют с $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. При этом квадратичной гибелью $\text{RO}_2^{\bullet}$ можно пренебречь, и скорость расходования $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ равна скорости инициирования:

$$-d[\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]] / dt = d[\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]] / dt = W_i \quad (19)$$

Таким образом, при расчете скорости генерирования радикалов необходимо соблюдать следующие условия:

концентрация $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ должна быть достаточной для подавления квадратичной гибели радикалов;

скорость взаимодействия пероксильных радикалов с $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ должна быть несоизмеримо выше скорости генерирования самих радикалов.

Концентрацию $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, необходимую для подавления квадратичной гибели радикалов можно оценить, исходя из выражений (17-18), через величину k_3 , которая характеризует активность $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ в реакции с оксидантом $\text{RO}_2^{\bullet}$:

$$[\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]] \gg 2k_2 \cdot [\text{RO}_2^{\bullet}] / k_3 \quad (20)$$

$$[\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]] \gg (2k_2 \cdot W_i)^{0.5} / k_3 \quad (21)$$

Определить величину k_3 можно из анализа кинетических кривых расходования $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ при относительно высоких значениях скорости генерирования и малых концентрациях $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, когда радикалы вступают, преимущественно, в реакции рекомбинации. Скорость расходования $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ в этом случае равна:

$$-d[\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]] / dt = a[\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]] \quad (22)$$

Интегральные кинетические кривые описываются уравнением 1-го порядка:

$$[\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]] = [\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]]_0 \exp(-a \cdot t) \quad (23)$$

$$\ln [\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]] = \ln [\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]]_0 - a \cdot t, \quad (24)$$

где $a = k_3 \cdot [\text{RO}_2^\bullet]$.

При $[\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]] \rightarrow 0$, концентрация $[\text{RO}_2^\bullet] \rightarrow (W_i/2k_2)^{0.5}$, а величина $a \rightarrow k_3 \cdot (W_i/2k_2)^{0.5}$.

Экспериментально установлено [23], что скорость генерирования и константа скорости генерирования не зависят от концентрации реагента в интервале (0.01 – 0.2) мМ для 0.05 М ААРН и (0.04 – 0.5) мМ для 0.1 М ААРН, следовательно, порядок реакции по $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ можно принять равным нулю.

На рисунке 9 приведена зависимость начального наклона полулогарифмических анаморфоз кривых изменения концентрации $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ от исходной концентрации $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Кривые линеаризируются в полулогарифмических координатах и тангенс угла наклона анаморфоз увеличивается с уменьшением концентрации $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ до предельного значения 0.0334 для 0.1 М ААРН и 0.0289 для 0.05 М ААРН. Используя значение константы рекомбинации, приведенное в литературе, равное $2k_2 = 5.2 \cdot 10^4 \text{ (M} \cdot \text{c)}^{-1}$ можно оценить значение $k_3 = (1.9 \pm 0.2) \cdot 10^4 \text{ (M} \cdot \text{c)}^{-1}$. Достаточно высокое значение k_3 указывает на эффективность выбранного реагента $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ в качестве акцептора радикалов, а также на то, что скорость взаимодействия пероксильных радикалов с $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ несоизмеримо выше, чем скорость образования самих радикалов.

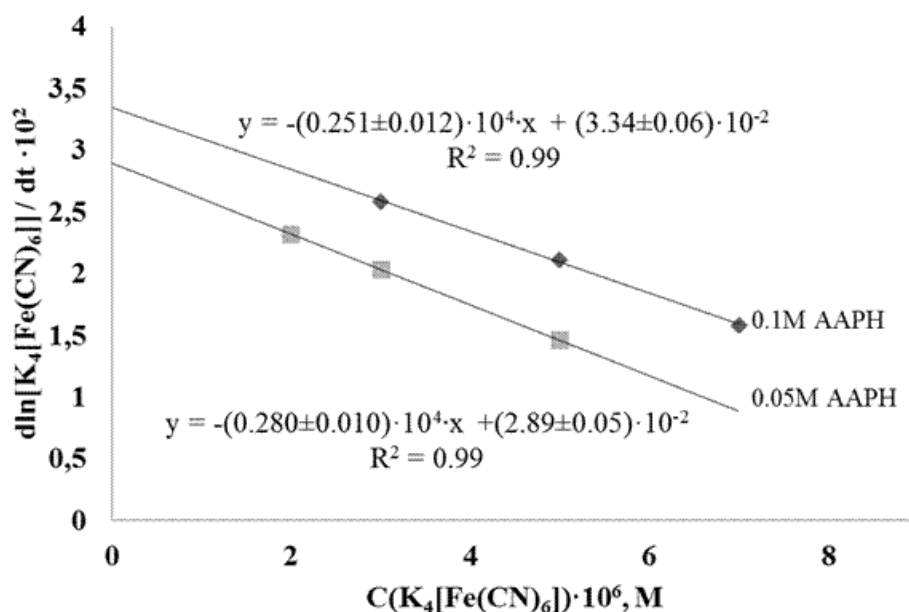


Рисунок 9 - Зависимость параметра a от начальной концентрации $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$

В таблице 7 приведены соответствующие значения скорости и константы скорости генерирования пероксильных радикалов, полученные при разных концентрациях ААРН в фосфатном буферном растворе при 37⁰С. Линейный характер зависимости ($R^2=0.99$) скорости образования пероксильных радикалов от концентрации ААРН ($C_{\text{ААРН}}$) позволяет использовать для расчета скорости выражение (14), справедливого для реакции первого порядка по инициатору.

Таблица 7 - Скорость генерирования (W_i) и константа скорости генерирования (k_i) пероксильных радикалов определенные по реакции взаимодействия $K_4[Fe(CN)_6]$ с ААРН в разных концентрациях ($C(K_4[Fe(CN)_6]) = 0.2\text{мМ}$, $n=5$, $P=0.95$)

$C_{\text{(ААРН)}}, \text{М}$	$W_i, 10^{-7} \text{М} \cdot \text{с}^{-1}$	S_r	$k_i, 10^{-6} \text{с}^{-1}$
0.05	1.05 ± 0.01	0.01	1.00 ± 0.01
0.10	2.00 ± 0.04	0.02	1.00 ± 0.02
0.15	2.87 ± 0.03	0.01	0.96 ± 0.01
0.20	3.8 ± 0.1	0.03	0.96 ± 0.03
0.30	5.4 ± 0.1	0.02	0.90 ± 0.02
			$k_{\text{ср}} \cdot 10^6 = 0.96 \pm 0.04 \text{с}^{-1} (S_r=0,04)$

В ходе исследования кинетики генерирования пероксильных радикалов определены диапазоны рабочих концентраций реагента при разных концентрациях инициатора, которые составили (0.01 – 0.2) мМ для 0.05 М ААРН и (0.04 – 0.5) мМ для 0.1 М ААРН. Значение скорости и константы скорости генерирования пероксильных радикалов при $C_{\text{ААРН}} = (0.05 – 0.3) \text{М}$ составили $W_i = (1.05 – 5.4) \cdot 10^{-7} \text{М} \cdot \text{с}^{-1}$, $k_{\text{ср}} = (1.00 \pm 0.02) \cdot 10^6 \text{с}^{-1}$. Полученные данные согласуются с литературными.

Таким образом, новый подход для исследования кинетики реакции генерирования пероксильных радикалов с использованием восстановленной формы металла в составе комплексного соединения $K_4[Fe(CN)_6]$ в качестве акцептора радикалов с потенциометрической детекцией позволяет получать достоверные данные о константе скорости генерирования пероксильных радикалов, согласующиеся с литературными. Предложенный подход может быть применен для исследования кинетики других радикал-генерирующих систем, используемых в качестве модельных реакций образования свободных

радикалов. Полученное значение константы скорости генерирования пероксильных радикалов будет использоваться далее при расчете АРЕ.

Потенциометрическое определение антирадикальной емкости

В данной работе впервые установлена закономерность изменения ОВП системы в процессах генерирования пероксильных радикалов и их реакции с АО [12]. На рисунке 10 представлены классические кривые изменения люминесценции при добавлении к ААРН тролокса в разных концентрациях (10а), где участок АВ соответствует инициированию радикальной реакции, ВС - взаимодействию генерируемых радикалов с ингибитором (период индукции), CD - завершению периода индукции и дальнейшему радикальному инициированию. На рисунке 10б приведены типичные кинетические кривые изменения потенциала от времени при добавлении к ААРН аскорбиновой кислоты при протекании тех же процессов.

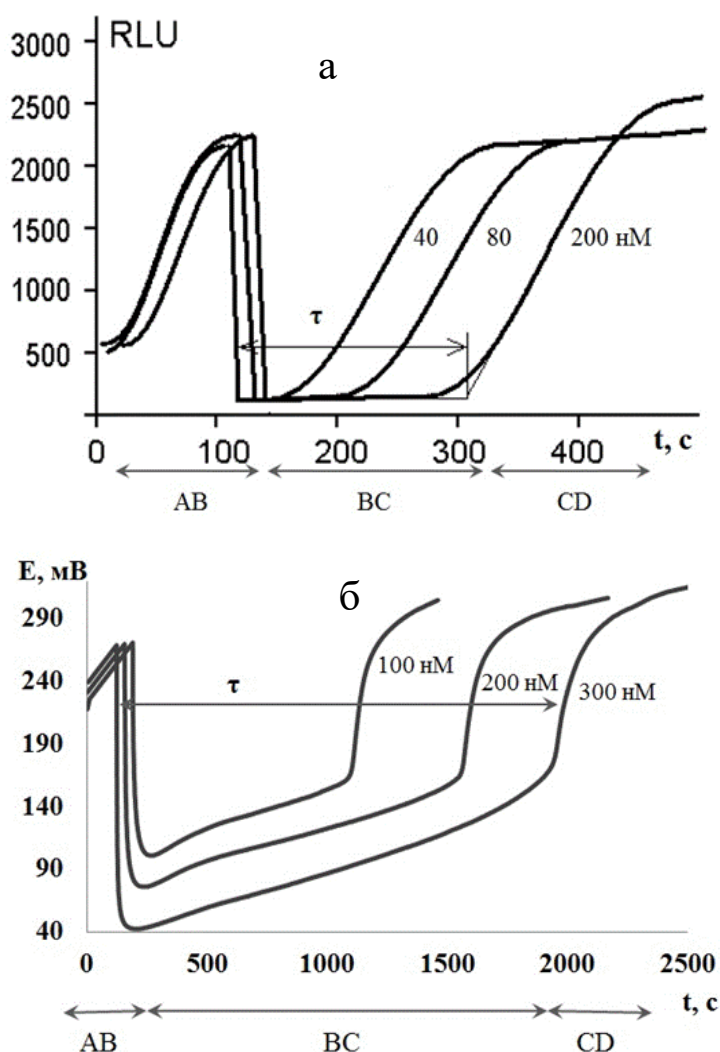
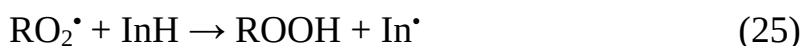


Рисунок 10 – Кинетические кривые изменение интенсивности люминесценции (а) и потенциала (б) при добавлении к ААРН Тролокса (а), аскорбиновой кислоты (б)

Аналогичный вид кинетических кривых, а также электронно-протонно-донорно-акцепторный характер взаимодействия антиоксидантов с пероксильными радикалами позволили предложить методику определения АРЕ, основанную на измерении потенциала системы.

Ключевыми стадиями свободнорадикального окисления являются инициирование радикалов и ингибирование их АО. На рисунке 10б на участке АВ наблюдается рост потенциала за счет генерирования пероксильных радикалов в системе по реакции 8. Введение в электрохимическую ячейку ингибиторов радикальных реакций сопровождается снижением потенциала системы (начало участка ВС рисунок 10б) в результате реакции переноса атома водорода с АО на пероксильные радикалы, за которой следуют реакции рекомбинации:



При наличии в системе АО потенциал остается неизменным или незначительно увеличивается, а завершение периода индукции сопровождается резким повышением потенциала (завершение участка ВС рисунок 10б). Период индукции может быть определен из кинетической кривой в точке перегиба, как принято в классических методах. В данной работе предлагается определять период индукции как время от введения антиоксиданта в раствор инициатора до точки, соответствующей максимальной скорости изменения потенциала $(dE/dt)_{\max}$.

Антирадикальная емкость рассчитывается по формуле [12]:

$$\text{АРЕ} = f[\text{InH}] = k_i \cdot [\text{AAPH}] \cdot \tau, \quad (28)$$

где АРЕ – антирадикальная емкость, М-экв; τ – период индукции, с; $[\text{InH}]$ – концентрация антиоксиданта, М; k_i – константа скорости генерирования пероксильных радикалов, с^{-1} ; $[\text{AAPH}]$ – концентрация инициатора радикалов, М; f – коэффициента ингибирования.

Для подтверждения правильности определения периода индукции с использованием метода дифференцирования функции зависимости потенциала от времени, проводили определение остаточной концентрации антиоксиданта в течение всего периода индукции. В таблице 8 представлены результаты определения периода индукции, полученные из производной

зависимости потенциала от времени (τ^*) и найденные экстраполяцией зависимости остаточной концентрации аскорбиновой кислоты и цистеина от времени взаимодействия (τ^{**}). Статистически значимых различий между полученными значениями не выявлено, поэтому определение периода индукции по точке максимальной скорости изменения потенциала $(dE/dt)_{\max}$ является обоснованным.

Таблица 8 - Результаты определения периода индукции аскорбиновой кислоты и цистеина при разных концентрациях ($n=5$, $P=0.95$)

Антиоксиданты	C, mM	τ^* , мин	S_r	τ^{**} , мин	S_r
Аскорбиновая кислота	0.1	14.9 ± 0.3	0.02	15.3 ± 0.5	0.03
	0.2	29.1 ± 0.8	0.03	29.4 ± 0.9	0.03
Цистеин	0.1	11.5 ± 0.3	0.03	11.1 ± 0.3	0.03
	0.2	18.2 ± 0.4	0.02	17.7 ± 0.4	0.02

На рисунке 11 приведены интегральные (а) и дифференциальные (б) кинетические кривые изменения потенциала при добавлении к 0.1 М ААРН цистеина в разных концентрациях.

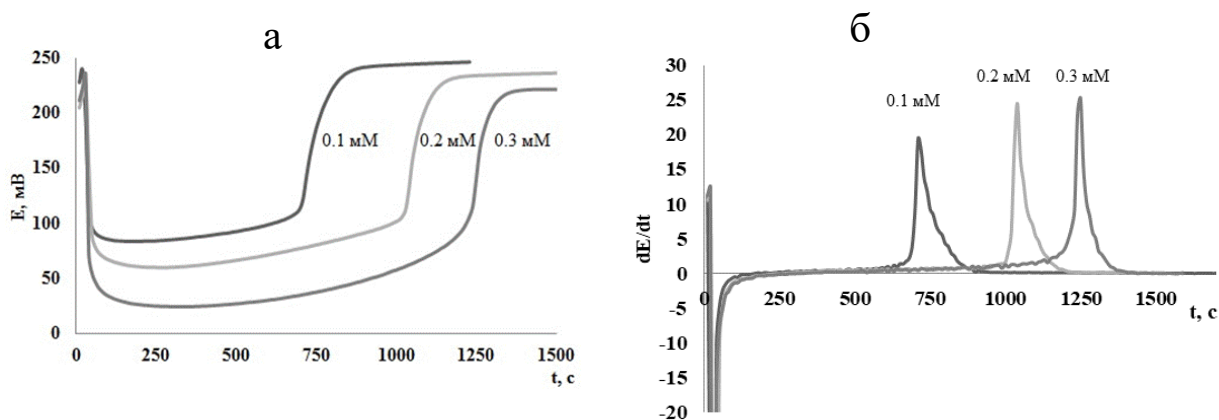


Рисунок 11. Интегральные (а) и дифференциальные (б) кинетические кривые изменения потенциала при добавлении к 0.1М ААРН цистеина в разных концентрациях

Результаты определения коэффициентов ингибирования (f), периодов индукции (τ) и антирадикальной емкости аскорбиновой кислоты и цистеина в разных концентрациях приведены в таблице 9. Коэффициент ингибирования уменьшается с ростом концентрации, что согласуется с литературными

данными, полученными при использовании методов регистрации, основанных на других физико-химических принципах.

Таблица 9. АРЕ, период индукции и коэффициент ингибирования аскорбиновой кислоты и цистеина ($C_{AAPH}=0.1M$; $n=5$, $P=0.95$)

АО	C, ммоль/дм ³	АРЕ, ммоль- экв/дм ³	τ , мин	f	S _r
Аскорбиновая кислота	0.10	0.22±0.01	18.2	2.2	0.05
	0.20	0.36±0.04	30.2	1.8	0.01
	0.30	0.44±0.02	34.5	1.5	0.04
	0.40	0.52±0.05	42.8	1.3	0.01
Цистеин	0.10	0.13±0.01	11.5	1.3	0.01
	0.20	0.20±0.01	18.1	1.0	0.05
	0.30	0.23±0.04	20.0	0.8	0.02
	0.40	0.32±0.03	27.2	0.7	0.01

Исследованы модельные растворы АО, содержащих -ОН, -NH, -SH функциональные группы (таблица 10). Коэффициенты ингибирования изученных антиоксидантов принимают значения от 1 до 4, что связано как с их строением, т.е. с количеством активных групп в молекуле антиоксиданта, так и с механизмом обрыва цепей на молекуле антиоксиданта.

Таблица 10 – АРЕ, период индукции и коэффициент ингибирования модельных растворов антиоксидантов ($C_{AAPH}=0.1M$, $C_{АО}=10^{-4}M$; $n=5$, $P=0.95$)

АО	τ , мин	f	АРЕ, 10 ⁻⁴ моль- экв/дм ³	S _r
Мочевая кислота	26.2	3.1	3.1±0.2	0.05
Глутатион	10.8	1.3	1.31±0.03	0.02
Флороглюцин	17.7	2.1	2.1±0.1	0.07
Пирогаллол	27.8	3.2	3.2±0.2	0.05
Катехин	35.6	4.2	4.23±0.08	0.02
Кверцетин	24.2	2.9	2.85±0.06	0.02
Галловая кислота	13.0	4.1	4.1±0.2	0.05
Гидрохинон	31.8	3.8	3.75±0.04	0.01
Оксигидрохинон	7.2	0.9	0.85±0.03	0.03

В случае исследования многокомпонентных объектов антирадикальная емкость представляет собой суммарное содержание антиоксидантов:

$$APE = \sum_i f_i \cdot [InH]_i \quad (29)$$

Закономерное изменение потенциала связано с переносом атомов водорода с молекулы антиоксиданта на молекулу радикала в процессе ингибирования антиоксидантом пероксильных радикалов, инициируемых ААРН. На основе изучения этих зависимостей предложена оригинальная методика прямого безреагентного определения антирадикальной емкости.

Предложенный новый подход, основанный на реакции переноса атома водорода, позволяет определять как кинетические характеристики, такие как период индукции, так и термодинамические характеристики, а именно APE и коэффициент ингибирования индивидуальных АО. Методики являются достаточно информативными, простыми в исполнении, не требуют дорогостоящего оборудования и реактивов, позволяют проводить исследования разных по составу проб, получать воспроизводимые результаты.

Исследование АОЕ и APE реальных объектов

С использованием разработанных потенциометрических методов исследованы АОЕ и APE большого круга объектов: индивидуальных природных и синтезированных АО, различных продуктов питания, растительных экстрактов, биологических объектов.

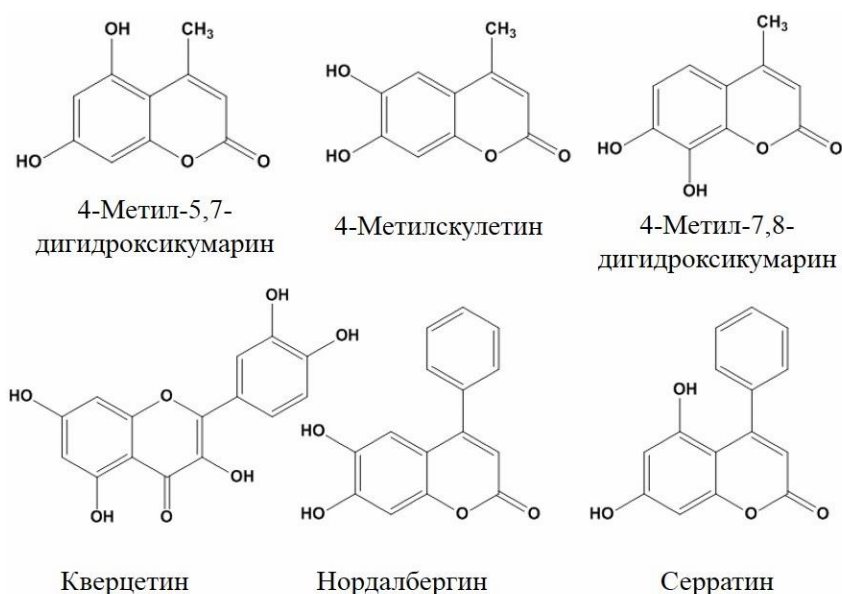


Рисунок 12 – Структура производных кумаринов

Определение АОЕ природных окси- и бензо- производных кумаринов

Кумарины широко распространены в растительном мире и рассматриваются как перспективные нетоксичные антиоксиданты для применения в медицине. Некоторые соединения представлены на рисунке 12.

Данные, представленные в таблице 11 указывают на взаимосвязь величины АОЕ и структуры соединений. Различное положение ОН-групп сопровождается различием их антиоксидантных свойств (затрудненном переносе электрона от функциональных ОН- групп молекул с мета-положением) и согласуется с расчетными данными, описанными в литературе.

Таблица 11 - АОЕ, стехиометрические коэффициенты и период полупревращения окси- и бензо- производных кумаринов ($C_{AO}=10^{-4}$ М; $n=5$, $P=0.95$)

АО	АОЕ, 10^{-4} моль-экв/дм ³	S_r	$\bar{n}_{\text{эксп}}$	$\tau_{1/2}$, с
Кверцетин	4.8 ± 0.2	0.05	4.8	19
4-метилскулетин	3.25 ± 0.07	0.02	3.25	78
4-метил-7,8-дигидроксикумарин	3.54 ± 0.06	0.03	3.54	286
4-метил-5,7- дигидроксикумарин	0.98 ± 0.05	0.05	0.98	1087
Нордалбергин	2.96 ± 0.07	0.03	2.96	26
Серратин	0.64 ± 0.01	0.01	0.64	1658

$\bar{n}_{\text{эксп}}$ – стехиометрический коэффициент уравнения (9), рассчитанный по формуле (14).

Представленные данные демонстрируют, что результаты в целом объективно отражают антиоксидантные свойства природных производных кумаринов, а предложенный подход может быть использован для изучения их АОЕ.

Интегральная оценка АОЕ пищевых продуктов

Информация об АОЕ продуктов питания может быть использована для оценки качества как самого продукта, так и характеристики сырья и анализа особенностей технологии его изготовления [24].

В таблице 12 приведены результаты потенциометрического определения АОЕ вин в сравнении с общим содержанием полифенольных соединений. Коэффициент корреляции составил 0,97.

Таблица 12 - Результаты потенциометрического определения АОЕ вин и общего содержания фенольных соединений (ОПФ) (n=6, p=0.95)

Объект исследования	№	Потенциометрия		Метод Фолина-Чокальтеу	
		АОЕ, ммоль-экв/дм ³	S _r	мм (+)катехина	S _r
натуральные белые полусладкие вина	1	1.2	0.01	1.1	0.02
	2	1.6	0.05	1.0	0.02
	5	1.6	0.01	1.0	0.02
	6	1.9	0.01	0.8	0.01
	7	2.0	0.01	1.1	0.03
натуральные белые сухие вина	3	1.6	0.07	0.9	0.01
	4	1.6	0.05	1.2	0.02
	8	2.4	0.01	1.1	0.02
	9	2.8	0.04	1.3	0.01
	10	3.0	0.04	1.2	0.04
натуральные красные полусладкие вина	11	5.9	0.05	2.6	0.02
	12	12.3	0.03	6.1	0.01
	13	12.3	0.04	6.1	0.01
	14	17.6	0.04	5.7	0.02
натуральные красные сухие вина	15	14.1	0.02	8.1	0.01
	16	20.6	0.05	8.0	0.01
	17	23.9	0.05	8.7	0.01
	18	30.4	0.07	10.4	0.01
	19	32.0	0.01	10.9	0.01

Значения АОЕ исследованных образцов пива в целом коррелировали с содержанием экстрактивных веществ в исходном сырье. Наименьшее значение АОЕ было найдено для безалкогольного пива, а наибольшее – в темных сортах пива. Полученные результаты согласуются с данными определения содержания восстанавливающих соединений в пиве с 2,6-дихлорфенол-индофенолятом На методом вольтамперометрии, где наиболее высокий уровень был отмечен при исследовании темного пива, а самый низкий – в сортах, подвергавшихся дезалкоголизации.

Интегральная оценка АОЕ и АРЕ экстрактов растительного сырья

Основными соединениями, обеспечивающими антиоксидантные свойства лекарственного растительного сырья, являются полифенольные соединения, общее содержание которых определяли методом Фолина-Чокальтеу. Коэффициент корреляции общего содержания полифенольных соединений с полученными значениями АОЕ составляет 0.98, а со значениями АРЕ – 0.99. Высокая степень корреляции подтверждает корректность получаемых результатов.

В таблице 13 представлены результаты потенциометрического определения АРЕ и АОЕ экстрактов чая. В целом, значения АОЕ и АРЕ для исследованных чаев коррелируют: степень корреляции составила 0.85. Разница в значениях АРЕ и АОЕ связаны с использованием различных моделей, основанных на разных механизмах реакции АО с окислителем: переносе электрона и переносе атома водорода.

Таблица 13 - Антирадикальная и антиоксидантная емкость чая (P=0.95; n=5)

Марка чая	АРЕ, 10 ⁻² моль-экв/дм ³	S _r	АОЕ, 10 ⁻² моль-экв/дм ³	S _r
Marcony (Чай черный)	1.06±0.02	0.02	1.60±0.03	0.02
Nadin 1002 ночь	0.33±0.01	0.02	1.09±0.01	0.01
Greenfield. Earl Gray Fantasy	1.38±0.04	0.03	1.24±0.01	0.01
Rumuk. Black tea	0.72±0.01	0.02	1.49±0.04	0.03
Ahmad Breakfast	1.33±0.04	0.03	1.97±0.02	0.07
Каждый день. Жасмин	3.28±0.03	0.01	2.9±0.2	0.03
Китайский зеленый чай	3.79±0.04	0.01	2.92±0.03	0.08
Травяной чай «Витаминный»	0.44±0.01	0.01	0.32±0.03	0.05
Травяной чай «Отличное зрение»	0.35±0.01	0.03	0.56±0.03	0.01
Травяной чай «Для похудения»	0.28±0.01	0.03	0.56±0.02	0.01

Приведенный пример демонстрирует, что АО, входящие в состав одного и того же чая, могут по-разному проявлять себя в реакциях электронного и электронно-протонного переноса.

Определение АОЕ биологических объектов

Учитывая сложный состав биологических объектов, изучение АОЕ этих объектов требовало проведения дополнительных исследований связанных с анализом растворов, моделирующих состав крови, выбором рабочих концентраций компонентов модельного окислителя, выбора антикоагулянта, степени разбавления анализируемых образцов, влияния условий отбора, хранения и подготовки биологических образцов к анализу. При выборе АО и их концентраций для приготовления модельного раствора опирались на средние значения диапазона содержания, определенные из литературных данных [25]. Для моделирования белкового состава плазмы использовался альбумин. Результаты анализа модельного раствора приведены в таблице 14.

Таблица 14 - Результаты определения АОЕ раствора, моделирующего антиоксидантный состав плазмы крови (ммоль-экв/дм³, n=5, P=0.95)

Соединение	Концентрация	АОЕ ожидаемая	АОЕ измеренная	S _r
Мочевая кислота	0.37·10 ⁻³ М	0.70	0.75±0.03	0.02
Аскорбиновая кислота	0.06·10 ⁻³ М			
Глутатион	0.02·10 ⁻³ М			
Цистеин	0.015·10 ⁻³ М			
Билирубин	0.01·10 ⁻³ М			
Альбумин	45 г/л			

Полученные результаты определения АОЕ модельного раствора соответствуют ожидаемому значению согласно его составу с учетом определенных стехиометрических коэффициентов.

На основании проведенных исследований осуществлен выбор рабочих условий определения АОЕ исследуемых образцов. При исследовании способа предотвращения коагуляции крови показано, что гепарин, цитрат натрия и ЭДТА не влияют на результаты определения АОЕ и могут быть использованы в качестве антикоагулянтов. В качестве метода разрушения клеточных мембран клеток крови был выбран термический гемолиз.

Результаты определения АОЕ крови и её фракций представлены в таблице 15.

Таблица 15 - АОЕ цельной крови, плазмы и эритроцитарной массы (ммоль-экв/дм³, n = 5, P = 0.95)

Объект	Цельная кровь		Эритроцитарная масса		Плазма	
№	АОЕ	S _r	АОЕ	S _r	АОЕ	S _r
1	12.0 ± 0.5	0.02	18.6±0.7	0.05	1.00±0.04	0.03
2	8.9±0.1	0.05	19.5±0.3	0.03	1.10±0.07	0.03
3	11.6±0.6	0.02	25.5±0.6	0.07	1.59±0.02	0.05
4	6.4±0.3	0.02	18.5±0.6	0.03	0.99±0.06	0.03
5	10.3±0.5	0.02	16.9±0.5	0.04	0.96±0.03	0.03
6	10.2±0.2	0.01	22.8±0.6	0.04	1.20±0.08	0.02
7	12.6±0.1	0.03	22.2±0.8	0.04	1.06±0.04	0.02
8	11.7±0.3	0.01	18.8±0.4	0.03	1.09±0.05	0.03

Одним из подтверждений правильности получаемых результатов являются результаты анализа контрольного образца сыворотки крови, полученного потенциометрическим методом. В результате анализа контрольного образца сыворотки, концентрация антиоксидантов в котором составляет 1.55 ммоль-экв/дм³, найденная потенциометрическим методом АОЕ при t = 37°C составила 1.50 ± 0.08 ммоль-экв/дм³.

Результаты сравнительного анализа образцов сыворотки крови способами TAS (Randox) и потенциометрии показывают, что соотношение между величинами (TAS/АОЕ) составляет в среднем 1.01 ± 0.04 (для плазмы 44 пациентов) и 1.15 ± 0.03 (для сыворотки 10 пациентов). Полученные значения АОЕ плазмы и сыворотки крови укладываются в пределы, указанные в литературе [25].

Определение АОЕ и АРЕ витаминных препаратов

Антиоксидантные лекарственные препараты широко применяются в качестве основных средств терапии или как дополнительные средства коррекции при лечении широкого круга заболеваний [26]. В связи с этим исследование лекарственных препаратов с антиоксидантными свойствами является современной актуальной задачей. В таблице 16 представлены результаты определения суммарного количества моль эквивалентов АО, найденного в витаминных препаратах на основе аскорбиновой кислоты в водной среде и

витаминовых комплексов на основе А/С/Е - витаминов в водно-этанольной среде, рассчитанного на 1 таблетку для таблетированных форм и на 1 мл для растворов ($\sum n_{\text{эксп}}$) в сравнении с содержанием, заявленным производителем ($\sum n_{\text{произ}}$) [27].

Таблица 16 - Результаты измерений АОЕ и АРЕ витаминных препаратов и витаминных комплексов (n=10, P=0.95)

Наименование	АОЕ		АРЕ		$\sum n_{\text{произ}}, 10^{-4}$ моль
	$\sum n_{\text{эксп}}, 10^{-4}$ моль	S_r	$\sum n_{\text{эксп}}, 10^{-4}$ моль	S_r	
АК в драже*	6.30	0.06	6.71	0.07	5.68
Мультифорт*	7.99	0.01	6.30	0.02	5.68
АК р-р для инъекций**	6.69	0.06	6.63	0.03	2.84
АК с глюкозой*	3.78	0.04	3.57	0.02	7.10
Веторон**	7.05	0.04	6.90	0.08	5.43
Морской кальций*	1.57	0.04	1.20	0.05	1.14
АК с декстрозой*	21.15	0.02	21.78	0.03	5.57
Перфектил*	3.30	0.04	5.40	0.02	5.68

* - рассчитано на 1 таблетку; ** - рассчитано на 1 мл раствора

Данные таблицы демонстрируют хорошую согласованность экспериментально полученных значений АОЕ и АРЕ со значениями, рассчитанными исходя из заявленного производителем содержания действующих в них веществ. Коэффициент корреляции результатов составил 0,97. Высокая степень корреляции обусловлена тем, что основой препаратов является аскорбиновая кислота, которая вступает одинаково как в реакции переноса электрона, так и в реакции переноса атома водорода.

Определение АОЕ растворов для офтальмологического применения

Существует большое количество работ, показывающих эффективность применения АО для профилактики и лечения различных заболеваний глаз [28-31]. Однако исследования, направленные на изучение антиоксидантных и противорадикальных свойств самих офтальмологических средств, практически не представлены. В таблице 17 приведены значения периодов полупревращения ($\tau_{1/2}$) и АОЕ, полученные потенциометрическим методом, и значения противорадикальной активности (ПРА), полученные

спектрофотометрическим способом на модели ДФПГ для исследуемых лекарственных форм [32]. Период полупревращения может являться дополнительной характеристикой действия препаратов с точки зрения эффективности их воздействия и пролонгированного действия, а также сроков хранения. Степень корреляции результатов определения АОЕ и ПРА, полученных с использованием различных подходов, составляет 0.96. Высокая степень корреляции, возможно, обусловлена тем, что в основе используемых способов лежит перенос электрона с АО на окислитель. Информация об антиоксидантных свойствах офтальмологических лекарственных форм может быть использована для повышения эффективности лечения заболеваний различного генеза.

Таблица 17 - Значения АОЕ и ПРА лекарственных форм (n=3, P=0.95)

Название препарата	$\tau_{1/2}$, мин	АОЕ, 10^{-4} моль-экв/дм ³	S _r	ПРА (%)	S _r
Эмоксипин (капли для глаз)	7.7±0.4	138±7	0.05	98±3	0.03
Офтан Катахром	3.0±0.3	6.0±0.7	0.11	7.2±0.6	0.08
Квинакс	0.78±0.07	2.9±0.3	0.09	20±1	0.06
Офтан Тимолол	5.9±0.2	5.2±0.2	0.04	4.9±0.2	0.03
Офтан Дексаметазон	6.8±0.3	6.5±0.9	0.10	9±1	0.07
Люксфен	9.07±0.09	2.90±0.03	0.01	-	-
Каталин	4.4±0.1	2.37±0.07	0.03	8.8±0.4	0.04
Эмоксибел	2.6±0.2	3.6±0.3	0.08	5.0±0.3	0.06
Эмоксипин (р-р для инъекций)	2.5±0.1	3.9±0.2	0.05	5.6±0.3	0.05
Визомитин	7.1±0.4	0.01±0.000(6)	0.06	0.04±0.00(3)	0.07
Тауфон	-	-	-	-	-

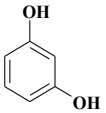
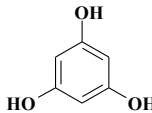
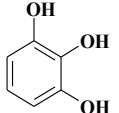
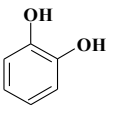
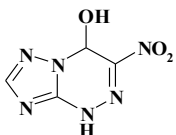
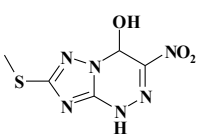
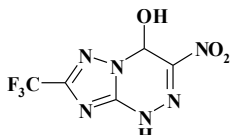
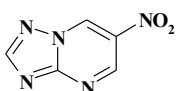
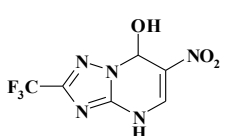
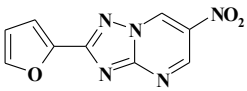
Определение АОЕ и АРЕ синтезированных соединений

Большой интерес в последнее время вызывают исследования в области направленного синтеза целевых молекул с различными видами биологической активности, в том числе и антиоксидантной.

Известно, что при возникновении заболеваний вирусной этиологии в организме наступает состояние окислительного стресса, связанное с

избыточной генерацией АКМ радикальной и нерадикальной природы, которое утяжеляет течение заболевания. При развитии инфекционных

Таблица 18 - АОЕ (S_T) и АРЕ (S_T) аддуктов азолазинов с полифенолами (10^{-4} моль/дм³, n=5, P=0,95)

Азолазин		Полифенол			
					
		-	2.8±0.2 (0.08)	5.2±0.1 (0.02)	4.9±0.2 (0.04)
		-	2.26±0.04 (0.02)	2.84±0.03 (0.01)	7.1±0.1 (0.02)
	-	-	1.49±0.03 (0.02)	2.93±0.03 (0.01)	3.56±0.07 (0.02)
	3.65±0.08 (0.02)	9.0±0.1 (0.01)	3.42±0.07 (0.02)	10.80±0.03 (0.003)	8.1±0.2 (0.03)
	-	1.23±0.02 (0.02)	1.37±0.03 (0.02)	4.21±0.09 (0.02)	2.9±0.2 (0.08)
	2.82±0.03 (0.01)	6.9±0.1 (0.01)	0.31±0.01 (0.03)	2.83±0.04 (0.01)	8.0±0.1 (0.01)
	-	0.97±0.07 (0.07)	1.32±0.05 (0.04)	3.18±0.03 (0.01)	4.31±0.04 (0.01)
	3.81±0.03 (0.01)	4.72±0.01 (0.002)	6.37±0.03 (0.004)	10.5±0.3 (0.03)	8.1±0.2 (0.02)
	-	-	1.04±0.04 (0.04)	1.53±0.01 (0.01)	2.1±0.2 (0.08)
	-	6.07±0.03 (0.005)	5.53±0.06 (0.01)	6.28±0.06 (0.005)	5.86±0.08 (0.01)
	-	1.02±0.02 (0.02)	1.22±0.04 (0.03)	3.7±0.1 (0.03)	4.7±0.3 (0.21)
	-	9.9±0.4 (0.03)	6.72±0.08 (0.01)	2.4±0.2 (0.10)	14.57±0.09 (0.006)
	-	-	1.08±0.08 (0.07)	3.0±0.3 (0.09)	2.34±0.08 (0.03)

	-	6.90±0.03 (0.004)	0.713±0.06 (0.008)	11.1±0.1 (0.01)	-
--	---	----------------------	-----------------------	--------------------	---

заболеваний очень важно проводить не только противовирусную терапию, но и контролировать ОС организма, корректируя его препаратами антиоксидантного действия [33-36]. С целью создания препаратов двойного действия были синтезированы новые производные азагетероциклов, обладающие противовирусными свойствами, содержащие остатки моно-, двух- и полиатомных фенолов, отвечающих за антиоксидантное действие.

В таблице 18 представлены результаты определения АОЕ и АРЕ синтезированных аддуктов азолазинов с полифенолами. Практически все аддукты, за исключением резорцина и некоторых его производных, проявляют антиоксидантные свойства. Соединения с фрагментами пирокатехина, пирогаллола проявляют большую АОЕ относительно аддуктов, содержащих резорциновый и флороглюциновый фрагмент. На величину АОЕ также влияет тип азолазинового фрагмента. Аддукты, в основе которых лежит 6-нитро-триазолотриазин-7-ол проявляют большую АОЕ, чем соединения на основе 6-нитро-триазоло-пиримидин-7-олов. Это может быть объяснено тем, что появление в азинах дополнительного атома азота N5 (положение 5) приводит к смещению электронной плотности с фенольного фрагмента на азолазиновый фрагмент, что облегчает процесс переноса электрона при окислении.

В случае АРЕ наблюдается более сложная взаимосвязь способности переноса атома водорода со значением АРЕ. Наибольшее значение было получено для аддукта фторированного азолазина с пирокатехином.

Поскольку эти объекты являются новыми и данные об их антиоксидантных свойствах отсутствуют, были проведены корреляционные исследования с применением независимых методов. В таблице 19 представлены коэффициенты корреляции для всех применяемых методов (потенциометрических и спектрофотометрических с использованием реактивов Фолина-Чокальтеу и ДФПГ).

Таблица 19 - Корреляция результатов измерения

	АОЕ	ФЧ	ДФПГ	АРЕ
АОЕ	-	0.65	0.67	0.26
ФЧ	-	-	0.66	0.28

ДФПГ	-	-	-	0.40
АРЕ	-	-	-	-

Из представленных данных видно, что результаты, полученные способами, основанными на реакции переноса электрона, коррелировали на 65 - 67 %, тогда как результаты АРЕ показали низкие коэффициенты корреляции со всеми способами. Данный эксперимент подтверждает, что в случае более сложных структур и сопряжения фрагментов с различными типами активности, способность переноса электрона и атома водорода не коррелируют друг с другом. Для получения более полной и объективной информации о свойствах таких соединений, необходимо применять комплексные подходы, учитывающие различные механизмы реакции.

По результатам исследований наиболее перспективными соединениями, проявляющими антиоксидантные свойства, являются аддукты, содержащие в своей структуре остатки пирогаллола и пирокатехина и 6-нитротриазолотриазин-7-олы. Предлагаемый комплексный подход с использованием потенциометрического определения АОЕ и АРЕ может быть использован для скрининга новых синтезированных соединений в целях выявления наиболее перспективных кандидатов для создания полифункциональных фармпрепаратов.

Комплексное исследование является очень важным в интерпретации антиоксидантных свойств объектов. Несмотря на то, что в ряде случаев АОЕ и АРЕ коррелируют между собой, абсолютные значения этих величин разные, т.к. стехиометрические коэффициенты в реакциях электронного переноса и коэффициенты ингибирования в реакциях электронно-протонного переноса для одних и тех же АО могут существенно отличаться (Таблица 20). Кроме того, некоторые АО, такие как каротиноиды, не принимают участия в реакциях электронного переноса, тогда как являются эффективными ингибиторами пероксильных радикалов. И наоборот, некоторые восстановители, такие, как сульфит натрия, Sn(II), не являясь АО, участвуют в реакциях электронного переноса и могут искажать результаты определения АОЕ. Хелатирующие свойства полифенолов также будут вносить вклад в величину АОЕ.

Проведенные исследования в области электрохимического анализа для изучения антиоксидантных/антирадикальных свойств веществ позволили

развить теорию и практику потенциометрического метода, создать новые методологические подходы для комплексного количественного определения АОЕ/АРЕ различных объектов, основанных на механизмах химического действия АО в организме. Основой для создания новой методологии являлись обширные исследования как теоретического, так и прикладного характера.

Таблица 20 – Сравнение АО по механизмам химических превращений

Соединение	Механизм				
	I		II		III
	Реакция переноса электрона	n (число электронов)	Реакция переноса атома водорода	f (коэффициент ингибирования)	Реакция комплексообразования
Na₂SO₃	+	2	-	-	-
Sn(II)	+	2	-	-	-
β-каротин	-	-	+	1	-
Азолоазины	-	-	+	1-3	-
Пробукол	-	-	+	1	-
α-токоферол	+	1	+	2	-
Пирогаллол	+	4	+	3	+
Кверцетин	+	4	+	3	+
Катехин	+	4	+	4	+
Галловая кислота	+	5	+	4	+
Инол	+	1	+	2	-

Полученные результаты исследования имеют важное значение для смежных областей медицины, биохимии, биофизики, фармации, пищевой технологии, в которых изучаются процессы свободно-радикального окисления и антиоксидантного действия.

Предложенные новые подходы для потенциометрического определения АОЕ/АРЕ, основанные на реальных механизмах действия АО в организме, вместе с тем удовлетворяют ряду требований, от которых, в конечном итоге

зависит распространение аналитических методик, а именно: простота реализации; доступность аппаратного оформления; использование условий проведения анализа, близких к физиологичным; экспрессность измерения. Кроме того, потенциометрические измерения позволяют анализировать образцы со сложной матрицей, а также мутные и окрашенные образцы, что является очень актуальным, поскольку большинство объектов исследования - это растительные экстракты и биологические жидкости. При всех своих преимуществах предложенные новые потенциометрические методики определения АОЕ/АРЕ обладают высокими аналитическими и метрологическими характеристиками [37].

Перспективы дальнейшего развития предложенной методологии могут быть связаны с поиском новых моделей окислителей радикальной и нерадикальной природы для исследования липофильных объектов. Учитывая стратегию развития диагностических методов, направленной на миниатюризацию измерительной техники, связанной как с персонафицированной медициной, так и on-line анализом, а также преимущества электрохимических методов анализа, полученные исследования могут стать основой для создания потенциометрических портативных и проточных измерительных устройств для экспрессного определения параметров АОЕ/АРЕ широкого круга объектов.

Литература

- Tufan, A.N. Direct measurement of total antioxidant capacity of cereals: QUENCHER-CUPRAC method [Текст] / A.N. Tufan, S.E. Çekiç, M. Özyürek, K. Güçlü, R. Apak // *Talanta*. – 2013. – V. 108. – P. 136 – 142.
- Ghiselli, A. A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability [Текст] / A. Ghiselli, M. Serafini, G. Maiani, E. Azzini, A.Ferro-Luzzi // *Free Radical Biology and Medicine*. – 1987. – V. 18. – P. 29 – 36.
- Çekiç, S.D. Correlation of total antioxidant capacity with reactive oxygen species (ROS) consumption measured by oxidative conversion [Текст] / S.D. Çekiç, A. Çetinkaya, A.N. Avan, R. Apak // *Journal Agricultural Food Chemistry*. – 2013. – V. 61. – P. 5260 - 5270.
- Apak, R. Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity (IUPAC Technical Report) [Текст] / R. Apak, S. Gorinstein, V.Bohm, K.M. Schaich, M. Ozyurek, K. Guclu // © 2013 IUPAC: Pure Application Chemistry. – 2013. – V. 85. – №5. – P. 957–998.
- Зенков, Н.К. Окислительный стресс [Текст] / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньщикова – М.: МАИК «Наука/Интерпериодика». – 2001. – 343 с.
- Huang, D. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays [Текст] / D. Huang, B. Ou, R.L. Prior // *Journal Agricultural Food Chemistry*. – 2005. – V. 53. – P. 1841–1856.

- Perron, N.R. A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding [Текст] / N.R. Perron, J.L. Brumaghim // *Cell Biochemistry and Biophysics*. – 2009. – V. 53. – P. 75–100.
- Ivanova, A. V. Potentiometric Study of Antioxidant Activity: Development and Prospects [Текст] / A. V. Ivanova, E. L. Gerasimova, Kh. Z. Brainina // *Critical Reviews Analytical Chemistry*. – 2015. – V.45. – №.4. – P. 311–322.
- Bard, A. J. Standard Potentials in Aqueous Solution [Текст] / A. J. Bard, R. Parsons, J. Jordan // M. Dekker.: New York. – 1985. – 848 p.
- Brainina, Kh. Z. Potentiometry as a method of antioxidant activity investigation [Текст] / Kh. Z. Brainina, A. V. Ivanova, E. N. Sharafutdinova, E. L. Lozovskaya, E. I. Shkarina // *Talanta*. – 2007. – V.71. – P. 13–18.
- Меньщикова, Е.Б. Фенольные антиоксиданты в биологии и медицине. Строение, свойства, механизмы действия [Текст] / Е.Б. Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.В. Кандалинцева – Saarbrücken, Deutschland.: LAPLAMBERT Academic Publishing. – 2012. – 488 с.
- Ivanova, A.V. New antiradical capacity assay with the use potentiometric method [Текст] / A.V. Ivanova, E. L. Gerasimova, E. R. Gazizullina // *Analytica Chimica Acta*. – 2019. – V. 1046. – P. 69–76.
- Rusina, I. F. Chemiluminescent methods for studying inhibited oxidation [Текст] / I. F. Rusina, O. N. Karpukhin, O. T. Kasaikina // *Russian Journal Physical Chemistry B*. – 2013. – Vol. 7. – № 4. – P. 463.
- Spasojević, I. Free radicals and antioxidants at a glance using EPR spectroscopy [Текст] / I. Spasojević // *Critical Reviews Clinical Laboratory Sciences*. – 2011. – Vol. 48. – № 3. – P. 114.
- Перевозкина, М.Г. Тестирование антиоксидантной активности полифункциональных соединений кинетическими методами [Текст] / М. Г. Перевозкина // Новосибирск: Изд. СибАК, 2014. — 240 с.
- Шишкина, Л.Н. Определение антиокислительной активности индивидуальных веществ и липидов на метилолеатной окислительной модели [Текст] / Л.Н. Шишкина // Исследование синтетических и природных антиоксидантов in vitro и in vivo. –1992. — С. 26.
- Yoshida, Y. Application of water-soluble radical initiator, 2,2'-azobis[2-(2-imidazolin-2-yl)propane] dihydrochloride, to a study of oxidative stress [Текст] / Y. Yoshida, N. Itoh, Y. Saito, M. Hayakawa, E. Niki // *Free Radical Research*. – 2004. – Vol. 38. – № 4. – P. 375.
- Werber, J. Analysis of 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride degradation and hydrolysis in aqueous solutions [Текст] / J. Werber, Y. J. Wang, M. Milligan, X. Li, J. A. Ji // *J. Pharmaceutical Sciences*. – 2011. – V. 100. – № 8. – P. 3307.
- Kraiev, A.G. Comparison of 2,2'-azobis(2-amidinopropane) hydrochloride (AAPH) and 2,2'-azobis(2,4-dimethylvaleronitrile) (AMVN) as free radical initiators: a spin-trapping study [Текст] / A.G. Kraiev, D.J. Bigelow // *Journal Chemical Society* – 1996. – V. 2. – P. 747.
- Пат. 2612132 РФ. МПК G01N 27/00, G01N 27/26, G01N 27/30, G01N 31/00. Способ потенциометрического определения скорости генерирования пероксильных радикалов / А.В. Иванова, Е.Л. Герасимова, Е.Р. Газизуллина, А.И. Матерн; заявл. 16.07.2015; опубл. 02.03.2017, бюл. № 7.
- Иванова, А. В. Исследование кинетики термического распада 2,2' азобис(2-метилпропионамидин)дигидрохлоридп потенциометрическим методом с использованием комплексов металлов[Текст] / А.В. Иванова, Е. Л. Герасимова, Е. Р. Газизуллина, А. Н. Козицина, А. И. Матерн// *Известия Академии наук. Серия химическая*. – 2016. – № 2. – С.419–424.
- Иванова, А. В. Потенциометрический метод определения кинетических характеристик радикальных реакций в водных средах /А. В. Иванова, Е. Л. Герасимова, Е. Р.

- Газизуллина, А. Г. Давлетчурина, А. Н. Козицина, О.Т. Касаикина // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2017. – № 8. – С. 1428 – 1432.
- Брайнина, Х.З. Исследование антиоксидантной активности жидкостей методом потенциометрии с использованием медиаторной системы / Х.З. Брайнина, А.В. Иванова, Е.Н. Шарафутдинова // Статья в Сборнике ИБХФ им. Эмануэля. Методы оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ лечебного и профилактического назначения. М.:РУДН. – 2005. – С.173-181.
- Brainina, Kh.Z. New Electrochemical Methods of Determining Anti-Oxidant Activity of Blood and Blood Fractions [Текст] / Kh.Z. Brainina, L.V. Alyoshina, E.L. Gerasimova, Ya.E. Kazakov, Ya.B. Beykin, S.V.Belyaeva, T.I. Usatova, O.V. Inzhevatoва, A.V. Ivanova, M.Ya. Khodos // Electroanalysis. – 2009 – V.21. – P. 618-624.
- Машковский, М. Д. Лекарственные средства. 16-е изд., перераб., испр. и доп. [Текст] / М. Д. Машковский // М.: Новая волна. – 2012. – 1216 с.
- Иванова, А. В. Определение антиоксидантной емкости объектов фармации потенциометрическим методом. Показатели точности измерений / А. В. Иванова, Е. Л. Герасимова, Е. Р. Газизуллина, Д. С. Тимина, Н. Л. Герасимова, А. В. Собина, Ж. В. Шалыгина, М. П. Крашенинина // Журн. аналитической химии. – 2019. – Т. 74.
- Fletcher, A. E. Free radicals, antioxidants and eye diseases: evidence from epidemiological studies on cataract and age-related macular degeneration [Текст] / A. E. Fletcher // Ophthalmic Research. – 2010. – V. 44. – № 3. – P. 191–198.
- Мирзабекова, К.А. Новые возможности в коррекции метаболических нарушений сетчатки у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой и возрастной макулярной дегенерацией [Текст] / К.А. Мирзабекова // Офтальмология. – 2014. – Т. 11. – № 4. – С. 41-46.
- Chiu, C.J. Nutritional antioxidants and age-related cataract and maculopathy [Текст] / C.J. Chiu, A. Taylor // Experimental Eye Research. – 2007. – V. 84. – P. 229-245.
- Новикова, Ю. П. Профилактическое и лечебное действие skq1-содержащих глазных капель визомитин при фотоиндуцируемых повреждениях сетчатки глаза [Текст] / Ю. П. Новикова, О.С. Ганчарова, О.В. Эйхлер, П.П. Филиппов, Э.Н. Григорян // Биохимия. – 2014. – Т. 10. – С. 1355-1366.
- Иванова, А. В. Антиоксидантная и противорадикальная активность лекарственных средств, предназначенных для лечения офтальмологических заболеваний / А.В. Иванова, Е.Л. Герасимова, Е.Р. Газизуллина, Я.А. Окулова, А.И. Матерн, В.Л. Русинов // Химико-фармацевтический журнал. – 2018. – Т. 52. – № 8. – С. 16 – 21
- Krylova, N.V. Antioxidants as Potential Antiviral Agents for Flavivirus Infections [Текст] / N.V. Krylova, A.M. Popov, G.N. Leonova // Antibiotics and Chemotherapy. – 2016. – V. 5. – P. 25-31.
- Akaike, T. Role of free radicals in viral pathogenesis and mutation [Текст] / T. Akaike // Reviews Medical Virology. – 2001. – V. 11. – P. 87–101.
- Choi, A.M. Oxidant stress responses in influenza virus pneumonia: gene expression and transcription factor activation [Текст] / A.M. Choi, K. Knobil, S.L. Otterbein // American journal physiology. – 1996. – V. 271. – P. L383–L391.
- Uchide, N. Antioxidant therapy as a potential approach to severe influenza-associated complications [Текст] / N. Uchide, H. Toyoda // Molecules. – 2011. – V. 16. – P. 2032-2052.
- Шарафутдинова, Е.Н. Потенциометрический метод определения антиоксидантной активности: оценка основных метрологических характеристик [Текст] / Е.Н. Шарафутдинова, О.В. Инжеватова, Н.В. Тоболкина, А.В. Иванова, Х.З. Брайнина //Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2008. – Т. 24. – № 6. – С. 9 – 14.

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ПОИСКА ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БИОАНТИОКСИДАНТОВ: НЕ ЗАМЕНИТЬ ЛИ СЕРУ НА СЕЛЕН...

**Кандалинцева Н.В., Ягунов С.Е., Хольшин С.В., Олейник А.С.,
Просенко А. Е.**

*Новосибирский государственный педагогический университет,
630126, Россия, г. Новосибирск, ул. Виллюйская, 28;*

*Новосибирский институт антиоксидантов,
630091, Россия, г. Новосибирск, Красный пр., 54а;
Факс: +7 (383) 244 0297, e-mail: aquaphenol@mail.ru*

Вместо предисловия

Селен (Se) был открыт шведским химиком и минерологом Йёнсом Якобом Берцелиусом в 1817 г., его ближайшие соседи по Периодической системе – сера и теллур – к тому времени уже были известны: сера – со времен древних цивилизаций, теллур – с 1783 г. Свое название селен получил от греч. *σελήνη* (selene) – луна, поскольку в природе он является спутником теллура, названного в честь Земли (от лат. *Tellus*). Селен относится к числу сравнительно редких элементов, его содержание в земной коре составляет около $5 \cdot 10^{-6} \%$ (500 мг/т), что близко к содержанию серебра ($8 \cdot 10^{-6} \%$) и палладия ($1,5 \cdot 10^{-6} \%$) [1].

Широко известной особенностью селена является его токсичность. Были зарегистрированы случаи отравления людей, работавших на селеновых производствах, а также животных, поедавших богатые селеном растения. Особенно опасны летучие соединения селена: селеноводород и органические производные, – их максимально допустимые концентрации в воздухе составляют 0,1 мг/м³ (для сравнения: аналогичный параметр для циановодорода – 10 мг/м³). Селеноводород и его алкил(арил)замещенные производные обладают отвратительным запахом, ощущаемым человеком даже в ничтожных концентрациях (0,005 мг/л для H₂Se, 0,0064 мкг/л для диэтилселена), что позволяет избегать отравлений ими (для сравнения: порог чувствительности человека к запаху аммиака – 0,037 мг/л).

Селен поглощается почками, селезенкой и печенью и даже в следовых концентрациях раздражает слизистые, вызывает головную боль и тошноту. При действии на кожу вызывает дерматит и ожоги. Попадая в организм, селеноорганические соединения медленно из него выводятся, при этом выдыхаемый воздух и пот приобретают отвратительный запах [1]. Селен способен кумулироваться в почве, растениях, организме животных, обладает тератогенным и канцерогенным действием, его избыток увеличивает заболеваемость населения кариесом. Концентрация селена в питьевой воде 0,4 – 0,5 мг/л вызывает отравление крупного рогатого скота. Минимальная

смертельная доза составляет для лошади 1,5 мг/кг, для коров и телят – 4,5 – 5,0 мг/кг, для человека – 2 – 4 мг/кг массы [2, 3].

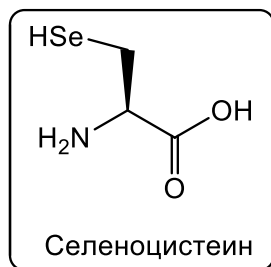
Вместе с тем, в середине XX века было установлено, что селен играет важную роль в жизнедеятельности живых организмов, обеспечивая активность ферментов антиоксидантной защиты семейства глутатионпероксидаз (GP). При недостатке селена в рационе питания снижается уровень GP и, как следствие, уменьшается устойчивость организмов к окислительному стрессу, что приводит к развитию свободнорадикальной патологии, аналогичной авитаминозу E, и проявляющейся в разрушении эритроцитов, некрозе и ожирении печени. Эпидемиологические данные свидетельствуют о наличии обратной корреляции между содержанием селена в питьевой воде и смертностью от сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний [4].

По существующим оценкам в организме взрослого человека содержится $\sim 2 \cdot 10^{-5} \%$, большая его часть – в мышечной и костной ткани (до $1,9 \cdot 10^{-4} \%$ и $9 \cdot 10^{-4} \%$, соответственно) и крови ($\sim 0,171$ мг / л). Ежедневное поступление селена с пищей в разных регионах составляет от 6 до 200 мкг [1, 3]. Дефицит селена выявляется в районах с вулканической почвой (некоторые регионы Швеции, Финляндии и Китая), в северных штатах США и некоторых районах Китая отмечается повышенное содержание селена, что оказывает токсическое действие на жителей и сельскохозяйственных животных. Токсичность селена для человека проявляется при суточном потреблении более 1 мг [4].

В Российской Федерации крайне низкие концентрации селена отмечаются в почвах Читинской области, Бурятии и Хабаровского края, для многих областей страны характерен «субоптимальный» уровень селена в почвах и, как следствие, в пище человека. В целом, по данным Института питания РАМН, в России не менее чем у 80% населения обеспеченность селеном ниже оптимальной [5]. В работе [5] также представлен обзор добавок, используемых для коррекции селенодефицитных состояний.

Глутатионпероксидазы

Глутатионпероксидазы (КФ 1.11.1.9, систематическое название – глутатион:перекись-водорода-оксидоредуктаза) – семейство ферментов,



катализирующих восстановление органических пероксидов и перекиси водорода глутатионом. У млекопитающих и человека значительная часть ферментов данного семейства представлена тетрамерными белками, включающими в свою структуру остатки селеноцистеина, известны также мономерные и неселеновые формы (табл. 1).

Впервые существование GP было показано Гордоном Миллсом в 1957 г. В 1973 г. Джон Т. Ротрак с соавт. установили, что в состав этого фермента входит селен, 4 атома в одной молекуле. При дальнейшей классификации

данная клеточная изоформа получила порядковый номер 1. Эта классическая (она же цитоплазматическая, цитозольная, клеточная) GPx1 состоит из четырех идентичных субъединиц, каждая из которых содержит по одному атому селена в составе селеноцистеинового остатка. Гидрофильность GPx1 затрудняет ее проникновение в липидный слой мембран, поэтому основная часть (~70 %) фермента локализована в цитозоле, остальная часть – в митохондриях всех клеток млекопитающих [4]. По данным [6] нокаутированные по GPx1 мыши развивались нормально, но были чувствительны к факторам, индуцирующим развитие окислительного стресса (параquat, перекись водорода, гипероксия). По сведениям [7], мыши, мутантные по обоим аллелям гена GPx1, гибнут при остром окислительном стрессе независимо от обеспечения организма селеном, в то время как мыши, имеющие аллели дикого типа, выживают в этих условиях при обеспечении селеном.

Среди прочих изоферментов GP наибольший интерес, с нашей точки зрения, представляет GPx4, структурно и функционально существенно отличающаяся от других селенсодержащих GP. GPx4 была открыта в 1982 г. группой Фульвио Урсини и получила название глутатионпероксидазы гидроперекисей фосфолипидов. Она представляет собой мономер, гомологичность которого субъединице классической GPx1 составляет у человека и разных видов животных лишь 30-40 %, и способна восстанавливать не только H_2O_2 и липидные гидропероксиды, но также гидропероксиды фосфолипидов, холестерина, жирных кислот, тимина и кумола. Обладая липофильными свойствами, GPx4 легко проникает в мембраны и липопротеиды низкой плотности и восстанавливает в них гидропероксиды фосфатидилхолина, холестерина и эфиров холестерина. ТанDEM токоферола с GPx4 практически полностью подавляет перекисное окисление липидов в биомембранах: токоферол эффективно восстанавливает пероксирадикалы, а GPx4 – гидропероксиды, являющиеся источником радикалообразования [4].

GPx4 существует в трех изоформах (цитозольной, митохондриальной и ядер клеток спермы), которые синтезируются с одного гена, но с разных транскрипционных стартов. Цитозольная GPx4 экспрессируется во всех тканях, две другие – преимущественно в семенниках. Системный нокаут всего гена GPx4 летален, гомозиготные по дефекту GPx4 мыши погибают внутриутробно через 7,5-8,5 недель *post coitum*, в то же время при отсутствии митохондриальной изоформы мыши полностью жизнеспособны, однако самцы абсолютно инфертильны [4, 7].

Таблица 1

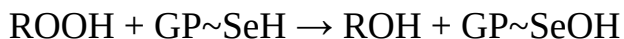
Свойства изоферментов глутатионпероксидазы человека, по данным [4, 8, 9]

Изо-фермент	Название	Масса субъединицы, кДа	Длина (число аминокислотных остатков)	Число субъединиц	Наличие селена	Субстрат	Преимущественная локализация в организме
GPx1	Классическая, цитоплазматическая, цитозольная, клеточная	21,9	201	4	Есть	Липопероксиды, H_2O_2	Повсеместно
GPx2	Желудочно-кишечная	21,9	190	4	Есть	Липопероксиды, H_2O_2	Желудочно-кишечный тракт
GPx3	Плазматическая, экстраклеточная	25,5	226	4	Есть	Липопероксиды, H_2O_2	Почки
GPx4	Гидроперекисей фосфолипидов	22,1	197	1	Есть	Различные гидропероксиды	Яички
GPx5	Секреторная	25,2	221	4	Нет	Липопероксиды, H_2O_2	Придатки яичек
GPx6	Экзотическая	24,9	221	4	Есть/нет *	Липопероксиды, H_2O_2	Органы обоняния
GPx7	Эндоплазматического ретикулума	21,0	187	1	Нет	H_2O_2 , гидропероксиды фосфолипидов	Повсеместно
GPx8	Эндоплазматического ретикулума	23,9	209	1	Нет	H_2O_2	Повсеместно

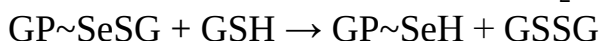
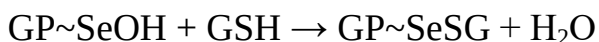
* селенопротеин у человека и свиней, бесселеновая у крыс и мышей (селеноцистеин замещен на цистеин)

Подробно о всех изоферментах GP можно прочитать в обзорах [4, 7, 8].

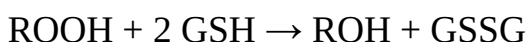
Каталитический цикл GP хорошо изучен, он включает в себя стадию восстановления органического гидропероксида селеноцистеиновым остатком фермента, приводящую к образованию соответствующего гидроксипроизводного и селеноеновой кислоты:



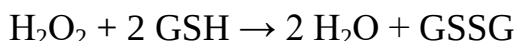
Последняя далее восстанавливается двумя молекулами глутатиона (GSH) в исходную селеноловую форму через промежуточное образование селенилсульфида:



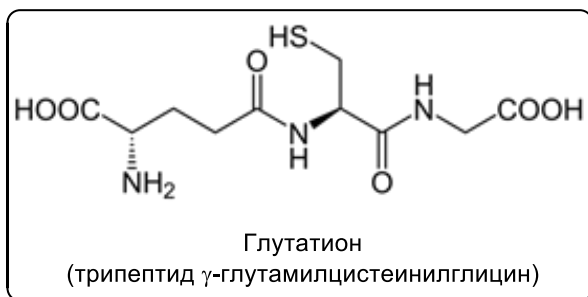
Суммарно:



Аналогичным образом GP утилизируют и пероксид водорода:



Кроме того, установлено, что селенсодержащие GP проявляют пероксонитредуктазную активность: они способны восстанавливать пероксонитрит в нитрит, предотвращая таким образом нежелательные реакции окисления и нитрования биомолекул, в которые активно вступает пероксонитрит.



Биорегенерация окисленного глутатиона (GSSG) протекает с участием глутатионредуктазы и систем восстановления НАДФ⁺. Следует заметить, что впервые существование в печени млекопитающих фермента, восстанавливающего окисленный

глутатион, было показано Хопкинсом и Эллиотом еще в 1931 г. Глутатионредуктаза выявляется в митохондриях и цитозоле клеток и катализирует процесс регенерации глутатиона:



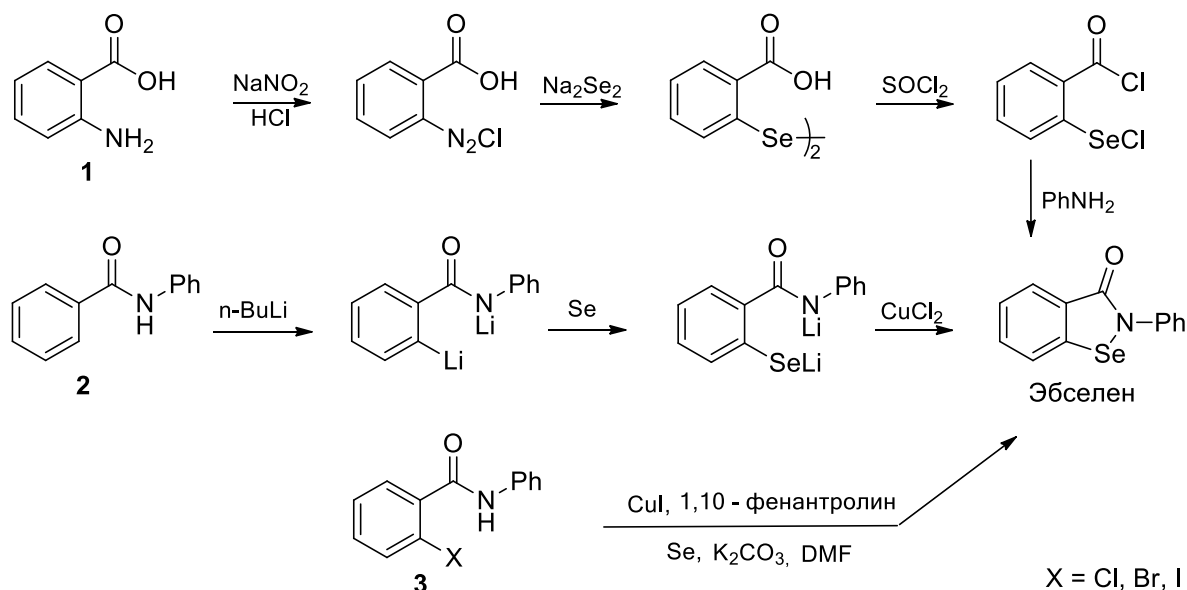
Тройственный союз GP – GSH – глутатионредуктаза играет ключевую роль в защите эритроцитов млекопитающих: входящий в состав гемоглобина Fe²⁺ под действием H₂O₂ легко окисляется до Fe³⁺, в результате чего образуется неспособный переносить кислород метгемоглобин. Разложение H₂O₂ под действием GP предотвращает образование метгемоглобина и обеспечивает

сохранение его функциональной активности. Недостаток GSH, равно как и снижение активности GP, приводит к развитию гемолитической анемии [4]. На практике использование GP для терапии свободнорадикальных патологий весьма затруднительно в силу нестабильности фермента во внеклеточных средах и сложности его биосинтеза традиционными генноинженерными методами (входящий в состав активного центра GP селеноцистеин кодируется стоп-кодом UGA). Это обстоятельство определяет интерес исследователей к созданию низкомолекулярных селеносодержащих соединений, обладающих глутатионпероксидазной активностью.

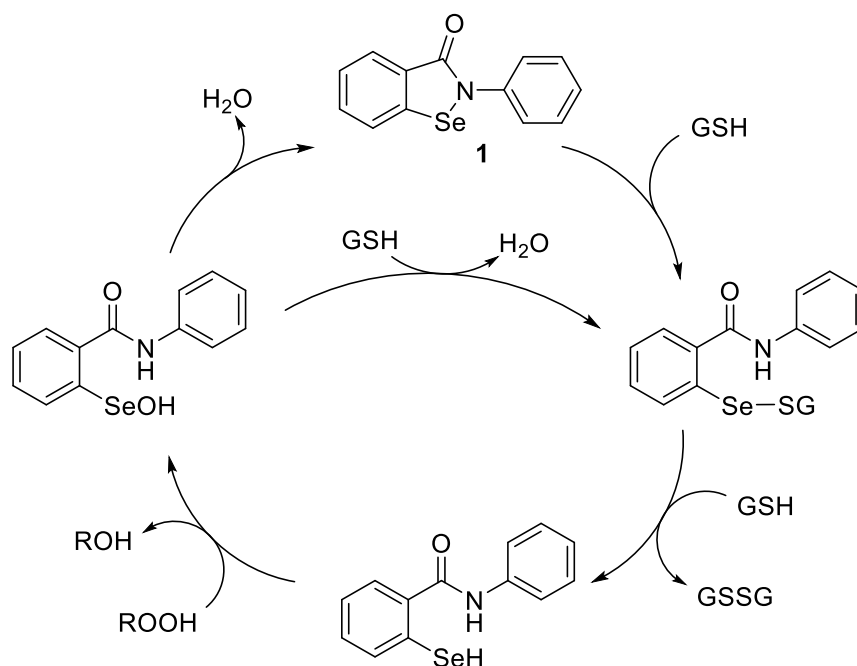
Эбселен

Среди селеноорганических соединений небелковой природы, способных катализировать восстановление гидропероксидов глутатионом, наиболее известным, без сомнения, является эбселен – 2-фенил-1,2-бензизоселеназол-3(2H)-он.

Эбселен имеет синтетическое происхождение, чаще всего его получают из 2-аминобензойной кислоты (**1**) [10], бензанилида (**2**) [11] или его 2-галоидзамещенного производного (**3**) [12]:



В отличие от GP, взаимодействующей с гидропероксидами в нативной форме и восстанавливающейся в реакциях с глутатионом, молекула эбселена непосредственно с пероксидами не взаимодействует – первоначально под действием глутатиона она переходит в активную селеноновую форму, а затем взаимодействует с гидропероксидом подобно GP:



По каталитической активности (0,99 ЕД/мкмоль H₂O₂) эбселен существенно уступает GP (5780 ЕД/мкмоль H₂O₂ для GP печени кролика), однако в многочисленных системах *in vitro* он эффективно ингибировал окислительные повреждения липосом, клеток и органов, *in vivo* ослаблял проявления окислительного стресса и демонстрировал выраженное противовоспалительное, кардио- и нейропротекторное действие без явных побочных эффектов [4, 13].

Подобно глутатиону с эбселеном взаимодействуют и сульфидные группы белков, что обуславливает его способность модулировать активность ферментов, функционирование которых зависит от остатков цистеина. На этом основаны, в частности, антибактериальные свойства эбселена. Так, эбселен замедляет рост синегнойной палочки *Pseudomonas aeruginosa*, образуя ковалентную связь с остатками цистеина в дигуанилатциклазах, и мощно ингибирует *Mycobacterium tuberculosis*, связываясь с остатком цистеина в активном участке антигенного комплекса Ag85, играющего ключевую роль в патогенезе туберкулеза [13].

По данным [5] эбселен характеризуется крайне низкой токсичностью (6,81 г/кг, мыши, *per os*). В ряде стран, в частности в Японии [4] и Германии [5], он используется в терапевтической практике, в РФ как фармацевтический препарат не зарегистрирован.

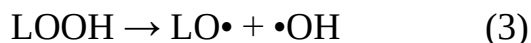
Серосодержащие фенольные антиоксиданты

Наряду с ферментами, подобными глутатионпероксидазе, в защите живых организмов от окислительных повреждений участвуют низкомолекулярные вещества небелковой природы, наиболее значимые из них – фенольные соединения (токоферолы, флавоноиды, убихинолы и пр.).

Свободные радикалы вызывают окислительную деструкцию липидов (LH), которая протекает как классический цепной процесс через циклическое повторение двух элементарных стадий:



Образующиеся в процессе окисления липопероксиды (LOOH) склонны к гомолитическому распаду, что приводит к появлению новых цепей окисления и ускорению окислительного процесса:

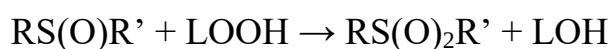
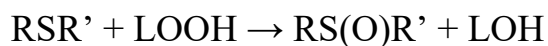


В основе противоокислительного действия фенольных соединений (ArOH) лежит их способность взаимодействовать с ведущими цепи окисления пероксидными радикалами:



Высокая скорость протекания реакции (4) и низкая активность феноксильных радикалов $ArO\cdot$ в реакциях продолжения цепей окисления приводят к ингибированию цепного процесса. Вместе с тем, в реакции (4), как и в реакции (2), образуются пероксиды, что снижает эффективность ингибирования и ускоряет расход $ArOH$.

Данная проблема успешно решена для случаев использования фенольных антиоксидантов (ФАО) в качестве ингибиторов окисления липидных субстратов вне живых систем через создание композиций ФАО с веществами, обладающими способностью разрушать пероксиды без образования свободных радикалов. В качестве соединений с такой противопероксидной активностью часто используют диалкилсульфиды (RSR'), которые способны восстанавливать гидропероксиды до спиртов, последовательно окисляясь в сульфоксиды ($RS(O)R'$) и сульфоны ($RS(O)_2R'$):



Суммарно:



Как самостоятельные антиоксиданты диалкилсульфиды весьма посредственны, но в композициях с ФАО дают выраженные синергические эффекты, вследствие чего их часто называют вторичными антиоксидантами или синергистами (S). Неаддитивно высокую эффективность композиций ФАО + S (синергизм) связывают с тем, что каждый из ингибиторов не только тормозит окисление основного вещества, но и предохраняет другой антиоксидант от быстрого расходования: ФАО уменьшает длину цепей окисления, тормозит тем самым образование гидропероксидов и предохраняет от быстрого расходования вторичный антиоксидант;

последний, в свою очередь, разрушая гидропероксиды, уменьшает скорость зарождения цепей окисления и продляет, таким образом, время действия фенольного ингибитора [14].

Такой синергизм относится к кинетическому типу [15], и возможность его возникновения сильно зависит от кинетических характеристик окисляемого субстрата, а так же активности и количественного соотношения антиоксидантов в композиции. Г. В. Карпухина и Н. М. Эмануэль предложили использовать для оценки синергических эффектов в смесях ФАО + S три параметра – γ , φ и ψ . Параметр γ соответствует выходу радикалов при распаде пероксидов в реакции (3), φ и ψ определяются следующими соотношениями [15]:

$$\varphi = \frac{W_0 k_4}{k_2 k_3 [LH]} \quad \psi = \frac{W_0 k_5}{k_3^2}$$

где W_0 – скорость инициирования, $[LH]$ – концентрация окисляющегося субстрата, $k_2 - k_5$ – константы скорости реакций (2) – (5), соответственно

Расчет зависимости период индукции – состав композиции ФАО + S при постоянной суммарной концентрации ингибиторов, $\gamma = 1$ и различных φ и ψ позволил выявить область значений параметров, в которой наблюдается проявление синергического эффекта, эта область приблизительно имеет границы: $\varphi < 1$; $\varphi / \psi < 1$ (рис. 1). Внутри этой области синергизм имеет место, причем величина эффекта может достигать больших значений; вне этой области кинетический синергизм отсутствует при любых суммарных концентрациях антиоксидантов.

На практике степень выраженности синергизма в композициях ФАО с диалкилсульфидами обычно возрастает с увеличением относительного содержания последнего (табл. 2).

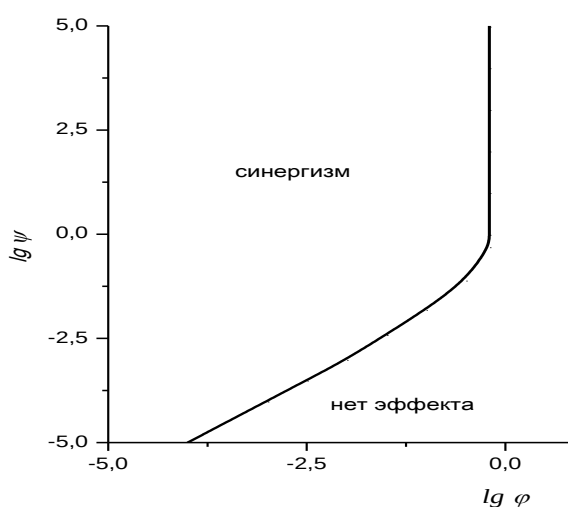


Рис. 1. Область параметров φ и ψ , при которых существует синергизм [15].

Таблица 2

Синергизм в композициях триалкилфенолов и дидодецилсульфида (DDS), по данным [16, 17]

Субстрат окисления	Антиоксидант (мкмоль/г)	Период индукции, мин.	$\Delta\tau^*$
Вазелиновое масло, 180 °С	—	5	—
	DDS (2.5)	5	—
	Ионол (2.5)	33	—
	Ионол (2.5) + DDS (1.25)	79	2,64
	Ионол (2.5) + DDS (2.5)	172	5,96
	2,4,6-Триметилфенол (2.5)	32	—
	2,4,6-Триметилфенол (2.5) + DDS (1.25)	168	6,04
	2,4,6-Триметилфенол (2.5) + DDS (2.5)	378	13,81
Лярд, 130 °С	—	20	—
	DDS (15)	20	—
	Ионол (1.5)	160	—
	Ионол (1.5) + DDS (1.5)	160	1
	Ионол (1.5) + DDS (15)	200	1,29
	2,4,6-Триметилфенол (1.5)	78	—
	2,4,6-Триметилфенол (1.5) + DDS (1.5)	78	1
	2,4,6-Триметилфенол (1.5) + DDS (15)	85	1,12
Этилолеат, 120 °С	—	0	—
	DDS (15)	0	—
	Ионол (3.45)	55	—
	Ионол (3.45) + DDS (3.45)	62	1,12
	Ионол (3.45) + DDS (13.80)	65	1,18
	Ионол (5.75)	91	—
	Ионол (5.75) + DDS (5.75)	112	1,23
	Ионол (5.75) + DDS (11.50)	130	1,43

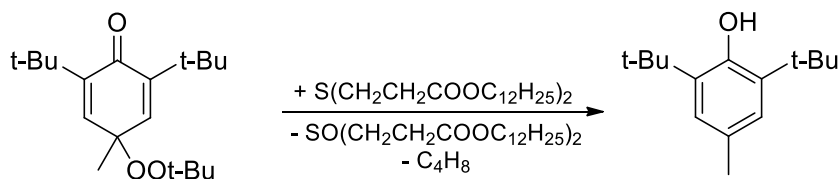
* $\Delta\tau = (\tau_{\text{ФАО} + \text{DDS}} - \tau_0) / ((\tau_{\text{DDS}} - \tau_0) + (\tau_{\text{ФАО}} - \tau_0))$, где τ_0 — период индукции неингибированного окисления, $\tau_{\text{ФАО} + \text{DDS}}$ — период индукции в присутствии композиции ингибиторов, $\tau_{\text{ФАО}}$ и τ_{DDS} — периоды индукции в присутствии ФАО и DDS, соответственно

Данный факт хорошо согласуется с различиями в скоростях расходования антиоксидантов антирадикального и противопероксидного действия в одной окисляющейся системе: в результате циклического повторения реакций (1) и (2) в цепи окисления один радикал дает жизнь значительному числу гидропероксидов, что приводит к ускоренному расходованию серосодержащего синергиста и сокращению времени его действия (τ_S) в сравнении с временем действия ФАО ($\tau_{\text{ФАО}}$) [18]:

$$\tau_S = \frac{f_S [S]_0}{\nu W_0} \qquad \tau_{\text{ФАО}} = \frac{n f [\text{ArOH}]_0}{W_0}$$

где f_S – число молекул гидропероксида, гибнущих на одной молекуле S; $[S]_0$ – начальная концентрация S, ν – длина цепей, W_0 – скорость инициирования, f – коэффициент ингибирования, n – количество фенольных фрагментов в молекуле ФАО, $[\text{ArOH}]_0$ – начальная концентрация ФАО.

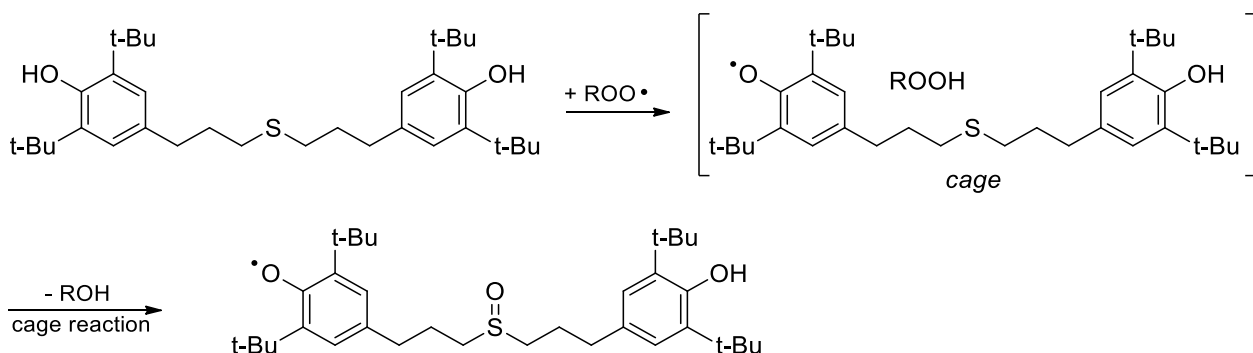
По некоторым данным, в композициях с ФАО антиоксидантное действие диалкилсульфидов не ограничивается реакциями с гидропероксидами. Так, например, было показано [19], что продукт окисления 2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенола (ионола) – 2,6-ди-трет-бутил-4-трет-бутилперокси-4-метилциклогексадиенон – в инертной среде при 150 °С восстанавливается дилаурилтиодипропионатом с выходом 41 % в исходный антиоксидант:



Методы органической химии позволяют объединить активные фрагменты ФАО и их серосодержащих синергистов в структуре одной молекулы. Так создаются серосодержащие ФАО – полифункциональные антиоксиданты, превосходящие по противоокислительной активности соответствующие бинарные композиции ФАО + S (табл. 3).

По реакционной способности в отношении активных радикалов и гидропероксидов серосодержащие ФАО не превосходят свои монофункциональные прототипы [17, 20], и их высокую эффективность связывают с проявлением внутримолекулярных синергических эффектов, которые по степени выраженности превосходят таковые в композициях монофункциональных ингибиторов. В основе внутримолекулярного синергизма (называемого также внутренним), по всей видимости, лежат клеточные эффекты: продукты взаимодействия активного радикала и серосодержащего ФАО заключены в общую сольватационную оболочку (клетку), что приводит к тандемному протеканию реакций образования и восстановления гидропероксида и предотвращает тем самым выход последнего в объем окисляющегося субстрата и его распад с зарождением новых цепей окисления [21, 22]. Для бис-[3-(3,5-ди-трет-бутил-4-

гидроксифенил)пропил]сульфида (антиоксиданта СО-3), например, такая последовательность превращений выглядит следующим образом [23]:



и далее с участием другой фенольной группы:

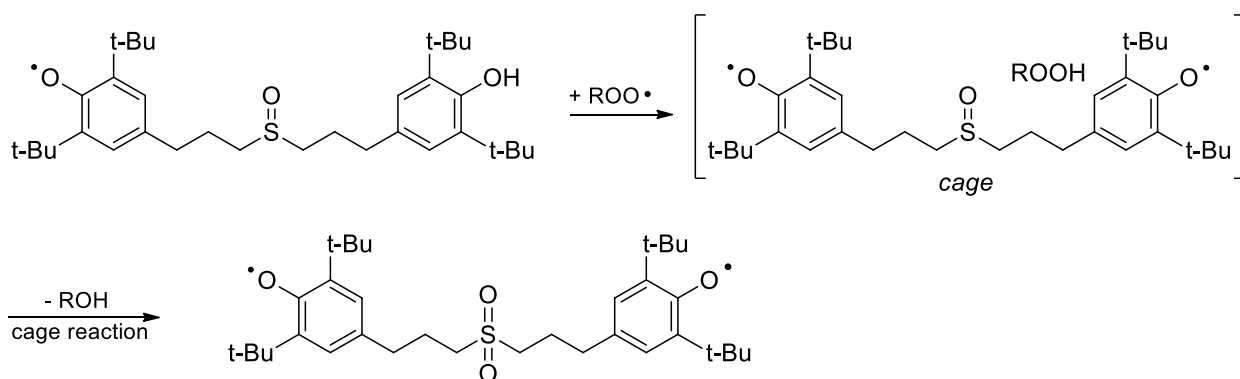


Таблица 3

Синергизм в композициях ингибиторов и у серосодержащих ФАО [17]

Субстрат окисления	Синергическая композиция		Полифункциональный антиоксидант		τ_2/τ_1
	Антиоксидант (мкмоль/г)	τ_1 , мин.	Антиоксидант (мкмоль/г)	τ_2 , мин.	
Полиэтилен, 192 °С	RCH_3 (4) + DDS (2)	158	$\text{R}(\text{CH}_2)_3\text{S}(\text{CH}_2)_3\text{R}$ (2)	260	1,65
	RCH_3 (4) + DDS (4)	235	$\text{R}(\text{CH}_2)_3\text{SC}_4\text{H}_9$ (4)	390	1,66
Вазелиновое масло, 180 °С	RCH_3 (2.5) + DDS (1.25)	79	$\text{R}(\text{CH}_2)_3\text{S}(\text{CH}_2)_3\text{R}$ (1.25)	113	1,43
	RCH_3 (2.5) + DDS (2.5)	172	$\text{R}(\text{CH}_2)_3\text{SC}_4\text{H}_9$ (2.5)	198	1,15
	R^1CH_3 (2.5) + DDS (1.25)	168	$\text{R}^1(\text{CH}_2)_3\text{S}(\text{CH}_2)_3\text{R}^1$ (1.25)	238	1,42
Лярд, 130 °С	RCH_3 (1.5) + DDS (0.75)	160	$\text{R}(\text{CH}_2)_3\text{S}(\text{CH}_2)_3\text{R}$ (0.75)	278	1,74
	RCH_3 (1.5) + DDS (1.5)	160	$\text{R}(\text{CH}_2)_3\text{SC}_4\text{H}_9$ (1.5)	277	1,73
	R^1CH_3 (2.75) + $\text{PhCH}_2\text{SC}_{12}\text{H}_{25}$ (2.75)	80	$\text{R}^1\text{CH}_2\text{SC}_{12}\text{H}_{25}$ (2.75)	800	10,00

* R = 3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил, R^1 = 3,5-диметил-4-гидроксифенил

Таблица 4

Ингибирующая активность серосодержащих ФАО и продуктов их окисления, по данным [17]

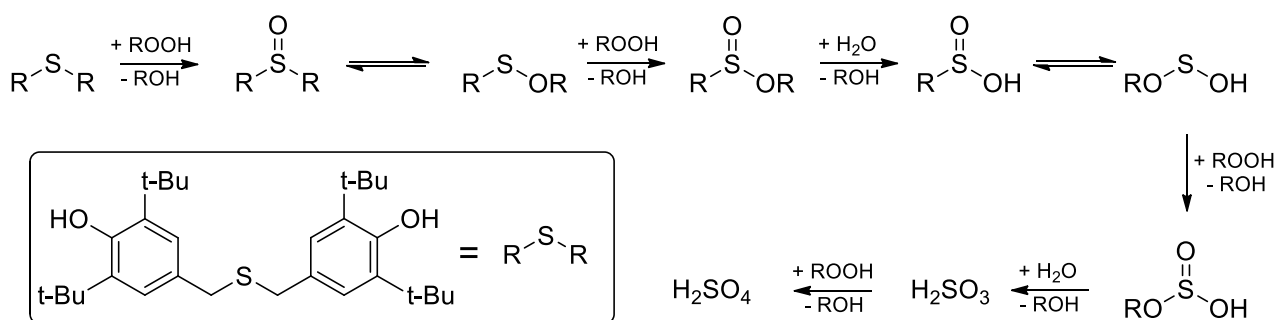
Субстрат окисления	Антиоксидант (мкмоль/г)	Период индукции, мин.
Полиэтилен, 192 °С	$R(CH_2)_3S(CH_2)_3R$ (2)	75
	$R(CH_2)_3S(O)(CH_2)_3R$ (2)	67
	$R(CH_2)_3S(O)_2(CH_2)_3R$ (2)	37
	$R(CH_2)_3$ (2)	43
Вазелиновое масло, 180 °С	$R(CH_2)_3S(CH_2)_3R$ (2)	60
	$R(CH_2)_3S(O)(CH_2)_3R$ (2)	46
	$R(CH_2)_3S(O)_2(CH_2)_3R$ (2)	30
	$R(CH_2)_3SC_2H_5$ (2)	155
	$R(CH_2)_3S(O)C_2H_5$ (2)	65
	$R(CH_2)_3S(O)_2C_2H_5$ (2)	21
	$R(CH_2)_3$ (2)	34

* R^1 = 3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил

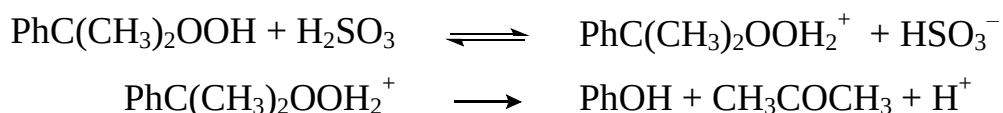
В отличие от серосодержащих ФАО в композициях фенола и диалкилсульфида образовавшийся на фенольном гидроксильном гидропероксид мигрирует от феноксильного радикала к серосодержащей компоненте через объем субстрата, этот путь не исключает распада ROOH на свободные радикалы и зарождения новых цепей окисления, что, в конечном счете, снижает противомокислительную эффективность композиции.

Сульфидные группы серосодержащих ФАО, безусловно, могут взаимодействовать и с гидропероксидами, образовавшимися иными путями, включая реакцию (2). Подобная окислительная модификация резко снижает эффективность антиоксиданта (табл. 4). Таким образом, как и в случае смесевых композиций ФАО + S, малая противопероксидная емкость серосодержащей группы является слабым звеном полифункционального антиоксиданта.

Следует заметить, что некоторые полифункциональные ФАО обладают большей противопероксидной “емкостью” – окисление их сульфидных групп не останавливается на стадии образования сульфона, а сопровождается окислительной деструкцией связи C–S. Так, бис-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)сульфид (стабилизатор ТБ-3) способен восстанавливать до 4 молекул гидропероксидов по следующей последовательности превращений [24]:



Показано, что образующиеся при окислении бензилсульфидов кислоты способны каталитически разлагать гидропероксиды [25]:



Вместе с тем, окислительная деструкция бензилсульфидов может сопровождаться образованием продуктов радикальной природы [24]. Как следствие ТБ-3, демонстрируя в модельных реакциях более высокую противопероксидную активность, нежели его структурные аналоги, содержащие атом серы на большем удалении от ароматического ядра [17], как правило, уступает последним в реальных условиях автоокисления [26].

Серосодержащие ФАО являются эффективными ингибиторами окисления широкого круга субстратов – от полимеров до липидов, а так же проявляют выраженную протекторную активность в отношении патологий, развивающихся на фоне окислительного стресса. Так, вышеупомянутый антиоксидант СО-3 (он же тиофан) в тесте Эймса эффективнее тролокса защищал бактериальные клетки от повреждающего действия H_2O_2 [27] и *in vivo* проявлял выраженное протекторное действие при ишемической болезни сердца [28], токсическом гепатите [29, 30], воздействии цитостатика [31], интоксикации тяжелыми металлами [32]. Додецил-(3,5-диметил-4-гидроксibenзил)сульфид также эффективно защищал клеточные культуры от H_2O_2 [33], *in vivo* проявлял гемореологическую, антитромбоцитарную и антитромбогенную активность [34], снижал накопление продуктов липопероксидации при экспериментальной ишемии головного мозга [35], обладал противоопухолевым, мембраностабилизирующим и цитопротекторным действием с возможностью использования для купирования цитотоксических эффектов в тканях при токсическом гепатите, противоопухолевой химиотерапии и на фоне паранеопластических процессов, вызванных злокачественным ростом [36].

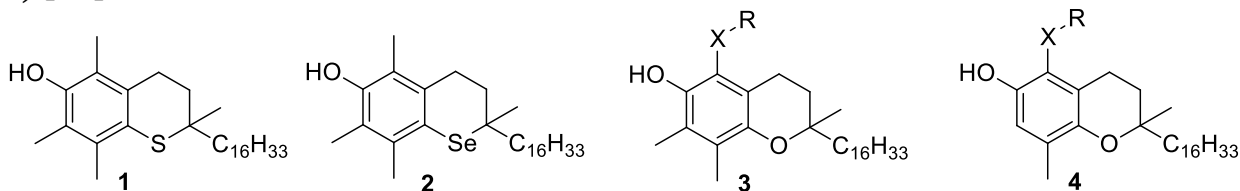
Фармакологически активные серосодержащие ФАО вызывают значительный интерес медиков как перспективные агенты для создания новых профилактических и лекарственных средств, а химиков-органиков – как прототипы для новых биоантиоксидантов.

Синтез селензамещенных аналогов лучших серосодержащих ФАО представляется перспективным по ряду причин:

во-первых, – хорошо известно, что селенсодержащие соединения превосходят свои серозамещенные аналоги по реакционной способности в отношении окислителей и, в частности, пероксидов. Как отмечалось выше, увеличение противопероксидной активности весьма желательно для полифункциональных антиоксидантов на основе алкилированных фенолов; во-вторых, – более высокие константы k_5 для селенсодержащих соединений позволяют предполагать возможность возникновения более высоких синергических эффектов (уменьшение параметра φ / ψ при переходе от серо- к селенсодержащим синергистам) в смесях селенсодержащих синергистов с ФАО и у полифункциональных селенсодержащих ФАО; в-третьих, – сочетание антирадикальной и глутатионпероксидазной активности в одной молекуле может сопровождаться новыми практически ценными биологическими эффектами.

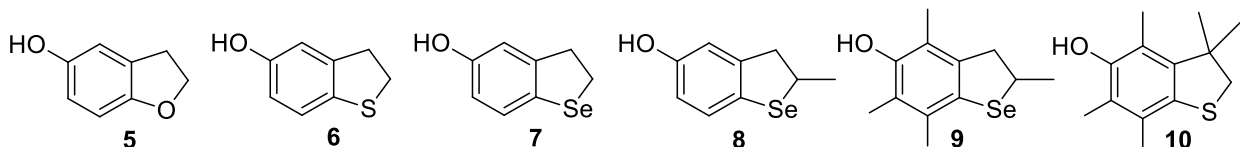
Селенсодержащие фенольные антиоксиданты

α -Токоферол является, пожалуй, самым известным, эффективным и хорошо изученным природным ФАО. Неудивительно, что многие исследователи рассматривают химическую модификацию молекулы α -токоферола как надежный путь создания эффективных биоантиокислителей. В литературе описаны производные α -токоферола, в структуре которых атом кислорода хроманового ядра замещен на атомы серы и селена (**1** и **2**, соответственно) [37-39] и 5-алкилтио(селено)замещенные производные α - и β -токоферолов (**3**, **4**) [40]:



X = S: R = C₄H₉ (**4a**), C₈H₁₇ (**4b**); X = Se: R = C₄H₉ (**4c**), C₈H₁₇ (**4d**)

а также их близкие родственники кумаранового типа – 5-гидрокси-2,3-дигидробензофураны и их S- и Se-замещенные аналоги с различным числом метильных заместителей в ароматическом ядре, включая соединения **5-10** [41, 42]:



Установлено, что замена атома халькогена в хромановом ядре в ряду α -токоферол – 1-тио- α -токоферол **1** – 1-селено- α -токоферол **2** сопровождается значимым снижением реакционной способности в отношении пероксидных радикалов, что, очевидно, согласуется с увеличением энергии связи ArO–H

(табл. 5). Аналогичная замена атома кислорода на атом серы и селена в ряду кумарановых производных **5** – **6** – **7**, напротив, приводила к снижению энергии связи AgO–H.

Таблица 5

*Константы скорости k_4 (стирол, 30 °C), стехиометрические коэффициенты ингибирования f и энергии связи OH для соединений **1-9**, по данным [39, 41, 42]*

Ингибитор	$k_4 \cdot 10^{-4}, \text{M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$	f	$D_{\text{O-H}}, \text{ккал} \cdot \text{моль}^{-1}$
α -токоферол	320	2,0	$77,1 \pm 0,3$
1	144	1,8	...
2	120	1,9	$78,1 \pm 0,3$
5	...	...	81,2
6	...	...	80,5
7	...	...	80,3
8	38 ± 4	2,0	81,6
9	150 ± 30	1,7	$77,6 \pm 0,5$

Противоокислительные свойства соединений **5-7** были изучены в сравнении с α -токоферолом и тиокумараном **10** в условиях азоинициированного окисления линолевой кислоты в хлорбензоле, в том числе с добавками водного раствора N-ацетил-L-цистеина (NAC). В отсутствие последнего в течение периода индукции наиболее глубоко ингибировали окисление соединения, имеющие метильные заместители в ароматическом ядре – α -токоферол и тиокумаран **10**, в ряду соединений **5-7** наименее эффективным являлся селенокумаран **7**, для которого регистрировались самый короткий период индукции и наибольшая начальная скорость окисления субстрата (табл. 6).

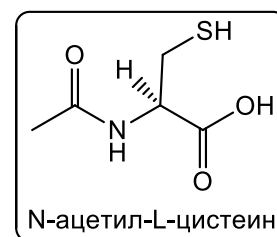


Таблица 6

Влияние производных кумарана и α -токоферола на окисление линолевой кислоты, по данным [41]

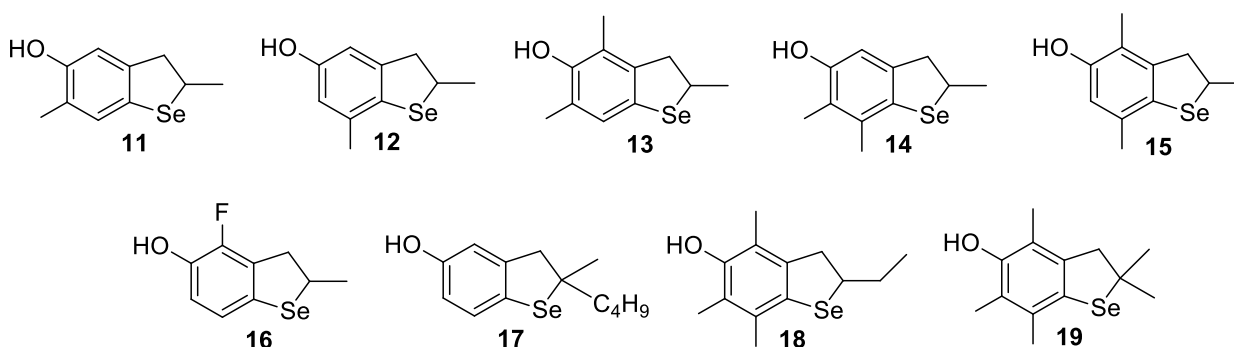
Ингибитор	Без NAC		В присутствии NAC	
	*Скорость ингибированного окисления, мкМ/ч	Период индукции, мин.	*Скорость ингибированного окисления, мкМ/ч	Период индукции, мин.
5	81	90	79	140
6	53	85	64	180
7	113	50	64	> 300

10	35	65	37	70
α -токоферол	18	80	19	90

* Скорость неингибированного окисления – 655 мкМ/ч

Добавки НАС практически не влияли на кинетические параметры окисления, ингибированного α -токоферолом и тиокумараном **10**, но существенно увеличивали эффективность соединений **5-7**, причем наиболее длительное торможение окисления наблюдалось в присутствии селенокумарана **7**. Увеличение периодов индукции окисления линолевой кислоты сопровождалось окислением НАС в соответствующий дисульфид [41].

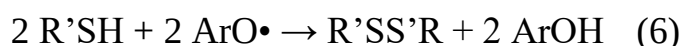
Аналогичная картина наблюдалась для соединений **8, 9** и их структурных аналогов **11-19**:



Присутствие в системе НАС не оказывало значительного влияния на ингибирующую активность α -токоферола и *орто*-диметилзамещенных селенокумаранов **9, 13, 18**, вместе с тем, периоды индукции окисления, ингибированного дезалкилированными производными в присутствии НАС существенно возрастали, причем наиболее выражено это проявлялось для соединений **8, 16** и **17**, не имеющих метильных заместителей в ароматическом ядре (табл. 7).

Примечательно, что в отличие от 1-селено- α -токоферола **2** его гомолог, не имеющий метильных заместителей в положениях 5, 7 и 8, в присутствии НАС также прибавлял в ингибирующей активности (150 мин. против 70 мин.) [41]. 5-Октилтио(селено)замещенные β -токоферолы **4a** и **4b** в аналогичных условиях не демонстрировали чувствительности к присутствию НАС в окисляющейся системе (рис. 2).

По мнению авторов исследования [41] значительное увеличение периодов индукции для селенокумаранов в присутствии N-ацетил-L-цистеина ($R'SH$) обусловлено регенерацией радикалов ингибитора в его исходную форму:



Различие в энергиях связи S–H (85-90 ккал/моль, для цистеина в белках – $87,8 \pm 2,4$ ккал/моль) и ArO–H (для соединений **11-19** – 76-81 ккал/моль) позволяет считать, что реакция (6) протекает вероятнее всего по механизму

переноса электрона, а не атома водорода, и определяется подходящей разницей потенциалов редокс-пар $\text{ArO}\cdot/\text{ArO}^-$ и $2\text{R}'\text{SH}/\text{R}'\text{SS}'\text{R}$.

Таблица 7

Влияние селенокумаранов и α -токоферола на окисление линолевой кислоты, по данным [41]

Ингибитор	Без NAC		С добавкой NAC	
	*Скорость ингибированного окисления, мкМ/ч	Период индукции, мин.	*Скорость ингибированного окисления, мкМ/ч	Период индукции, мин.
8	46	50	69	> 320
9	26	50	30	60
11	31	50	44	230
12	43	60	51	190
13	25	60	30	80
14	29	50	34	130
15	29	50	39	130
16	51	70	93	300
17	45	70	39	> 320
18	30	60	35	80
19	28	60	29	100
α -токоферол	22	80	24	90

* Скорость неингибированного окисления – 650 мкМ/ч

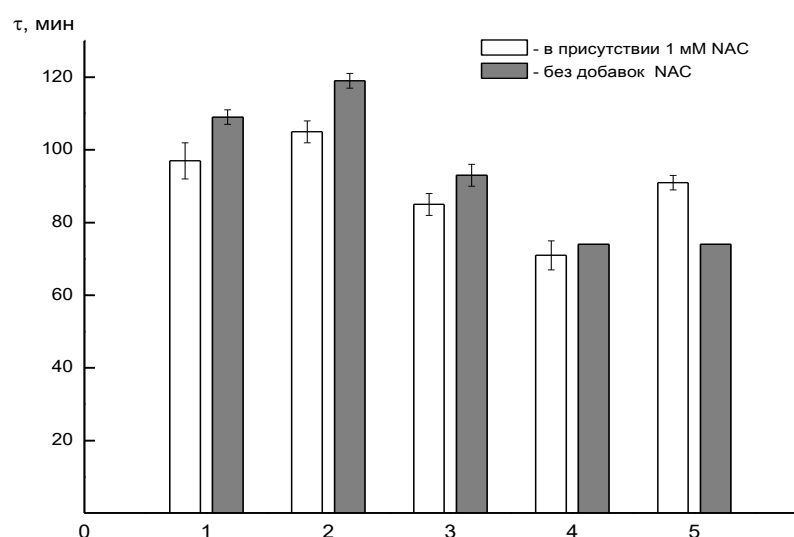
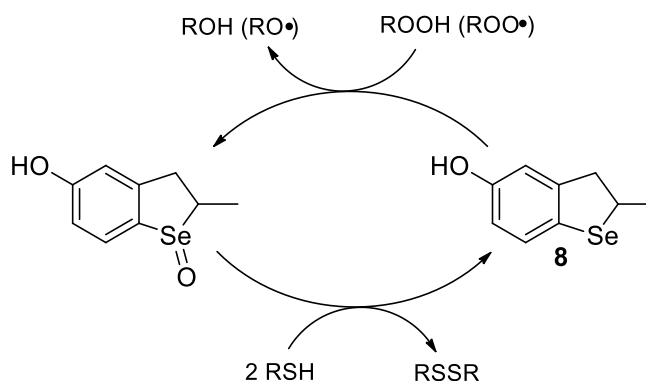


Рисунок 2. Периоды индукции инициированного окисления линолевой кислоты, ингибированного 40 мкМ α -токоферола (1), β -токоферола (2), δ -токоферола (3), **4b** (4) и **4d** (5), 42 °С, по данным [40].

Удаление метильных заместителей позитивно отражается на вовлечении $\text{ArO}\cdot$ в реакцию (6) по двум возможным причинам: с одной стороны, такие структурные изменения приводят к увеличению энергии и потенциала ионизации связи $\text{ArO}-\text{H}$, с другой, – снижают стерические затруднения и липофильность соединений, что облегчает их взаимодействие с N-ацетил-L-цистеином в условиях двухфазной системы.

Принимая во внимание, что селеноксиды в отличие от сульфоксидов под действием мягких восстановителей (таких как тиолы и аскорбат) легко восстанавливаются до двухвалентного селена, в рассматриваемой модельной системе следует учитывать и возможность протекания реакций с участием пары Se (II) / Se (IV) , приводящих к дополнительному расходованию NAC без обрыва цепей окисления [41]:



Как отмечалось ранее, потенциальным преимуществом селеносодержащих ФАО перед тиааналогами может быть более выраженный синергизм. С целью первичной оценки таких эффектов на примере термического автоокисления метилолеата мы провели исследование ингибирующей активности бинарных композиций дидодецилсульфида и дидодецилселенида с ФАО, характеризующимися различной реакционной способностью в реакции (4). Согласно полученным данным (табл. 8), в то время как индивидуальные ФАО существенно разнились по ингибирующему действию, добавки эквимольных количеств DDS ни в одном случае не приводили к существенному увеличению периода индукции. Лучший эффект был достигнут в случае композиции ионола с DDS, которая превосходила по ингибирующему действию отдельно взятый ионол на 15 %. В то же время композиции ФАО с дидодецилселенидом (DDSe) значительно разнились по ингибирующим свойствам, при этом полученные данные полностью согласовывались с положением работы [15] о наличии оптимального отношения k_4/k_5 , при котором синергические эффекты достигают максимальных значений.

Предполагается, что полифункциональные ФАО, соответствующие композициям с высокой степенью выраженности синергических эффектов, также должны обладать высокой антиоксидантной активностью.

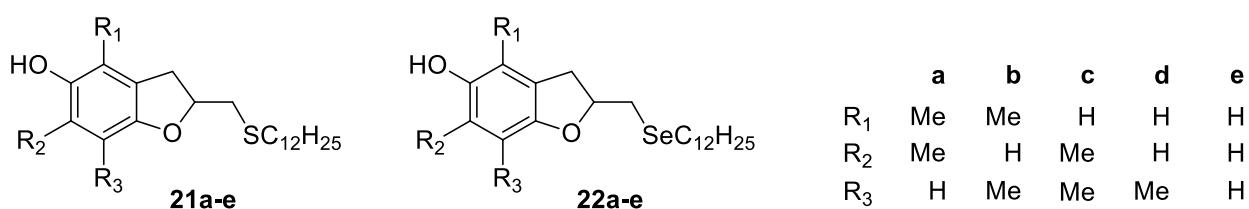
Таблица 8

Параметры антиоксидантной активности некоторых ФАО и их композиций с дидодецилсульфидом (DDS) и дидодецилселенидом (DDSe),

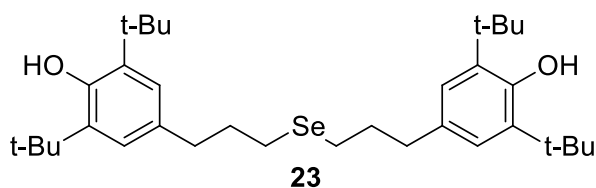
ФАО	$k_4 \cdot 10^{-4}$, $M^{-1} \cdot c^{-1}$	Период индукции*, сут.			τ_2/τ_1	τ_3/τ_1
		ФАО (τ_1)	ФАО + DDS (τ_2)	ФАО + DDSe (τ_3)		
Ионол	2,2 [43] 3,7 [44]	44,4	51,1	55,0	1,1 5	1,24
2,4,6-Триметилфенол	16 [44]	11,2	9,2	17,1	0,8 2	1,53
2-Трет-бутил-4-метоксифенол	30 [44]	40,8	41,6	274,6	1,0 2	6,73
2-Метил-5-гидрокси-2,3-дигидробензофуран (20)	80 [45]	35,5	31,4	155,7	0,8 8	4,39
α -Токоферол	320 [46]	14,5	11,3	60,4	0,7 8	4,17
—	—	—	0,9	3,2	—	—

* метилолеат, автоокисление, 60 °С; ФАО, DDS, DDSe – по 2 мкмоль/г

В этой парадигме нами был осуществлен синтез 2-додецилтиометил-5-гидрокси-2,3-дигидробензофуранов **21** [47] и соответствующих селензамещенных производных **22** [45]:



а также селенсодержащий аналог антиоксиданта СО-3 – бис-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил)селенид **23** [48, 49]:



Как и ожидалось, селенсодержащие производные **22** существенно превосходили по эффективности как монофункциональные ингибиторы – α -токоферол и бензофуран **20**, так свои серосодержащие аналоги **21** (рис. 3).

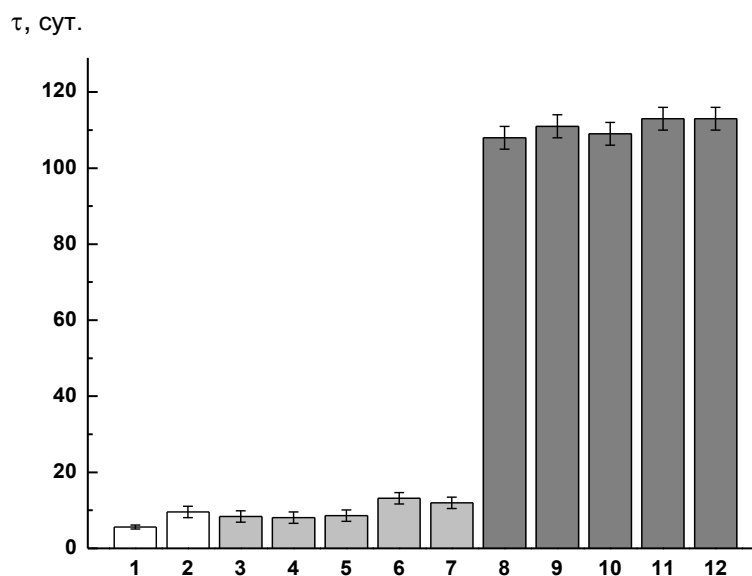


Рисунок 3. Периоды индукции автоокисления метилолеата (τ), ингибированного 2 мкмоль/г α -токоферола (1), **20** (2), **21a** (3), **21b** (4), **21c** (5), **21d** (6), **21e** (7), **22a** (8), **22b** (9), **22c** (10), **22d** (11), **22e** (12), 60 °C (τ без ингибитора – 0,65 суток).

Вместе с тем, селенид **23** в аналогичных условиях не демонстрировал высокой ингибирующей активности (табл. 9), однако *in vivo* проявлял выраженное гипогликемическое действие при аллоксан-индуцированном сахарном диабете [48], что свидетельствует о наличии у данного соединения протекторной активности в отношении патологий, ассоциированных с окислительным стрессом.

В целом, представленные выше данные свидетельствуют о несомненной перспективности расширения исследований селенсодержащих ФАО в контексте поиска новых биоантиоксидантов и фармакологически активных соединений.

Таблица 9

Константы скорости k_4 , стехиометрические коэффициенты ингибирования f (кумол, 60 °C) и периоды индукции автоокисления метилолеата (60 °C) для некоторых производных 2,6-ди-трет-бутилфенола

ФАО	$k_4 \cdot 10^{-4},$ $M^{-1} \cdot c^{-1}$	f	Период индукции, сут.	
			1 мкмоль/г	2 мкмоль/г
RCH ₃ (ионол)	2,2 [43]	2,0 ± 0,1	6,4	10,3
R(CH ₂) ₃ S(CH ₂) ₃ R (CO-3)	2,2 ± 0,2	2,0 ± 0,1	16,0	32,5
R(CH ₂) ₃ Se(CH ₂) ₃ R ¹ (23)	2,7 ± 0,3	1,9 ± 0,1	10,6	20,1
—	—	—	0,6	

* R = 3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил

Литература

1. Гринвуд Н., Эршно А. Химия элементов: в 2 томах; пер. с англ. – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2011. – Т. 2. – 670 с.
2. Грушко Я. М. Вредные неорганические соединения в промышленных сточных водах: Справочник. – Л.: Химия, 1979. – 160 с.
3. Эмсли Дж. Элементы: Пер. с англ. – М.: Мир, 1993. – 256 с.
4. Меньщикова Е. Б., Ланкин В. З., Зенков Н. К., Бондарь И. А., Круговых Н. Ф., Труфакин В. А. Окислительный стресс: Прооксиданты и антиоксиданты. – М.: Фирма «Слово», 2006. – 556 с.
5. Полубояринов П. А., Елистратов Д. Г., Швец В. И. Метаболизм и механизм токсичности селенсодержащих препаратов, используемых для коррекции дефицита микроэлемента селена // Тонкие химические технологии. – 2019. – Т. 14. – № 1. – С. 5–24.
6. De Haan J. B., Bladier C., Griffiths M. U. et al. Mice with a homozygous null mutation for the most abundant glutathione peroxidase, Gpx1, show increased susceptibility to the oxidative stress-inducing agents paraquat and hydrogen peroxide // J. Biol. Chem. – 1998. – Vol. 273. – P. 22528-22536.
7. Brigelius-Flohe R., Maiorino M. Glutathione peroxidases // Biochimica et Biophysica Acta. – 2013. – Vol. 1830. – N 5. – P. 3289-3303.
8. Ramming T, Appenzeller-Herzog C. Destroy and exploit: catalyzed removal of hydroperoxides from the endoplasmic reticulum // Int. J. Cell. Biol. – 2013. – 2013:180906.
9. Разыграев А. В., Матросова М. О., Титович И. А. Роль глутатионпероксидаз в ткани эндометрия: факты, гипотезы, перспективы изучения // Журн. акушерства и женских болезней. – 2007. – Т. 66. – № 2. – С. 104-111.

10. Elsherbini M., Hamama W. S., Zoorob H. H., Bhowmick D., Mugesh G., Wirth T. Synthesis and antioxidant activities of novel chiral ebselen analogues // *Heteroatom chem.* – 2014. – Vol. 25. – N 5. – P. 320-325.
11. Engman L., Hallberg A. Expedient synthesis of ebselen and related compounds // *J. Org. Chem.* – 1989. – V. 54. – N 12. – P. 2964-2966.
12. Balkrishna S. J., Bhakuni B. S., Chopra D., Kumar S. Cu-catalyzed efficient synthetic methodology for ebselen and related Se–N heterocycles // *Org. Lett.* – 2010. – V. 12. – N 23. – P. 5394-5397.
13. Полубояринов П. А., Аниськов А. А. Анализ эбселена с помощью метода ВЭЖХ и ЯМР-спектроскопии // *Образование и наука в современном мире. Инновации.* – 2017. – № 1. – С. 73-80.
14. Эмануэль Н. М., Лясовская Ю. Н. Торможение процессов окисления жиров. – М: Пищепромиздат, 1961. – 360 с.
15. Карпухина Г. В., Эмануэль Н. М. Классификация синергических смесей антиоксидантов и механизмов синергизма // *Докл. АН СССР.* – 1984. – Т. 276. – № 5. – С. 1163-1167.
16. Просенко А. Е. ω -(4-Гидроксиарил)галогеналканы и серосодержащие антиоксиданты на их основе: Дис. ... канд. хим. наук. – Новосибирск, 2000. – 230 с.
17. Просенко А. Е. Полифункциональные серо-, азот-, фосфорсодержащие антиоксиданты на основе алкилированных фенолов: синтез, свойства, перспективы применения: Дис. ... д-ра хим. наук. – Новосибирск, 2010. – 451 с.
18. Денисов Е. Т., Азатян В. В. Ингибирование цепных реакций. – Черноголовка, 1997. – 266 с.
19. Фойгт И. Стабилизация синтетических полимеров против действия тепла и света. – Л.: Химия, 1972. – 544 с.
20. Терах Е. И., Кандалинцева Н. В., Никулина В. В., Пинко П. И., Просенко А. Е. Изучение реакционной способности тиоалкилфенолов по отношению к кумилпероксидным радикалам и гидропероксиду кумола // *Нефтехимия.* – 2004. – Т. 44. – № 3. – С. 237-240.
21. Meier H., Kuenzi H., Knobloch G., Rist G., Szelagiewicz M. Reactions of sulfur containing phenolic antioxidants for elastomers // *Phosphorus, Sulfur and Silicon.* – 1999. – V. 153-154. – P. 275-300.
22. Meier H., Kuenzi H., Knobloch G., Rist G., Szelagiewicz M. Alkyl hydroxybenzyl thioethers: efficiency and mode of action in elastomer stabilization // in the book: *Chemistry and technology of polymer additives.* – Blackwell: Oxford, UK, 1999. – P. 71-89.
23. Зенков Н. К., Кандалинцева Н. В., Ланкин В. З., Меньщикова Е. Б., Просенко А. Е. Фенольные биоантиоксиданты. – Новосибирск: СО РАМН, 2003. – 328 с.
24. Farsaliev V. M., Fernando W. S., Scott G. Mechanisms of antioxidant action: autosynergistic behaviour of sulphhyr-containing phenols // *Eur. Polym. J.* – 1978. – V. 14. – N 10. – P. 785-788.
25. Denisov E. T., Afanas'ev I. B. Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology. – CRC Press, 2005. – 1024 p.

26. Просенко А. Е., Терах Е. И., Горох Е. А., Никулина В. В., Григорьев И. А. Синтез и исследование антиокислительных свойств бис-[ω-(3,5-диалкил-4-гидроксифенил)алкил]сульфидов // Журн. прикл. химии. – 2003. – Т. 76. – № 2. – С. 256-260.
27. Овчинникова Л. П., Роцкая У. Н., Васюнина Е. А., Синицина О. И., Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е., Невинский Г. А. Антиокислительная активность тиофана [бис(3-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил)сульфида] // Биоорг. Химия. – 2009. – Т. 35. – № 3. – С.417-423.
28. Бахтина И. А., Антипьева Е. В., Просенко А. Е., Стрельцова Г. П., Душкин М. И., Зенков Н. К., Меньщикова Е. Б., Рагино Ю. И. Влияние антиоксиданта «тиофан» на параметры окислительного стресса при ишемической болезни сердца // Бюлл. СО РАМН. – 2000. – Т. 20. – № 3-4. – С. 24-29.
29. Смольякова В. И., Плотников М. Б., Чернышева Г. А., Иванов И. С., Просенко А. Е., Кандалинцева Н. В. Гемореологические эффекты тиофана при поражении печени тетрахлорметаном // Экспер. клин. фармакол. – 2010. – Т. 73. – № 8. – С. 32-34.
30. Смольякова В. И., Плотников М. Б., Чернышѐва Г. А., Иванов И. С., Просенко А. Е., Кандалинцева Н. В. Антиоксидантные эффекты тиофана при экспериментальном поражении печени тетрахлорметаном // Бюлл. сибир. медицины. – 2010. – Т. 9. – № 5. – С. 32-34.
31. Средство для коррекции нарушений женской репродуктивной функции, вызванных цитостатическим воздействием: Пат. 2367420 РФ / Боровская Т. Г., Гольдберг Е. Д., Щемерова Ю. А., Пахомова А. В., Перова А. В., Просенко А. Е., Дюбченко О. И. (2009).
32. Коваль Ю. И., Бокова Т. И., Медяков Е. Г., Носенко Д. Л. Детоксикация свинца и кадмия в организме цыплят-бройлеров антиоксидантом тиофаном // Вестн. КрасГАУ. – 2013. – № 4. – С. 154-159.
33. Кемелева Е. А., Васюнина Е. А., Синицина О. И., Хомченко А. С., Гросс М. А., Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е., Невинский Г. А. Новые перспективные антиоксиданты на основе 2,6-диметилфенола // Биоорган. химия. – 2008. – Т. 34. – № 4. – С. 558-569.
34. Средство, обладающее антиагрегантной, уменьшающей повышенную вязкость крови и антитромбогенной активностью: Пат. 2368376 РФ / Плотников М. Б., Смольякова В. И., Иванов И. С., Чернышева Г. А., Просенко А. Е., Гросс М. А., Бойко М. А. (2009).
35. Плотников М. Б., Просенко А. Е., Смольякова В. И., Иванов И. С., Чернышева Г. А., Кандалинцева Н. В. Синтез и антиоксидантная активность 3,5-диметил-4-гидроксibenзилтиододекана // Хим.-фарм. журн. – 2010. – Т. 44 – № 4. – С. 25-27.
36. Средство для коррекции цитостатических эффектов паранеопластических процессов и химиотерапии, обладающее противоопухолевой активностью: Пат. 2447888 РФ / Просенко А. Е. Гросс М. А. Кандалинцева Н. В., Толстикова Т. Г. Сорокина И. В. (2012).
37. Robillard B., Ingold K. U. Total synthesis of 1-thio-α-tocopherol: a sulfur-containing analogue of vitamin E // Tetrahedron Lett. – 1986. – V. 25. – N 27. – P. 2817-2820.

38. Al-Maharik N., Engman L., Malmstrom J., Schiesser C. H. Intramolecular homolytic substitution at selenium: synthesis of novel selenium-containing vitamin E analogues // J. Org. Chem. – 2001. – V. 66. – P. 6286 – 6290.
39. Shanks D., Amorati R., Fumo M. G., Pedulli G. F., Valgimigli L., Engman L. Synthesis and antioxidant profile of all-rac- α -selenotocopherol // J. Org. Chem. – 2006. – V. 71. – P. 1033-1038.
40. Poon J., Singh V., Yan J., Engman L. Regenerable antioxidants-introduction of chalcogen substituents into tocopherols // Chem. Eur. J. – 2015. – V. 21. – P. 2447-2457.
41. Kumar S., Johansson H., Engman L., Valgimigli L., Amorati R., Fumo M. G., Pedulli G. F. Regenerable chain-breaking 2,3-dihydrobenzo[b]selenophene-5-ol antioxidants // J. Org. Chem. – 2007. – V. 72. – P. 2583-2595.
42. Malmstrom J., Jonsson M., Hammarstrom L., Engman L. The Antioxidant profile of 2,3-dihydrobenzo[b]furan-5-ol and its 1-thio, 1-seleno, and 1-telluro analogues // J. Am. Chem. Soc. – 2001. – N 123. – P. 3434-3440.
43. Цепалов В. Ф., Харитонов А. А., Гладышев Г. П., Эмануэль Н. М. Определение констант скорости и коэффициентов ингибирования фенолов-антиоксидантов с помощью модельной цепной реакции // Кинетика и катализ. – 1977. – Т. – № 5. – С. 1261-1267.
44. Denisov E. T., Denisova T. G. Handbook of antioxidants: Bond dissociation energies, rate constants, activation energies and enthalpies of reactions. – 2. ed. – Boca Raton: CRC press LLC, 2000. – 289 p.
45. Ягунов С. Е., Хольшин С. В., Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е. Полифункциональные антиоксиданты ряда 5-гидрокси-2,3-дигидробензофурана. Сообщение 2. Синтез 5-гидрокси-2-додецилселенометил-2,3-дигидробензофуранов и исследование их антиоксидантной активности в сравнении с 2-додецилтиометилзамещенными аналогами // Изв. АН. Сер. хим. – 2018. – № 5. – С. 844-851.
46. Денисов Е. Т., Денисова Т. Г. Реакционная способность природных фенолов // Успехи химии. – 2009. – Т. 78. – № 11. – С. 1129-1155.
47. Ягунов С. Е., Хольшин С. В., Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е. Полифункциональные антиоксиданты ряда 5-гидрокси-2,3-дигидробензофурана. Сообщение 1. Синтез 2-додецилтиометил-5-гидрокси-2,3-дигидробензофуранов // Изв. АН. Сер. хим. – 2017. – № 6. – С. 1024-1029.
48. Бис-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил)селенид, обладающий антиоксидантной и гипогликемической активностью: Пат. 2 586 067 РФ / Айзман Р. И., Гайдарова А. П., Корощенко Г. А., Просенко А. Е., Хольшин С. В., Ягунов С. Е. (2015).
49. Хольшин С. В., Ягунов С. Е., Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е. Синтез селеносодержащих производных на основе *пара*-бромпропилзамещенных фенолов // Изв. АН. Сер. хим. – 2018. – № 5. – С. 852-857.

ПРОМЫШЛЕННЫЕ МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ОКСИДА ПРОПИЛЕНА

Х.Э. Харлампиди, Н.П. Мирошкин, А.А. Гайфуллин

Казанский национальный исследовательский технологический университет

Оксид пропилена (ОП) относится к числу важнейших продуктов промышленного органического синтеза. Быстрый рост производства окисей олефинов стимулируется расширением областей их использования для получения растворителей, поверхностно-активных веществ, пластификаторов, увлажняющих и взрывчатых веществ, антифризов, а также разработкой новых направлений их использования, главным образом в производстве полиэфиров и полиуретанов. Особенно ценен ОП как мономер для получения полипропиленоксидов, полипропиленгликолей и других важных продуктов [1].

В настоящее время суммарная мировая мощность установок, производящих оксид пропилена, составляет более 8 млн т., основная доля которого приходится на США и составляет более 30% его мирового выпуска.

Известно несколько способов получения оксидов [2-4], однако практическую ценность имеют следующие:

- хлоргидридный метод (до 1970 года единственный промышленный способ производства за рубежом);
- эпоксидирование непредельных углеводородов гидропероксидами в присутствии металлов переменной валентности;
- эпоксидирование надкислотами;
- эпоксидирование пероксидом водорода в присутствии карбоновых кислот;
- эпоксидирование непредельных соединений пероксидом водорода в условиях межфазного катализа.

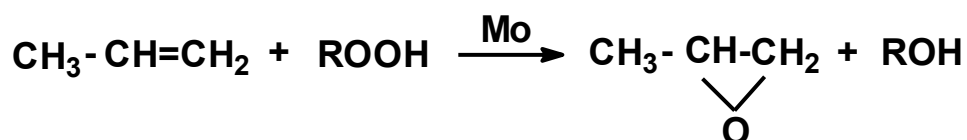
В течение многих лет усилия химиков были направлены на поиски бесхлорного метода синтеза окиси пропилена.

Окисление пропилена молекулярным кислородом над серебряным катализатором (по аналогии с синтезом окиси этилена) не приводит к образованию заметных количеств окиси пропилена. При парофазном

окислении пропан-пропиленовой фракции без катализатора (под давлением) окись пропилена образуется с низким выходом (2-3% за проход).

Процесс сопровождается образованием смеси побочных продуктов частичного окисления в количестве до 3 т на 1 тонну окиси пропилена. Хотя этот процесс используется на двух установках в США и Канаде, однако из-за низких технико-экономических показателей он не находит развития. Количество окиси пропилена, вырабатываемой этим методом, составляет менее 0,5% от общего мирового объема ее производства.

Наиболее эффективным методом получения оксида пропилена в настоящее время признан процесс эпоксицирования пропилена органическими гидропероксидами [5-7]:



С вводом в строй отечественного производства оксида пропилена через гидропероксид этилбензола более чем в два раза возросло его производство. Процесс совместного производства оксида пропилена и стирола, разработанный фирмой «Халкон» в конце 60-х годов [1], включает следующие стадии: окисление, эпоксицирование, дегидратация, гидрирование.

Наиболее важной стадией данного процесса является стадия окисления, от которой зависит селективность процесса в целом. Жидкофазное окисление этилбензола протекает по радикально-цепному механизму с вырожденным разветвлением цепей и, как все радикальные реакции, протекает с конверсией, тесно связанной с селективностью. Окисление этилбензола до гидропероксида протекает значительно труднее, чем реакция окисления изопропилбензола, лежащая в основе кумольного метода получения фенола и ацетона.

Стадию эпоксицирования проводят в каскаде из 3 реакторов смешения при температуре 105-115°C в мольном соотношении пропилен:ГП = (4÷7):1; Мо:ГП = 5.10⁻⁴:1. Конверсия по ГП составляет после I реактора – 70-72; II – 90-91; III – 98-99%; выход пропиленоксида – 83-86%.

Лучшими катализаторами данного процесса являются различные соединения молибдена, которые показали себя как наиболее активные и селективные катализаторы реакции гидропероксидного окисления олефинов. Спектр используемых комплексов молибдена достаточно широк: от ацетилацетоната до молибденила $\text{MoO}_2(\text{acac})_2$ и $\text{Mo}(\text{CO})_6$ до соединений молибдена с хиральными лигандами типа (1R,2R) –алкилэфедринов [8]. Такое многообразие применяемых катализаторов объясняется тем, что активность и избирательность одного и того же катализатора отличаются в зависимости от выбранной пары реагентов гидропероксид-олефин и, по-видимому, в значительной степени определяются лигандами в координационной сфере атома молибдена. Исследования последних лет показали, что каталитические свойства гомогенных молибденсодержащих комплексов можно изменять, варьируя природу лигандного окружения таким образом, что полученный катализатор наряду с высокой активностью будет сохранять стабильность на протяжении всего времени реакции и работать достаточно избирательно. Промышленное применение нашли молибденсодержащие катализаторы, полученные растворением молибдена или его соединений (оксиды, сульфиды, оксихлориды, хлориды) в спиртах [9-11], в смесях спиртов с каким-либо эпоксидирующим агентом [12-14], в различных фракциях кубового остатка эпоксиديрования [15] и т.д.

Одними из широко известных высокоактивных катализаторов являются катализаторы, полученные обработкой порошка металлического молибдена спиртовыми растворами и гидропероксидами.

Чрезвычайно перспективен для промышленного использования катализатор, получающийся растворением молибдена при нагревании в кубовом остатке продуктов эпоксиديрования олефинов. Переходу молибдена в раствор способствует наличие в кубовом остатке как гидропероксидов, так и полигидроксильных соединений.

Состав и строение растворимых молибденовых соединений, несмотря на многочисленные исследования, до настоящего времени не прояснен. Известно только, что среди них имеются моно- и полиядерные соединения молибдена окисного, гидроокисного и перекисного характера.

Несмотря на вышесказанное, молибденовый катализатор положен в основу производства оксида пропилена гидропероксидным эпексидированием на ОАО «Нижекамскнефтехим» [17]. Его готовят растворением порошка металлического молибдена в смеси ГПЭБ и этанола при весовом соотношении спирт:25%-ный раствор гидропероксида в этилбензоле = 1:1, начальной загрузке молибдена 6-7 г/л, при 45-50°C и времени реакции 3-4 часа. Содержание растворенного молибдена в готовом катализаторе составляет 0,5-0,6% мас. С целью получения катализатора с повышенной активностью и селективностью авторы [18] предлагают в качестве растворителя использовать смесь этилового спирта, ацетофенона и метилфенилкарбинола. Авторы [19,20] для увеличения стабильности катализатора, получаемого растворением металлического молибдена в смеси ГПЭБ и этанола предлагают использовать гликолевые добавки в количестве до 15% мас.

Стадия дегидратации МФК осуществляется в присутствии катализатора γ -оксида алюминия при температуре 280-320°C в адиабатических условиях с промежуточным подогревом.

Дегидратация МФК проводится в две ступени: степень превращения МФК в первой ступени составляет 50-70%, во второй – 20-40%; общая конверсия 90%, селективность 96-97%.

В процессе дегидратации для снижения парциального давления углеводородов подается водяной пар в соотношении $H_2O:MFK=10:1$ моль. Водяной пар является также теплоносителем для эндотермической реакции дегидратации.

Для процесса дегидратации характерно высокое энергопотребление, обусловленное высокой температурой процесса и большим расходом водяного пара на разбавление фракции МФК, которое сказывается на увеличении себестоимости продукции. Особенно остро встает эта проблема в свете снижения мировых цен на стирол-мономер и увеличение стоимости сырья и энергоносителей.

Одним из вариантов снижения энергопотребления в процессе парофазной дегидратации, обусловленной высокой температурой процесса и большим расходом водяного пара на пароразбавление, которое сказывается

на себестоимости продукта, является проведение процесса дегидратации в жидкой фазе при более низких температурах (до 190°C) с использованием новых гомогенных высокоселективных катализаторов, исключающих образование побочных продуктов, в том числе «тяжелых» высококипящих компонентов.

В процессе совместного получения пропиленоксида и стирола одним из основных побочных продуктов является ацетофенон, выход которого достигает 0,5-1,0 тонны на 1 тонну пропиленоксида. Дальнейшая переработка ацетофенона заключается в гидрировании его до МФК, который дополнительно вовлекается в производство стирола.

В настоящее время процесс гидрирования ацетофенона проводят в жидкой фазе в реакторе с суспендированным медно-хром-бариевым катализатором при температуре 170-175°C, давлении водорода 2,2-2,5 МПа, нагрузке по сырью 600-700 кг/м³.ч, мольном отношении водород:сырье равном 7:1. Степень превращения Ац составляет не менее 70%, селективность по МФК 95% мол. при расходе катализатора $5,6 \cdot 10^{-3}$ кг на 1 кг МФК.

Разработанный нами медный скелетный катализатор показал, что при использовании данного катализатора в процессе жидкофазного гидрирования в реакторе со стационарным слоем степени превращения ацетофенона и селективность по МФК не уступают аналогичным характеристикам процесса на суспендированном медно-хром-бариевом катализаторе [21].

Можно вести гидрирование ацетофенона и в направлении получения нафтового спирта – метилциклогексилкарбинола, который может быть использован в производстве пластификаторов, синтетических смазочных масел, присадок к топливам и маслам и в парфюмерной промышленности. Однако основным потребителем метилциклогексилкарбинола должно стать производство винилциклогексана – полимера, который обладает уникально высокой температурой плавления (320°C) и сочетанием других физико-механических свойств, представляющих интерес для многих отраслей народного хозяйства.

Для осуществления реакции образования метилциклогексилкарбинола из АФ преимущественно должно быть реализовано два направления: полное

гидрирование «бензольного кольца» и неполное «мягкое» гидрирование карбонильной группы в спиртовую, то есть катализатор должен обладать бифункциональными свойствами.

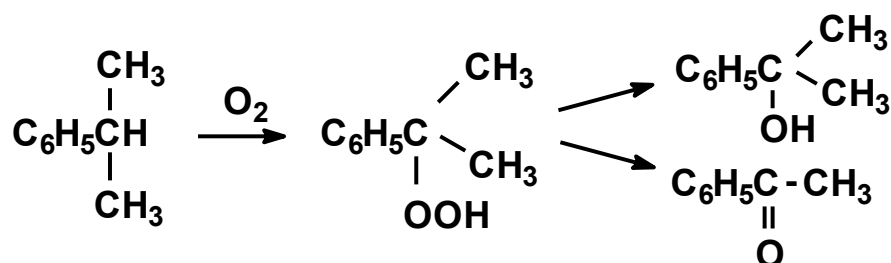
Если гидрирование карбонильной группы протекает в присутствии различных гидрирующих катализаторов, то фактически единственными катализаторами гидрирования ароматического ядра являются металлы платиновой группы. Поэтому выбор селективного катализатора превращения АФ в МЦКол ограничен этими металлами. Экспериментально была определена последовательность расположения гидрирующих катализаторов в следующий ряд:

- по активности: Rh>Ni>Pd>Pt;
- по селективности в МЦГКол: Rh>Ru>Os>Pt>Ni>Pd [22].

На Казанском заводе ОАО «Органический синтез» можно организовать производство по получению оксида пропилена, который будет иметь ряд преимуществ по сравнению с этилбензольным.

В кумольном способе эпоксидирующим агентом служит гидропероксид изопропилбензола (ГПИПБ). Процесс состоит из следующих стадий:

1. Стадия получения ГПИПБ:



В промышленных условиях ГПИПБ получают путем окисления изопропилбензола при температуре 120°C в одноколонном секционном реакторе с селективностью порядка 90-95%. Состав оксидата:

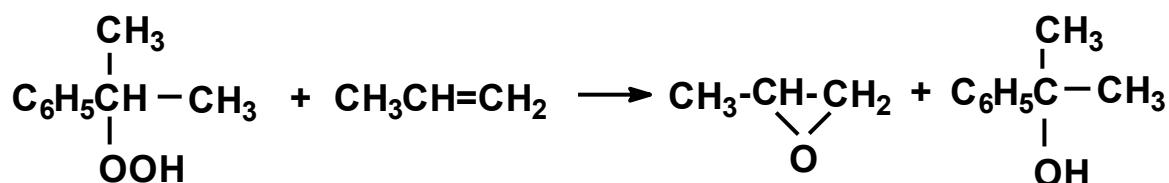
ГПИПБ – 28,05; ДМФК – 1,92; АФ – -,35; кислоты – 0,02; ИПБ – 69,66; α_{ИПБ} = 25,8 %.

В табл.1 приведен материальный баланс процесса окисления изопропилбензола.

Таблица 1

Приход, т/год		Расход, т/год	
ИПБ	133524,2	ГПК	39900
Воздух	38064,33	ДМФК	2731,12
а) кислород	8868,99	АФ	497,86
б) азот	29195,34	К-ты	28,45
		ИПБ непр	99088,55
		азот	29195,34
		потери	147,21
ИТОГО	171588,53	ИТОГО	171588,32

2. Стадия эпоксидирования пропилена:



Стадия эпоксидирования является наиболее сложной в данном процессе, и она стала возможной благодаря использованию новых каталитических систем. Эпоксидирование ГПИПБ проводится при температуре 115-120°C, молярном отношении пропилен:ГПИПБ = (3-5):1. Концентрация молибденового катализатора (2-6)·10⁻⁴ моль на моль ГПИПБ.

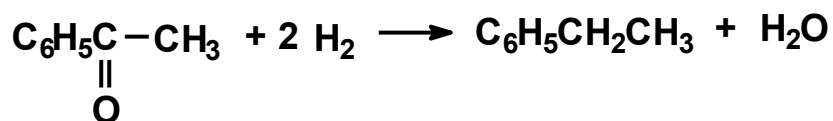
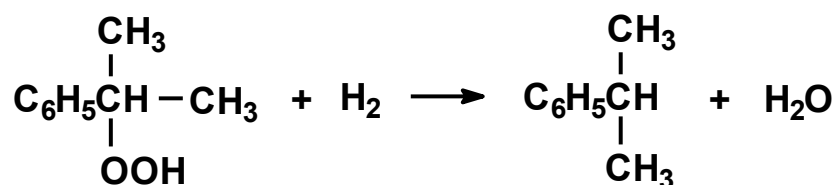
В табл.2 приведен материальный баланс процесса эпоксидирования.

Таблица 2

Приход, т/год		Расход, т/год	
28,05% ГПК	39900	Окись пропилена	15000
Пропилен	73050	ДМФК	32400
Катализатор	990,74	Пропилен	61508,1

		непревр	
а) Мо	10,86	Мо	10,86
б) 100% ГПК	11,54	Этанол	902,6
в) Этанол	968,34	побочные +потери	4119,18
Итого	113940,74	Итого	113940,74

3. Стадия жидкофазного гидрирования побочных продуктов ДМФК и Ац:



Эта стадия также является важной, так как она дает возможность переработать побочные продукты, которые образуются на стадиях окисления и эпоксидирования, – ДМФК – в изопропилбензол, а Ац – в этилбензол. Однако это стало возможным также благодаря созданию новых каталитических систем для процесса гидрирования [21,23].

В табл.3 приведен материальный баланс процесса гидрирования ДМФК.

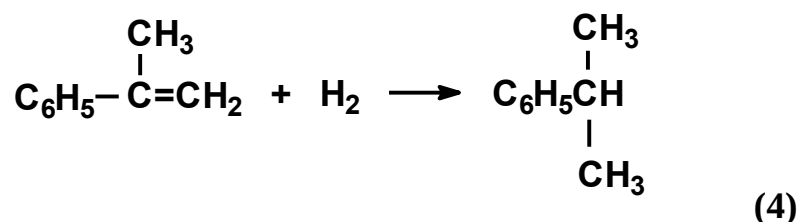
Таблица 3

Приход, т/год		Расход, т/год	
ДМФК всего	35131,12	ИПБ	27898,24
а) ДМФК	2731,12	ДМФК непр.	3513,11

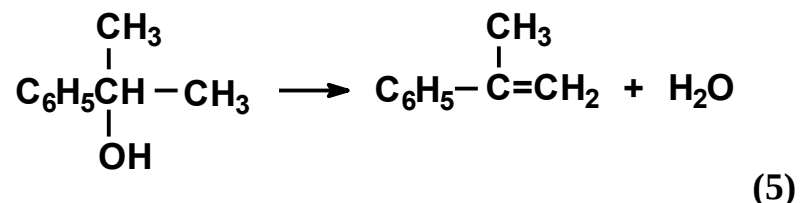
(окисл)			
б) ДМФК (эпокс)	32400	Вода	4184,73
100% H ₂	1549,9	Водород непр.	1084,93
Итого	36681,02	Итого	36681,01

Можно вести процесс и в направлении дегидратации ДМФК в α-метилстирол и гидрирования α-метилстирола в изопропилбензол по реакциям (4,5):

Гидрирование α-метилстирола:



Дегидратация ДМФК:



Эти стадии достаточно хорошо изучены в работах [24,25], а на процесс гидрирования α-метилстирола имеется технологический регламент.

Кумольный метод производства пропиленоксида по сырью близок к процессу получения фенола и ацетона и имеет общие технологические стадии. Поэтому создание кооперированного производства пропиленоксида и ацетона позволит решить не только проблему повышения селективности процесса получения фенола за счет переработки побочных ДМФК и АФ путем их совместного гидрирования с ДМФК, образующимся в эпоксидировании, но и будет способствовать снижению капитальных затрат в обоих производствах.

Этот процесс принципиально отличается от метода «Халкон» - совместного получения пропиленоксида и стирола. В нем отсутствует

жесткая связь между выходами пропиленоксида и сопряженных продуктов – фенола и ацетона, что дает возможность получать эти продукты в любом соотношении [26].

ЛИТЕРАТУРА

1. Серебряков Б.Р., Хитеева Д.М., Коновальчуков А.Г., Штейнгарт Г.А., Ганицкая З.А. Современное состояние производства и потребления окиси пропилена. – М.: ЦНИИТЭнефтехим, 1971. - 94с.
2. Прилежаева Е.Н. Реакция Прилежаева. Электрофильное окисление.-М.: Наука, 1974.-332с.
3. Метелица Д.И. Эпоксидирование олефинов в жидкой фазе // Успехи химии.- 1972.-Т.41, N20.-С.1737-1765.
4. Рубайло В.Л., Маслов С.А. Жидкофазное окисление непредельных соединений.-М.: Химия, 1989.-221с.
5. Толстиков Г.В. Реакции гидроперекисного окисления.-М.: Наука, 1986.- 160с.
6. Синтез изопрена на основе жидкофазного окисления углеводородов C5 / ЦНИИТЭнефтехим-М., 1975.-54с.
7. Скибида И.П. Механизм реакции эпоксидирования олефинов гидропероксидами // Успехи химии.-1975.-N10-С.1720.
8. Катализаторы реакции эпоксидирования олефинов органическими пероксидами / Тематический обзор ЦНИИТЭнефтехим.-М., 1993.-31с.
9. Pat. 3480563 US, B 01 j, C 07 d. Organic-soluble molybdenum catalysts.
10. Pat. 1550166 Fr, Cl B 01 j. Procédé de préparation d'époxides.
11. Pat. 1539209 Fr, Cl B 01 j. Alkyl vanadate oxidation catalysts for epoxidation reaction.
12. Pat. 3666777 US, C 07 d 1/12, C 07 d 1/08. Epoxidation of propylene utilizing molybdenum-containing catalyst solutions.
13. Pat. 3434975 US, B 01 j, C 07 d. Manufacture of molybdenum catalysts.
14. Pat. 1119476 Brit., Cl B 01 j. Manufacture of molybdenum catalysts.
15. Pat. 1222874 Brit., Cl B01 j. Molybdenum catalyst for olefine epoxidation.
16. Pat. 3507809 US, C 07 d 1/08. Preparation of epoxidation catalyst solution.
17. Синтез катализатора эпоксидирования на основе металлического молибдена /Карпенко Л.П., Серебряков Б.Р., Галантерик Р.Е., Коновальчуков А.Г., Качаров В.Г.//ЖПХ.-1975.-Вып.8.-С.1706-1709.
18. А.С.СССР №1499764, МКИ В27 С 7/0. Способ получения катализатора для эпоксидирования олефинов.
19. Куравина С.А. Разработка нового молибденсодержащего катализатора для интенсификации процессов получения оксида пропилена и этилцеллозольва: Дисс... к.х.н. – Казань, 1987.
20. Петухов А.А. Усовершенствование технологии получения и переработки олефинов: Дисс...д.т.н. – Казань, 1986.
21. Харлампиди Х.Э., Серебряков Б.Р., Каралин Э.А. и др. Патент РФ № 2121475 //Опубл. 10.11.98. Бюл. №31.
22. Адамян В.А. Разработка технологии процесса селективного гидрирования ацетофенона в метилциклогексилкарбинол: Дисс...к.т.н. – Казань. 1991.
23. Черных С.П., Хчечян Х.Е., Аврех Г.Л.//Хим.пром.-1983.-С.38.

24. Ксенофонов Д.В. Технология процесса жидкофазного гидрирования альфа-метилстирольной фракции: Дисс...к.т.н. – Казань, 2002.
25. Гагарин М.А. Жидкофазная дегидратация диметилфенилкарбинола: Дисс...к.т.н. – Казань, 2002.
26. Серебряков Б.Р., Масагутов Р.М., Правдин В.Г. и др. Новые процессы органического синтеза. М.:Химия, 1989.-399с.

КИНЕТИКА И МЕХАНИЗМ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АЛИФАТИЧЕСКИХ НИТРОКСИЛЬНЫХ И ГИДРОПЕРОКСИЛЬНЫХ РАДИКАЛОВ

Плисс Е.М.

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова,
150000, г. Ярославль, ул. Советская, 14;
Fax: +7(8452) 79-77-51, e-mail: pliss@uniyar.ac.ru

Введение

Детальные механизмы биохимических процессов, связанные с реакциями липидов со свободными радикалами, остаются, большей частью, невыясненными [1 - 7]. Одной из причин создавшегося положения является многообразие элементарных реакций пероксидного окисления липидов. Сюда относится присоединение кислорода к углеродцентрированным радикалам, отрыв атома водорода пероксидными ($\text{RO}_2^\bullet$) или алкоксильными радикалами ($\text{RO}^\bullet$), присоединение $\text{RO}_2^\bullet$ к двойным $\text{C}=\text{C}$ -связям, изомеризация и распад кислородцентрированных радикалов, их циклизация, реакции квадратичного и/или линейного обрыва цепей [1 - 8]. Еще одной из трудностей является сложный состав продуктов процесса, которые могут быть образованы из отдельных фрагментов молекул. В частности, при окислении линолевой кислоты и её эфиров на малых глубинах превращения образуются преимущественно *транс,цис*- и *транс,транс*-изомерные гидропероксиды, сопряжённые с двумя двойными связями: $-\text{CH}(\text{OOH})-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-$ (диеновые конъюгаты – продукты превращения пентадиенильных радикалов); гидропероксиды типа: $\sim\text{CH}(\text{OOH})-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}\sim$, возникающие при атаке CH -связи в аллильном положении, составляют лишь несколько процентов [3, 4, 7]. Все эти молекулы и радикалы могут участвовать в дальнейших реакциях присоединения, отрыва и распада, что дополнительно затрудняет изучение и анализ механизма пероксидного окисления липидов. Отметим также, что все многообразие изучаемого процесса в значительной степени осложняется влиянием полярного характера среды и различиями в поведении реагирующих частиц в жидкой и микрогетерогенной фазах [1, 8 - 15].

Очевидно, что изучение всего спектра протекающих реакций представляет сложнейшую многопараметровую задачу, которую следует решать,

используя соединения, моделирующие отдельные фрагменты липидных молекул и продуктов их окислительного превращения. Разумеется, что решение указанной задачи необходимо начинать на континуальном уровне, проводя исследования и теоретический анализ изучаемых реакций в жидкой фазе. Отметим, что особый интерес, среди многочисленных парамагнитных частиц, участвующих в рассматриваемом процессе, в последние годы вызывают гидропероксильные радикалы ($\text{HO}_2^\bullet$), которые являются носителями цепей окисления органических молекул разных классов [1, 4, 7, 8, 10, 11, 16, 17]. При окислении непредельных соединений, в зависимости от строения субстрата продолжение цепей происходит или по реакции присоединения: $\text{HO}_2^\bullet + >\text{C}=\text{C}<(\text{M}) \rightarrow \text{HOOM}^\bullet (\equiv \text{M}^\bullet)$ [1, 8, 9], или путем отрыва атома водорода от $\alpha\text{-CH}$ -связи: $\text{HO}_2^\bullet + \text{RH} \rightarrow \text{HOOH} + \text{R}^\bullet$ [1 – 5, 7, 11, 16 – 21], либо эти маршруты являются параллельными [1, 9 – 11, 17]. Наряду с жидкофазными реакциями, возможность образования $\text{HO}_2^\bullet$ рассматривается и в микрогетерогенных системах [6, 17, 22 – 29]. Последнее обстоятельство чрезвычайно существенно, поскольку известно, что реакционная способность пероксирадикалов в заметной степени зависит от полярности растворителя [1, 12 – 21]. Отметим, что для такой полярной частицы, как гидропероксильный радикал, исследования влияния сольватации на его реакционную способность относятся, преимущественно к реакциям отрыва атома водорода [1, 4 – 15] и анализу зависимости констант скорости диспропорционирования $\text{HO}_2^\bullet$ от pH среды (см., например, [29 – 30]).

Интерес к реакционной способности $\text{HO}_2^\bullet$ обусловлен и тем обстоятельством, что до настоящего времени остается дискуссионной его роль в циклических механизмах регенерации антиоксидантов при ингибированном окислении непредельных соединений в жидкой и микрогетерогенной фазах [1, 8, 10, 11, 16, 25 – 28].

Важно, что исследование механизма и реакционной способности $\text{HO}_2^\bullet$ в жидкофазных и гетерофазных реакциях является одной из актуальных задач, объединяющих физическую химию, биохимию и медицину, поскольку ее решение открывает пути для создания новых лекарственных препаратов, влияющих на окислительный стресс [2, 7, 31].

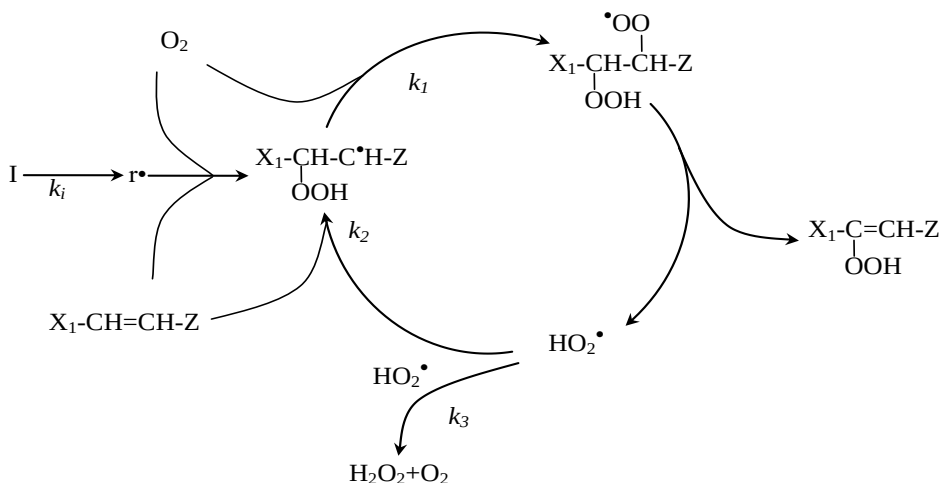
Стабильные алифатические нитроксильные радикалы ($>\text{NO}^\bullet$) многократно обрывают цепи по реакции с $\text{HO}_2^\bullet$ [1, 17, 25 – 28, 32 - 35]. Этот эффект был использован при установлении детального механизма жидкофазного окисления 1,2-замещенных этилена ($\text{X}_1\text{CH}=\text{CHX}_2$) и 1,4-замещенных бутадиена ($\text{X}_1\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CHX}_2$) [36]. В качестве заместителей при двойной связи этих соединений служат $\text{X}_1, \text{X}_2 = -\text{H}, -\text{R}, -\text{COOR}, -\text{C}_6\text{H}_5, -\text{CN}$ и т. п. (для $\text{X}_1\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CHX}_2$ фрагмент $-\text{CH}=\text{CHX}_2$ можно рассматривать как полярный заместитель Z при двойной связи), и для малых глубин превращения процесс описывается схемой 1 [36].

Поскольку цепи окисления этих субстратов ведет $\text{HO}_2^\bullet$, то обнаруженная в [36] регенерация $>\text{NO}^\bullet$ была объяснена реакциями:



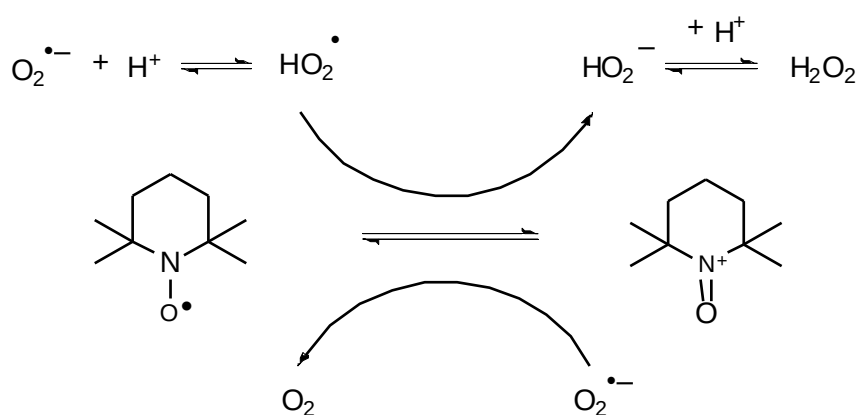
В дальнейшем $\text{X}_1\text{CH}=\text{CHX}_2$ и $\text{X}_1\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CHX}_2$ были использованы как удобные источники гидропероксидных радикалов в кинетических исследованиях [37, 38].

Схема 1



Отметим, реакции (4.1) и (4.2) включают в циклические схемы ингибирования $>\text{NO}^\bullet$ органических соединений [1, 8, 17, 28, 32 - 35] биологических субстратов [25, 26, 33 – 35, 39 - 41], полимеров [1, 32 - 35]. При этом констант скорости реакций (4.1) и (4.2) насчитываются единицы, и большинство из них относятся к нитроксильным радикалам пиперидинового ряда [1, 17, 28, 32 - 35]. В то же время такая информация имеет большое

значение для установления связи строения $>\text{NO}^\bullet$ с их реакционной способностью, как в жидкофазных реакциях, так и гетерогенных системах. В предыдущих работах мы установили, что радикалы пиперидинового, пирролинового, пирролидинового и имидазолинового рядов тормозят окисление метиллинолеата (LH) в мицеллах, нестехиометрически обрывая цепи окисления [25, 26]. Регенерация в данном процессе была объяснена реакцией с радикалом $\text{HO}_2^\bullet$, образующимся при окислении метиллинолеата в мицеллах и в водной среде находящимся в равновесии с супероксидным радикалом [25, 26]. Укажем, что каталитический характер реакции $\text{HO}_2^\bullet + >\text{NO}^\bullet \rightarrow >\text{NOH} + \text{O}_2$ [28] и наличие динамического равновесия [25 - 28]:



существенно затрудняет измерение элементарных констант скоростей реакций (4.1) и (4.2) в гетерогенных системах. По этой причине логично на первом этапе получить искомые данные в органической фазе, варьируя полярность растворителей. Этот путь представляется достаточно перспективным, поскольку в предыдущей работе, посвященной влиянию полярных эффектов на присоединение $\text{HO}_2^\bullet$ к π - связям мы показали, что образование устойчивых водородных связей гидропероксильного радикала с растворителем будет приводить к уменьшению вероятности его участия в реакции продолжения цепи [38]. Этот факт позволяет предполагать, что подобный эффект реализуется и при окислении в микрогетерогенных системах, когда образование $\text{HO}_2^\bullet$ связывается с увеличением времени жизни пероксирадикала в интерьере мицеллы [25 – 28].

В настоящей лекции представлены новые кинетические данные по реакции $\text{HO}_2^\bullet + >\text{NO}^\bullet$ в среде растворителей разной полярности и

квантово-химический анализ связи строения с реакционной способностью реагирующих в этом процессе частиц.

Эксперимент

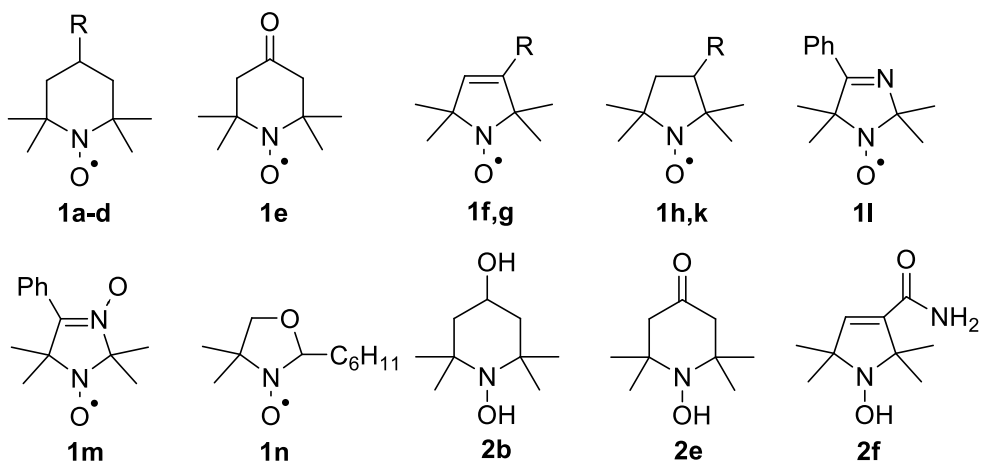
В качестве источника $\text{HO}_2^\bullet$ был использован этиловый эфир транс-коричной кислоты (ЭК), а растворителями служили: диоксан (Докс), ацетонитрил (Ац), диметилсульфоксид (ДМСО). Все реактивы приобретены в Sigma, USA.

Растворители очищали пропусканием через активированную окись алюминия с последующей перегонкой под вакуумом.

Кинетическая чистота субстрата окисления и растворителей контролировалась с помощью высокоэффективного жидкостного хроматографа Flexar и газового хромато-масс-спектрометра Clarus 680T MS (фирма PerkinElmer, США). Во всех случаях концентрация основного компонента была не ниже 99.6 %.

Инициатор – азобисизобутиронитрил (АИБН) – трижды перекристаллизовывали из этанола с последующей сушкой в вакууме.

Нитроксильные радикалы ($>\text{NO}^\bullet$) **1a-n** и гидроксиламины ($>\text{NOH}$) **2b,c,f** были синтезированы по методикам, описанным в [42, 43].



R = H (a), OH (b), NH_2 (c), OC(O)Ph (d),

C(O)NH_2 (f, h), CN (g), CH_2NH_2 (k)

Кинетику поглощения кислорода изучали с помощью автоматизированного высокочувствительного капиллярного микроволнометра, конструкция ячейки которого позволяла вводить пробы по ходу опыта. Методика эксперимента описана в [44].

Скорость инициирования (W_i) определяли в анаэробной среде по скорости расходования $>\text{NO}^\bullet$ **1a** из соотношения $W_i = f[>\text{NO}^\bullet]_0/\tau$, где $f = 1$ стехиометрический коэффициент ингибирования [1], τ - время полного расходования $>\text{NO}^\bullet$.

За изменением $[>\text{NO}^\bullet]$ следили методом ЭПР (спектрометр CMS 8400 X-диапазона, центр поля 3362 Гс, частота модуляции 100 кГц, амплитуда модуляции 2 Гс, ослабление микроволновой мощности 5 мВт). Постоянная концентрация O_2 или Ar в находящейся в резонаторе спектрометра ампуле с исследуемым образцом поддерживалась продувкой соответствующего газа (или газовой смеси $\text{O}_2 + \text{Ar}$) через микрокапилляр, помещенный в ампулу.

Расчет полных электронных энергий и термодинамических функций участвующих в реакциях соединений производили квантово-химическим методом функционала плотности [45, 46] с гибридным обменно-корреляционным функционалом Becke, Lee, Yang & Parr [47] DFT B3LYP/6-311G** с открытыми оболочками [48] с использованием программного комплекса NWChem [49]. Наличие особых точек на поверхностях потенциальной энергии контролировали общепринятыми методами на основании вибрационного анализа [50]: минимумов - по отсутствию отрицательных собственных значений матрицы Гессе в точке предполагаемого экстремума, седловых точек - по наличию одного отрицательного собственного значения.

Расчет энергий сольватации реагирующих соединений производили в рамках модели COSMO [51 - 53].

Результаты и их обсуждение

Формально-кинетические закономерности неингибированного окисления. Кинетические кривые поглощения кислорода окисляющимся в среде различных растворителей ЭК имеют линейный характер, скорость окисления (W_{O_2}) прямо пропорциональна $W_i^{0,5}$ и не зависит от парциальных давлений кислорода (P_{O_2}) в диапазоне $P_{\text{O}_2} = 20 - 100$ кПа, что показано в наших предыдущих публикациях [36 - 38].

Кинетика ингибированного окисления. Скорость окисления ЭК в присутствии нитроксильных радикалов разных классов не зависит от P_{O_2} в

диапазоне 20–100 кПа и уменьшается с возрастанием $[>\text{NO}^\bullet]_0$ для чистого субстрата и его растворов (типичные примеры приведены на рис. 1). При $P_{\text{O}_2} = 100$ кПа окисление протекает с постоянной скоростью длительное время, которое значительно превышает теоретический период индукции $\tau_{\text{инд}} = [>\text{NO}^\bullet]_0/W_i$. Эти результаты соответствуют данным, полученным ранее для других $\text{X}_1\text{CH}=\text{CHX}_2$ и $\text{X}_1\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CHX}_2$ [36 - 38].

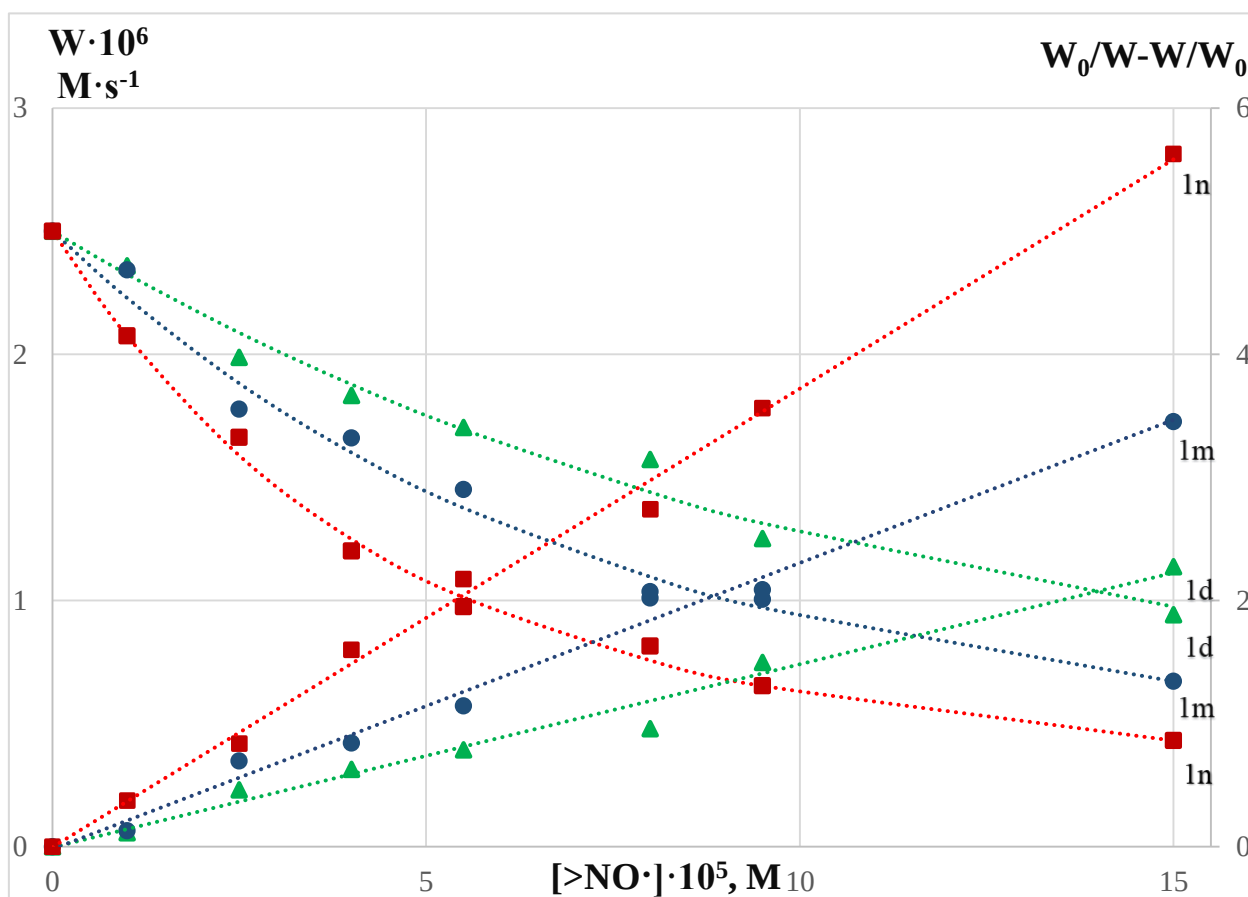


Рис.1. Зависимость W (1) и $W_0/(W_0 - W)$ для различных $[>\text{NO}^\bullet]$ (2) 323 К, $W_i = 4,2 \cdot 10^{-7}$ моль/(л·с).

Эффективно тормозя окисление, $>\text{NO}^\bullet$ практически не расходуются (рис.2 и 3, кривые 1). Например, при $P_{\text{O}_2} = 100$ кПа в окисляющихся ЭК $f > 100$ как в чистом субстрате, так и в среде растворителей (определен по скорости расходования $>\text{NO}^\bullet$ после установления его стационарной концентрации: рис. 2, метод ЭПР). Оцененные величины кинетических коэффициентов

ингибирования¹ ($f_{кин}$) для разных нитроксильных радикалов превышают 10^2 , что отражает лишь нижнюю границу данной величины и определяется только длительностью опыта, и связано с циклическим механизмом регенерации $>NO^\bullet$.

Данные рис. 2 и 3 косвенно свидетельствуют и об образовании $>NOH$ при взаимодействии $HO_2^\bullet$ с $>NO^\bullet$. Практически одинаковые $[>NO^\bullet]$ устанавливаются, если первоначально вводить $[>NO^\bullet 1b]_0 = [>NOH 2b]_0$ (рис.2, кривая 2) или $[>NO^\bullet 1e]_0 = [>NOH 2e]_0$ (рис.3, кривая 2). Гидроксиламин, соответствующий $>NO^\bullet$, является эффективным ингибитором окисления ЭК. Введение его в окисляющийся субстрат приводит к образованию $>NO^\bullet$ (рис. 2 и 3, кривая 2).

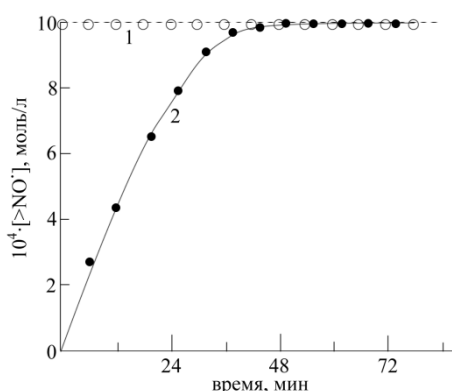


Рис. 2. Кинетика расходования (1) $>NO^\bullet 1b$ и накопления его из соответствующего гидроксиламина (2) при окислении ЭК
 $P_{O_2} = 20$ кПа, $[ЭК] = 2,9$ М, в диоксане, $W_i = 1,1 \cdot 10^7$ М·С⁻¹, 323 К

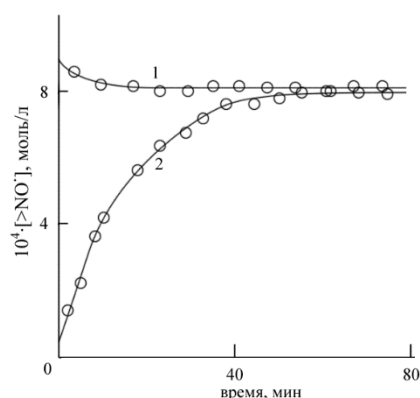


Рис. 3. Кинетика расходования (1) $>NO^\bullet 1e$ и накопления его из соответствующего гидроксиламина (2) при окислении ЭК;
 $P_{O_2} = 20$ кПа, 2,9 М, в ацетонитриле, $W_i = 1,1 \cdot 10^7$ М·С⁻¹, 323 К

Для данной схемы справедливо уравнение [34]:

$$W_o/W - W/W_o = k_4 \cdot [>NO^\bullet]_0 / (W_i \cdot 2k_3)^{0,5} \quad (\text{где } k_4 = (k_{4,1} [>NO^\bullet] + k_{4,2} [>NOH]) / 2 [>NO^\bullet]_0) \quad (1),$$

в координатах которого хорошо спрямляются

¹ Под кинетическим коэффициентом ингибирования понимается величина отношения реального периода индукции (τ) к теоретическому времени превращения ингибитора ($\tau_{инд}$), т.е. $f_{кин} = \tau/\tau_{инд}$, где $\tau_{инд} = f \cdot [>NO^\bullet] / W_i$ (f – стехиометрический коэффициент ингибирования) [1].

экспериментальные данные (типичные зависимости представлены на рис. 1, кривые 2). Уравнение (1) позволяет рассчитать величины $k_4 \cdot 2k_3^{-0.5}$. Поскольку в [33, 34] измерены значения $2k_3$ и показано, что для окисления $X_1CH=CHX_2$ и $X_1CH=CH-CH=CHX_2$ в среде различных растворителей $2k_3 = (1,0 \pm 0,2) \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{S}^{-1}$ при 323 К. Используя указанную величину $2k_3$, мы рассчитали значения k_4 , исходя из полученных параметров $k_4 \cdot 2k_3^{-0.5}$ (табл. 1).

Таблица 1. Значения $10^{-5} \cdot k_4 (\text{HO}_2^\bullet + >\text{NO}^\bullet)$, $\text{M}^{-1} \cdot \text{S}^{-1}$ в ЭК, $W_i = 1,1 \cdot 10^{-7} \text{ M} \cdot \text{S}^{-1}$, 323 К

$>\text{NO}^\bullet$	[5.8] М (100%) ε = 6.1 D	[2.9] М (50%) в диоксане ε = 4.2 D	[2.9] М (50%) в хлорбензоле ε = 5.6 D	[2.9] М (50%) в ацетонитриле ε = 21.8 D	[2.9] М (50%) в диметилсульфоксиде ε = 25.6 D
1a	1.9	2.1	2.4	24.9	40.5
1b	4.6	4.8	5.2	9.1	16.8
1c	4.4	4.5	5	16.2	27.4
1d	3.7	4	4.2	8.7	16.4
1e	4.9	5.1	5.5	11.5	24.7
1f	4.2	4.3	4.7	7	14.7
1g	5.1	5.3	5.6	9.8	20.2
1h	3.6	3.8	4	3.4	6.2
1k	2.5	2.7	3.1	10.6	23.4
1l	2.7	2.9	3	11.9	25.6
1m	4.8	5	5.3	8.1	17.1
1n	5.7	6.1	6.7	21.5	35

Прямой анализ полученных данных не позволяет сделать каких-либо серьезных заключений. Во-первых, разница в полученных величинах не велика (в пределах одного порядка). Это в принципе не удивительно, учитывая, что прочность связи в данном ряду нитроксильных радикалов, имея в виду процесс: $>\text{NOH} \rightarrow \text{NO}^\bullet + \text{H}$, невелика: от минимальной 267.44 ($>\text{NO}^\bullet$ **1a**) до максимальной 285.64 ($>\text{NO}^\bullet$ **1n**) кДж/моль (DFT B3LYP/6-31G*

[18]). Вместе с тем, если проанализировать корреляцию между значениями k_4 для сред с разной диэлектрической проницаемостью, то обнаруживается характерная закономерность. В табл.2 представлены значения коэффициентов парной корреляции, рассчитанные по выборке значений констант, представленных в табл.1, между столбцами, относящимися к разным средам.

Таблица 2. Коэффициенты парной корреляции между значениями k_4 в различных средах

Среды	Диоксан	Хлорбензол	Ацетонитрил	ДМСО
Мономер	0.998	0.994	-0.145	-0.181
Диоксан		0.996	-0.121	-0.160
Хлорбензол			-0.067	-0.108
Ацетонитрил				0.973

Из приведенных данных видно, что экспериментальные данные, относящиеся к разным средам, разбиваются на две группы: в первую входит мономер, диоксан и хлорбензол, а во вторую – ацетонитрил и ДМСО. Для экспериментальных данных, относящихся к одной группе сред имеется высокая корреляция, тогда как корреляция между данными, относящимися к разным группам отсутствует. Так коэффициенты корреляции в парах мономер/диоксан, мономер/хлорбензол, диоксан/хлорбензол и ацетонитрил/ДМСО близки к единице, тогда как значения коэффициентов корреляции в парах мономер/ацетонитрил, мономер/ДМСО, диоксан/ацетонитрил, диоксан/ДМСО, хлорбензол/ацетонитрил, хлорбензол/ДМСО близки к нулю. Характерным является то, что корреляция в экспериментальных данных имеется между средами, для которых значения диэлектрической постоянной близки. Для сред, у которых значения диэлектрической постоянной различаются существенно, корреляция в экспериментальных данных значений k_4 относящихся к разным нитроксильным радикалам, отсутствует. Ранее было отмечено [38], что

различие в диэлектрической проницаемости среды приводит к разнице в энергиях сольватации реакционного комплекса, образующегося при реакции гидропероксильного радикала с двойной связью, что хорошо коррелирует с константой скорости этой реакции. При этом было показано также, что растворители, способные образовывать водородные связи с $\text{HO}_2^\bullet$, к которым в данном случае относятся ацетонитрил и ДМСО, образуют характерную группу, для которой зависимости константы скорости присоединения $\text{HO}_2^\bullet$ к двойной связи от диэлектрической проницаемости растворителя имеют определенные отличия. Очевидно, данные особенности должны проявляться и в реакциях взаимодействия $\text{HO}_2^\bullet$ с нитроксильными радикалами, рассматриваемых в настоящей работе. Для их анализа были выполнены квантово-химические расчеты термодинамики реакций (4.1), (4.2) и энергий сольватации нитроксильных радикалов в рассматриваемых средах.

Квантово-химический анализ.

В табл.3,4 приведены вычисленные значения изменения энергии при реакциях (4.1) и (4.2) соответственно. Как видно, абсолютные величины изменения энергии при реакции (4.2) существенно выше, что согласуется с тем фактом, что константа скорости этой реакции существенно выше константы скорости реакции (4.1).

Таблица 3. Изменение энергии реакции (4.1), кДж/моль

>NO	Среда				
	Мономер	Диоксан	Хлорбензол	Ацетонитрил	ДМСО
1a	-27.12	-30.24	-27.73	-22.05	-21.74
1b	-39.70	-41.79	-40.11	-36.46	-36.26
1c	-39.04	-41.10	-39.44	-35.84	-35.64
1d	-34.36	-37.09	-34.90	-29.97	-29.70
1e	-41.25	-44.17	-41.82	-36.52	-36.23
1f	-38.12	-40.49	-38.58	-34.39	-34.16
1g	-42.56	-45.08	-43.05	-38.56	-38.31
1h	-34.18	-35.70	-34.06	-28.43	-28.16
1k	-29.47	-32.52	-30.07	-24.48	-24.18

1l	-30.30	-33.20	-30.79	-27.48	-29.54
1m	-41.15	-43.17	-41.54	-38.12	-37.94
1n	-44.99	-46.88	-45.93	-41.22	-41.01

Таблица 4. Изменение энергии реакции (4.2), кДж/моль

	Среда				
	Мономер	Диоксан	Хлорбензол	Ацетонитрил	ДМСО
1a	-104.84	-103.45	-104.53	-107.63	-107.79
1b	-92.25	-91.90	-92.15	-93.22	-93.27
1c	-92.91	-92.58	-92.82	-93.84	-93.89
1d	-97.59	-96.60	-97.37	-99.70	-99.82
1e	-90.70	-89.52	-90.44	-93.16	-93.30
1f	-93.83	-93.20	-93.68	-95.29	-95.36
1g	-89.39	-88.61	-89.21	-91.12	-91.21
1h	-97.78	-97.99	-98.20	-101.24	-101.37
1k	-102.49	-101.17	-102.19	-105.19	-105.35
1l	-101.65	-100.49	-101.47	-102.20	-99.99
1m	-90.80	-90.52	-90.72	-91.56	-91.59
1n	-86.96	-86.81	-86.33	-88.46	-88.52

Для того, чтобы оценить связь изменений энергии реакций (4.1) и (4.2), приведенных в табл. 3, 4 с величинами констант скоростей k_4 в разных средах в табл.5 приведены коэффициенты парной корреляции между данными в столбцах табл. 1 и соответствующими им данными в табл. 3, 4.

Таблица 5. Коэффициенты корреляции между k_4 и изменениями энергии в реакциях (4.1) и (4.2)

Реакция	Среда				
	Мономер	Диоксан	Хлорбензол	Ацетонитрил	ДМСО
(4.1)	-0.997	-0.987	-0.993	0.099	0.113
(4.2)	0.997	0.987	0.993	-0.099	-0.113

Как видно из приведенных данных, для реакции в мономере, диоксане и хлорбензоле наблюдается высокая корреляция между значениями константы скорости и изменением энергии при реакциях (4.1) и (4.2). Для

иллюстрации в качестве примера на рис.4 приведены зависимости k_4 от изменения энергии при реакции (4.1) для этих сред.

$$10^{-5} \cdot k_4 (\text{HO}_2^\bullet + >\text{NO}^\bullet), \text{M}^{-1} \cdot \text{S}^{-1}$$

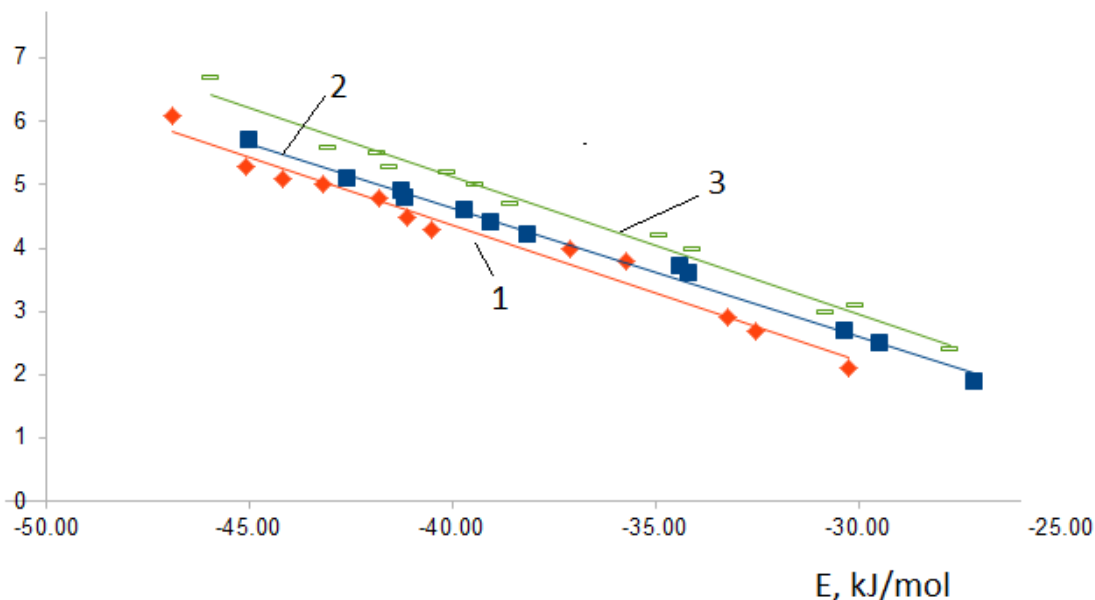


Рисунок 4. Зависимость k_4 и изменениями энергии при реакции (4.1): 1 – мономер, 2 – диоксан, 3 – хлорбензол

В то же время для реакций в среде растворителей ацетонитрил и ДМСО такая корреляция полностью отсутствует. Заметим, что коэффициенты корреляции для реакции (4.1) и реакции (4.2) для каждой среды равны по величине и противоположны по знаку. Это объясняется тем, что изменения энергии в данных реакциях определяются фактически изменением энергии реакции $>\text{NOH} \rightarrow >\text{NO}^\bullet + \text{H}$, а разность знаков коэффициента корреляции объясняется тем, что в одном случае $>\text{NOH}$ является продуктом реакции, а в другом – реагентом.

Итак, можно сделать вывод, что термодинамический контроль реакций (4.1) и (4.2) в существенной степени зависит от характера среды, в которой протекает реакция. В средах с низкой диэлектрической проницаемостью скорость реакции фактически определяется энергией связи $>\text{NO} \cdots \text{H}$, тогда как в растворителях с высокой диэлектрической проницаемостью, способных к

формированию водородных связей с гидропероксильным радикалом, эта зависимость исчезает. Для того чтобы оценить, какие факторы оказывают более существенное влияние на скорость реакции для данного типа растворителей были вычислены энергии сольватации нитроксильных радикалов, исследованных в работе, и коэффициенты корреляции между ними и константой скорости для всех видов сред. Их значения приведены в табл. 6. Как видно, для сред с низкой диэлектрической проницаемостью (мономер, диоксан, хлорбензол) корреляция между значениями k_4 и энергией сольватации нитроксильных радикалов почти отсутствует, тогда как для таких растворителей как ацетонитрил и ДМСО такая корреляция становится уже вполне заметной.

Таблица 6. Коэффициенты парной корреляции между энергией сольватации радикала $>\text{NO}^\bullet$ и константой скорости k_4

Среда				
Мономер	Диоксан	Хлорбензол	Ацетонитрил	ДМСО
0.24	0.21	0.18	-0.43	-0.91

Роль сольватационных эффектов в данной реакции можно продемонстрировать также путем сравнения энергий сольватации реакционных комплексов $>\text{NO}^\bullet + \text{HO}_2^\bullet + \text{растворитель}$. С этой целью были рассчитаны энергии сольватации таких комплексов трех исследованных растворителей с $\text{HO}_2^\bullet$ и нитроксильными радикалами, для диоксана - 1n, а для ацетонитрила и ДМСО – 1h. В результате вычислено, что энергия сольватации реакционного комплекса нитроксильного радикала 1n с $\text{HO}_2^\bullet$ и молекулой диоксана составила 64 кДж/моль, тогда как энергии сольватации радикала 1h с $\text{HO}_2^\bullet$ и молекулой растворителя для ацетонитрила и ДМСО составили, соответственно 113 кДж/моль и 126 кДж/моль, что приблизительно в два раза выше. То есть в реакциях с нитроксильными радикалами взаимодействие их с $\text{HO}_2^\bullet$ растет с увеличением энергии сольватации реакционного комплекса аналогично тому, как это наблюдается

в случае реакции $\text{HO}_2^\bullet$ с 1,2-замещенными олефинами [38].

Таким образом, в настоящей работе показано, что скорость реакций взаимодействия $\text{HO}_2^\bullet$ с нитроксильными радикалами и соответствующими им гидроксиламинами в зависимости от полярности среды контролируется разными факторами. Для слабополярных растворителей скорости данных реакций практически полностью определяются энергией связи $>\text{NO}\cdots\text{N}$ гидроксиламина. Для растворителей с высокой полярностью, способных к комплексообразованию с радикалом и гидроксиламином скорость данных реакций контролируется главным образом сольватационными эффектами, в частности, энергией сольватации реакционного комплекса.

Литература

1. Denisov E., Afanas'ev I. Oxidation and Antioxidants in Organic Chemistry and Biology. Boca Raton (FL): CRC Press; 2005.
2. Yin H, Xu H, Porter N. Free Radical Lipid Peroxidation: Mechanisms and Analysis. Chem Rev. 2011. V.111. P. 5944-5972.
3. Pratt D, Tallman K, Porter N. Free Radical Oxidation of Polyunsaturated Lipids: New Mechanistic Insights and the Development of Peroxyl Radical Clocks. Acc Chem Res. 2011. V.44 P. 458-467.
4. Porter N. A Perspective on Free Radical Autoxidation: The Physical Organic Chemistry of Polyunsaturated Fatty Acid and Sterol Peroxidation. J Org Chem. 2013. V. 78. P. 3511-3524.
5. Liu W, Porter N, Schneider C, Brash A, Yin H. Formation of 4-hydroxynonenal from cardiolipin oxidation: Intramolecular peroxyl radical addition and decomposition. Free Rad Biol Med. 2011 V. 50. P.166-178.
6. Плисс Е.М., Лошадкин Д.В., Гробов А.М., Кузнецова Т.С., Русаков А.И. Кинетическое исследование и моделирование окисления метиллинолеата в мицеллах. Химическая физика. 2015. Т. 34. № 1. С. 68-72.
7. Niki E. Lipid Peroxidation. In: Encyclopedia of Radicals in Chemistry, Biology and Materials. New York (NY): John-Wiley & Sons; 2012.
8. Могилевич М., Плисс Е. Окисление и окислительная полимеризация непредельных соединений. М.: Химия. 1990.
9. Плисс Е., Русаков А., Мендкович А., Сирик А. Эффекты сольватации в жидкофазных реакциях нейтральных и отрицательно заряженных парамагнитных частиц. - М.: Изд-во «Мир». 2012.
10. Howard J, Ingold K. Absolute rate constants for hydrocarbon autoxidation. V. The hydroperoxy radical in chain propagation and termination. Canad J Chem. 1967. V.45. P.785-792.

11. Howard J. Absolute rate constants for reactions of oxyl radicals. In: *Advances in Free Radical Chemistry*; Williams GH, editor. Logos Press: London; 1972. Chapter IV, P. 49.
12. Эмануэль Н., Заиков Г., Майзус З. Роль среды в радикально-цепных реакциях окисления органических соединений. М.: Наука, 1973.
13. Darren W., Janusz L., Banks J., Mulder P., Ingold K. Kinetic Solvent Effects on Hydrogen-Atom Abstractions: Reliable, Quantitative Predictions via a Single Empirical Equation *J. Am. Chem. Soc.* 2011. V. 123. P 469 – 477.
14. Foti M., Sortino S., Ingold K. New Insight into Solvent Effects on the *Formal* HOO· + HOO· Reaction. *Chem. Eur. J.* 2005. V. 11. P. 1942 – 1948.
15. Litwinienko G, Ingold K. Solvent Effects on the Rates and Mechanisms of Reaction of Phenols with Free Radicals. *Acc Chem Res.* 2007. V. 40. P. 222-230.
16. Poon J.-F., Pratt D. Recent Insights on Hydrogen Atom Transfer in the Inhibition of Hydrocarbon Autoxidation *Acc. Chem. Res.* 2018. V. 9. P. 6068 – 6079.
17. A.Baschieri, L.Valgimigli, S.Gabbanini, G.A. DiLabio, E.Romero-Montalvo, R.Amorati. Extremely Fast Hydrogen Atom Transfer between Nitroxides and HOO· Radicals and Implication for Catalytic Coantioxidant Systems. *J. Am. Chem. Soc.* 2018. V. 140. P.10354–10362.
18. Navarrete M, Cipriano Rangel C, Espinosa-García J, Corchado J. Theoretical Study of the Antioxidant Activity of Vitamin E: Reactions of α -Tocopherol with the Hydroperoxy Radical. *Chem Theor Comput.* 2005. V.1. P. 337-344.
19. Tishchenko O., Truhlar D. Benchmark Ab Initio Calculations of the Barrier Height and Transition-State Geometry for Hydrogen Abstraction from a Phenolic Antioxidant by a Peroxy Radical and Its Use to Assess the Performance of Density Functionals. *J Phys Chem Lett.* 2012 V. 3. P. 2834-2839.
20. Galano A, Munoz-Rugeles L, Alvarez-Idaboy J, Bao J., Truhlar D. Hydrogen Abstraction Reactions from Phenolic Compounds by Peroxyl Radicals: Multireference Character and Density Functional Theory Rate Constants. *J Phys Chem A.* 2016. V. 120. P. 4634-4642.
21. Cedrowski J, Litwinienko G, Baschieri A, Amorati R. Hydroperoxyl Radicals (HOO·): Vitamin E Regeneration and H-Bond Effects on the Hydrogen Atom Transfer. *Chemistry - A European Journal.* 2016. V. 22. P. 16441 - 16445.
22. Amorati R., Valgimigi L. Advantages and limitations of common testing methods for antioxidants *Free Radical Research.* 2015. V. 49. P. 633–649
23. Beavers W, Serwa R, Shimozu Y, Talman K, Vaught M, Dalvie E, Marnett L, Porter N. ω -Alkynyl Lipid Surrogates for Polyunsaturated Fatty Acids: Free Radical and Enzymatic Oxidations. *J Am Chem Soc.* 2014. V. 136. P. 11529-11539.
24. Roginsky V, Barsukova T. Superoxide dismutase inhibits lipid peroxidation in micelles. *Chem Phys Lipids.* 2001. V. 111. P. 87-91.
25. Тихонов И.В., Плисс Е.М., Бородин Л.И., Сень В.Д., Кузнецова Т.С. Стабильные нитроксильные радикалы и гидроксиламины как ингибиторы окисления метиллинолеата в мицеллах. *Известия Академии наук. Серия химическая.* 2015. № 10. С. 2438-2443.

26. Тихонов И.В., Плисс Е.М., Бородин Л.И., Сень В.Д. Пятичленные циклические нитроксильные радикалы как ингибиторы окисления метиллинолеата в мицеллах. Известия Академии наук. Серия химическая. 2015. № 12. С. 2869-2871.
27. Москаленко И. В., Петрова С. Ю., Плисс Е.М., Русаков А. И., Бучаченко А. Л. Влияние микрогетерогенности на кинетические Закономерности окисления метиллинолеата в мицеллах.//Химическая физика. 2016. Т. 35. С. 36 – 39.
28. M. Griesser, R. Shah, A. T. Van Kessel, O.Zilka, E. A. Haidasz, D.A. Pratt. The Catalytic Reaction of Nitroxides with Peroxyl Radicals and Its Relevance to Their Cytoprotective Properties. J. Am. Chem. Soc. 2018. V. 140. P. 3798–3808.
29. Schaichi KM. Lipid oxidation: theoretical aspects. 6th ed. New York (NY): John-Wiley & Sons; 2005.
30. Luo Yu-Ran. In: Handbook of bond dissociation energies in organic compounds. Boca Raton (FL): CRC Press; 2003.
31. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Крутовых Н.Ф., Труфакин В.А.Окислительный стресс. Проксидантыиантиоксиданты. М.: Слово, 2006.
32. Stable Radicals: Fundamentals and Applied Aspects of Odd-Electron Compounds Ed. Hicks R.G. Wiley 2010.
33. Nitroxides – Theory, Experiment and Applications. Edited by Alexander I. Kokorin. Croatia. InTech - Open Access Publisher. Rijeka. 2012.
34. Pliss E.M., Tikhonov I.V., Rusakov A.I. Kinetics and Mechanism of Reactions of Aliphatic Stable Nitroxides in Chemical and Biological Chain Processes. In book «Nitroxides - Theory, Experiment and Applications». Croatia. InTech. 2012. P. 263-284.
35. Плисс Е.М., Сень В.Д., Тихонов И.В. Нитроксильные радикалы в химических и биохимических процессах. - LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co. KG, Saarbruchen, Germany. 2013.
36. Pliss E.M., Machtin V.A., Grobov A.M., Pliss R.E., Sirik A.B. Kinetics and mechanism of radical-chain oxidation of 1,2-substituted ethylene and 1,4-substituted butadiene-1,3. Int. J. Chem. Kinet. 2017. V. 49. P. 173–181,
37. Pliss E.M., Machtin V.A., Pliss R.E., Sirick A.V., Loshadkin D.V., Rusakov A.I. The effect of solvation on the reactivity of 1,1-substituted ethylenes in hydroperoxyl radical addition. Reac Kinet Mech Cat. 2018. V. 123. P. 559–571.
38. Pliss E.M., Machtin V.A., M. Soloviev, Grobov A.M., Pliss R.E., Sirik A.B., Rusakov A. I. The Role of Solvation in the Kinetics and the Mechanism of Hydroperoxide Radicals Addition to π -Bonds of 1,2-Diphenylethylene and 1,4-Diphenylbutadiene-1,3. Int J Chem Kinet. 2018. V. 50. P. 397-409.
39. Goldstein S., Samuni A. Biologically Relevant Chemistry of Nitroxides. In: Stable radicals. Fundamentals and Applied Aspects of Odd-Electron Compounds ed. Hicks R.G. Wiley. 2010. P. 567 – 578.

40. Tikhonov I., Pliss M., Borodin L., Sen'V., Kuznetsova T. Stable nitroxyl radicals and hydroxylamines as inhibitors of methyl linoleate oxidation in micelles. *Rus Chem Bul.* 2015. V. 64. P. 2438—2443.
41. Tikhonov, I., Pliss, E., Borodin, L. Sen'V. Effect of superoxide dismutase on the oxidation of methyl linoleate in micelles inhibited by nitroxyl radicals. *Rus Chem Bul.* 2016. V. 65. P. 2985-2987.
42. Tikhonov I.V., Sen' V.D., Borodin L.I., Pliss E.M., Golubev V.A., Rusakov A.I. Effect of the Structure of Nitroxyl Radicals on the Kinetics of their Acid-Catalyzed Disproportionation. *Journal of Physical Organic Chemistry.* 2014. V. 27. I. 2. P. 114-120.
43. Sen' V., Tikhonov I., Borodin L., Pliss E., Golubev V., Syroeshkin M., Rusakov A. Kinetics and Thermodynamics of Reversible Disproportionation–Comproportionation in Redox Triad Oxoammonium Cations – Nitroxyl Radicals – Hydroxylamines // *Journal of Physical Organic Chemistry.* 2015. V. 28. I. 1. P. 17-24.
44. Loshadkin D., Roginsky V., Pliss E. Substituted P-Hydroquinones as a Chain-Breaking Antioxidant during the Oxidation of Styrene. *Int. J. Chem. Kinet.* 2002. V. 34. P. 162 - 171.
45. Hohenberg P, Kohn W. Inhomogeneous Electron Gas. *Phys Rev.* 1964. V.136. P. 864 - 871.
46. Kohn W, Sham L. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Phys Rev.* 1965.V. 140. P.1133 - 1138.
47. Becke A. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J Chem Phys.* 1993. V. 98 P. 5648 - 5652.
48. Miehlich B, Savin H, Preuss H. Results obtained with the correlation energy density functionals of becke and Lee, Yang and Parr. *Chem Phys Lett.* 1989. V. P. 157. P, 200-206.
49. Mueller M. *Fundamentals of Quantum Chemistry. Molecular Spectroscopy and Modern Electronic Structure Computation.* New York (NY): Kluwer Academic; 2002.
50. Valiev M, Bylaska E, Govind N, et al. NWChem: A comprehensive and scalable open-source solution for large scale molecular simulations. *Comput Phys Commun.* 2010. V. 181. P. 1477-1489.
51. York D, Karplus M. A Smooth Solvation Potential Based on the Conductor-Like Screening Model. *J Phys Chem A.* 1999. V.103. P. 11060-11079.
52. Klamt A, Moya C, Palomar J. A Comprehensive Comparison of the IEFPCM and SS(V)PE Continuum Solvation Methods with the COSMO Approach. *J Chem Theory Comput.* 2015. V. 11. P. 4220-4225.
53. Marenich A, Cramer C, Truhlar D. Universal Solvation Model Based on Solute Electron Density and on a Continuum Model of the Solvent Defined by the Bulk Dielectric Constant and Atomic Surface Tensions. *J Phys Chem B.* 2009.V.113. P. 6378–6396.

АНТИОКСИДАНТЫ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ: СОДЕРЖАНИЕ, СТРУКТУРА, АКТИВНОСТЬ

В. А. Волков

*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва,
Россия*

E-mail: vl.volkov@mail.ru

Введение

В текущую геологическую эпоху все живые организмы на Земле, за исключением анаэробных бактерий, существуют в среде окислительной атмосферы. Ключевые процессы биоэнергетики, определяющей общую направленность биохимических процессов в клетках, такие, как аккумуляция энергии света растениями, синтез макроэргических соединений, происходят с участием электронтранспортных цепей, в которых в качестве побочных продуктов образуются активные формы кислорода (АФК). Ряд других реакций, катализируемых такими ферментами, как ксантиноксидаза, НАДФ-оксидаза, NO-синтаза, ферменты митохондриального окисления и др., также сопровождается образованием свободных радикалов. Высокомолекулярные разрушители АФК (каталаза, пероксидаза, супероксиддисмутаза) синтезируются клетками всех живых организмов. Однако, поскольку первичный синтез органического вещества из неорганического в природе осуществляется только растениями, важнейшие группы антирадикальных ингибиторов, таких, как фенольные соединения и каротиноиды, поступают в организм животных вместе с растительной пищей, и у животных не было необходимости создавать сложный аппарат биосинтеза этих соединений. Фенольные соединения по своему вкладу в биомассу растительных организмов стоят на втором месте после углеводов: около 20% ассимилируемого углерода растения тратят на биосинтез фенолов.

Следует отметить, что к настоящему моменту только 10 – 15% флоры Земли исследовано на предмет присутствия вторичных растительных метаболитов (в эту группу входят фенольные соединения, терпеноиды, в частности, каротиноиды, и алкалоиды), то есть качественный и количественный состав антиоксидантов, антиоксидантная активность экстрактов и связанные, в том числе, с регуляцией окислительного метаболизма полезные свойства подавляющей части растений остаются неизученными [1]. Вторичный метаболизм растений исключительно разнообразен: только фенольных соединений открыто к настоящему моменту свыше 10 тысяч, и список их структур постоянно пополняется; физико-химические и фармакологические свойства большинства из них малоизучены. При этом, наличие биологической активности и индивидуальность состава для каждого вида растений является ключевым

характеристическим признаком веществ вторичного метаболизма, поскольку именно в наличии биологической активности заключается смысл синтеза этих соединений растениями. В отличие от животных, для растений, лишенных возможности активного передвижения, химическая адаптация путем синтеза биологически активных соединений является основным способом приспособления к условиям окружающей среды.

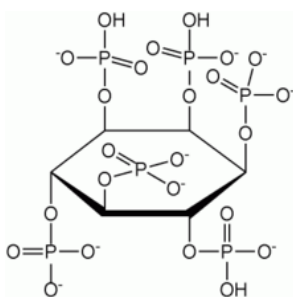
Растительные АО являются основными действующими веществами многих эффективных лекарственных средств и фармацевтических субстанций, внесенных в государственный регистр: капилляроукрепляющих и ангиопротекторных (аскорутин, эскузан, диквертин); улучшающих микроциркуляцию, препятствующие развитию нейродегенеративных процессов и макулодистрофии (танакан, мемоплант, миртилене); противоязвенных (ликвиритон); желчегонных (фламин); гепатопротекторных (карсил); венотонических (троксевазин, анавенол, венорутон, эскузан), противовоспалительных (калефлон; аспирин – ацетильное производное растительной фенолокислоты) и других. Эффективность многих из них не уступает или превосходит таковую синтетических лекарственных средств в соответствующих фармакотерапевтических группах, однако, в отличие от вновь синтезированных веществ, соединения растительного происхождения – это вещества, в контакте с которыми человек и животные существовали и развивались в течение всей истории земной биосферы, поэтому эти вещества обладают низкой токсичностью как при остром, так и при хроническом воздействии [2], меньшим количеством других нежелательных эффектов, в том числе в плане нагрузки на иммунную систему. Среди большого числа токсикологических исследований флавоноидов, лишь в некоторых было показано наличие токсических эффектов при тестировании высоких концентраций испытуемых веществ. Стандартизация примерно 70% видов лекарственного растительного сырья по содержанию действующих веществ, согласно Государственной фармакопее Российской Федерации [3], основана на анализе флавоноидов. Таким образом, растительные АО, прежде всего, фенольные соединения, обладают разнообразным спектром видов биологической активности и фармакологического действия, как связанных прямо или косвенно с регуляцией окислительного метаболизма, так и иных. Вместе с тем, для большинства видов фармакологической активности растительных фенолов теории, позволяющих прогнозировать активность на основании химической структуры, еще не созданы, а выявление новых эффективных лекарственных субстанций носит эмпирический характер. Создание этих теорий позволит выйти на качественно новый уровень в создании новых эффективных лекарственных средств и подборе наиболее перспективных химических структур, как существующих в природе, так и подвергнутых направленной модификации. Поэтому исследования взаимосвязи химического строения, антиоксидантной активности и биологических свойств АО растительного происхождения, их

распространения в растительном мире, выявление новых перспективных источников биологически активных соединений этих групп бурно развиваются во всем мире, не уступая по числу публикаций таким популярным направлениям, как направленная доставка лекарственных веществ и генная терапия.

АО растительного происхождения имеют широкие перспективы применения в пищевой промышленности (предотвращение образования токсичных продуктов окисления жиров, натуральные красители, компоненты функционального питания) [4].

1. Классификация антирадикальных антиоксидантов растительного происхождения.

Как было отмечено выше, способностью синтезировать фенольные АО и каротиноиды обладают исключительно растения и микроорганизмы. Во всех растениях содержатся также серосодержащие АО, прежде всего, глутатион, а также аскорбиновая кислота, однако, их синтезировать способны и животные. В организме человека и приматов аскорбиновая кислота не синтезируется вследствие того, что ген, кодирующий один из ключевых ферментов ее биосинтеза, не экспрессируется вследствие накопленных мутаций. Фосфорсодержащие соединения, такие, как фитиновая кислота (ее содержится много, например, в семенах злаков и бобовых), фосфолипиды, обладают способностью связывать в комплексы ионы металлов переменной валентности, снижая их способность катализировать распад перекисей с образованием свободных радикалов. Таким же механизмом действия, наряду с антирадикальным, обладают и многие флавоноиды.



фитиновая кислота

Установлена способность фосфолипидов в гомогенных органических средах связывать ОН-группы фенольных АО, снижая их антиоксидантную активность [5]. Вследствие способности полярных частей молекул фосфолипидов образовывать водородные связи, агликоны флавоноидов концентрируются в поверхностном слое мембран, граничащем с водной фазой. Поскольку молекулы воды обладают более выраженными донорно-акцепторными свойствами, чем органические молекулы, и присутствуют в большем количестве, в последнем случае вопрос об устойчивости

комплексов флавоноидов с фосфолипидами нуждается в дополнительном исследовании.

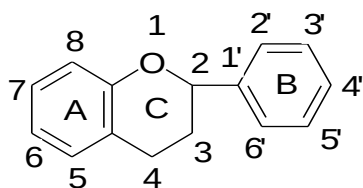
Отдельно необходимо остановиться на классификации растительных фенольных соединений, поскольку разнообразие их структур исключительно велико. Химическая классификация растительных фенольных соединений базируется на различиях в строении углеродного скелета, которые отражают основные пути их биосинтеза. Выделяют группу веществ с одним бензольным кольцом структуры $C_6 - C_n$, где n – число атомов углерода боковой цепочки (от 0 до 4), и группу соединений с двумя бензольными кольцами структуры $C_6 - C_m - C_6$, где m – число углеродных атомов, связывающих бензольные кольца (от 1 до 4). Вышеперечисленные базовые структуры могут подвергаться *in vivo* различным типам модификации: О- и С-гликозилированию, метилированию, ацилированию, сульфированию, пренилированию, олигомеризации. В лишайниках, грибах и микроорганизмах обнаружены галогенированные флавоноиды. Встречаются конъюгаты фенольных соединений с алкалоидами.

Преимущественные пути биосинтеза фенольных соединений у низших и высших растений различаются: у низших ароматические ядра синтезируются по ацетатно-малонатному пути (конденсация 3 молекул малонил-КоА или 4 молекул ацетил-КоА), тогда как у высших первое ароматическое ядро синтезируется по шикиматному пути из шестиатомных циклических промежуточных продуктов углеводного обмена, а второе ароматическое кольцо образуется на основе соединений $C_3 - C_6$ по ацетатно-малонатному пути. При этом, фермент халконсинтаза формирует второе ароматическое кольцо присоединением по терминальному атому углерода C_9 боковой цепочки с образованием соединения группы халконов и, далее, остальных соединений группы $C_6 - C_3 - C_6$. Стильбенсинтаза формирует второе ароматическое кольцо присоединением к атому C_8 боковой цепочки одной из оксикоричных кислот, в результате образуются вещества группы стильбенов.

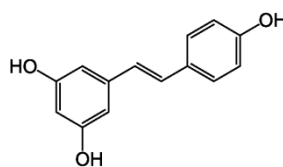
Из-за вышеописанных особенностей путей биосинтеза фенольные соединения низших растений (водоросли, лишайники) представлены, в основном, структурами с флороглюциновым (1,3,5) типом замещения. Их олигомерные формы, получившие название флоротаннинов, являются в настоящее время объектами повышенного внимания как перспективные биологически активные соединения.

У высших растений среди фенольных соединений с одним бензольным кольцом, в основном, синтезируются структуры $C_1 - C_6$ и $C_3 - C_6$ с *пара*-(1,4), гваяцильным (1,3,4) и сирингильным (1,3,4,5) типами замещения, тогда как у соединений с двумя бензольными кольцами чаще всего по вышеописанным типам замещено кольцо В, а кольцо А – по флороглюциновому, хотя имеется довольно много структур флавоноидов, не

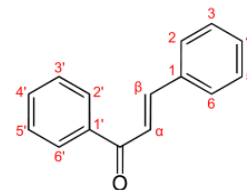
вписывающихся в эту тенденцию. Вследствие различий в типах замещения, электронная плотность на ОН-группах в кольце В, как правило, выше, чем в кольце А, что определяет преимущественную роль кольца В в проявлении антиоксидантных свойств флавоноидов, стильбенов, халконов и ауранов. Теоретические расчеты [6] на примере взаимодействия катехина и пероксирадикала показали, что наиболее вероятным механизмом является образование реакционного комплекса посредством водородных связей между гидроксилами кольца В и двумя атомами кислорода пероксильной группировки.



структура углеродного скелета флавоноидов



резвератрол (стильбен)



структура углеродного скелета халконов

К группе $C_1 - C_6$ относятся оксипроизводные бензилового спирта, бензальдегида и бензойной кислоты, а также их простые и сложные эфиры. Способность соединений с большим числом ОН-групп осаждать белки, образовывать прочные комплексы с тяжелыми металлами используется растениями, синтезирующими гидролизуемые танины (дубильные вещества), представляющие собой сложные эфиры нескольких молекул галловой кислоты либо ее ди-, тримеров, и сахара (чаще всего глюкозы). В медицине они нашли применение как вяжущие, противодиарейные, противогеморроидальные, кровоостанавливающие средства, противоядия при отравлении тяжелыми металлами.

Соединения $C_3 - C_6$ отличаются от предыдущей группы наличием трехатомной боковой цепочки, чаще с двойной связью, наличие которой, по-видимому, существенно для процесса радикальной полимеризации оксикоричных спиртов, в результате чего образуется лигнин – полимер с нерегулярной разветвленной трехмерной конфигурацией, отложение которого в клеточную стенку приводит к одревеснению тканей растения, сопровождающегося резким усилением механических свойств и повышению устойчивости к действию экзоферментов ксилотрофных грибов. В сухой древесине лигнин составляет около трети ее массы. Оксикоричные спирты участвуют в образовании и других полимеров, выполняющих защитные функции – суберина, определяющего свойства пробковой ткани, и кутина, являющегося основным веществом кутикулы, покрывающей эпидермальный слой клеток растений. Димеризация $C_3 - C_6$ – соединений приводит к образованию лигнанов, ряд этих соединений имеют выраженную

противоопухолевую активность и рассматриваются как перспективные фармацевтические субстанции.

Продуктами циклизации боковой цепочки $C_3 - C_6$ –соединений являются кумарины [7]. Фуранокумарины, имеющие дополнительный пятичленный кислородсодержащий гетероцикл, содержащиеся в некоторых растениях семейства Зонтичные, являются эффективными фотосенсибилизаторами, вследствие чего их прооксидантные свойства выражено преобладают над антиоксидантными.

Флавоноиды, в зависимости от наличия или отсутствия двойной связи между атомами углерода C_2 и C_3 , а также природы заместителей при C_3 и C_4 кольца С подразделяются на флаванолы (катехины, лейкоантоцианидины), флаваноны, флаванолы, флавоны, флавонолы, антоцианидины. Флаванолы и их эфиры с галловой кислотой в результате окислительной ди- и олигомеризации образуют конденсированные дубильные вещества (бисфлаванолы, теафлавины, теарубигины, проантоцианидины), что имеет место, в частности, при ферментации чайного листа. Некоторые флавоноиды содержат присоединенные к базовой структуре изопреноидные, алициклические или ароматические заместители, пяти- или шестичленные кольца с гетероатомом кислорода, конденсированные с кольцом А или В. Таковы, например, артраксин, силибинин, силихристин, механизм гепатопротекторной активности которых напрямую ассоциируется с антиоксидантными свойствами [8].

Для многих катехинов, флавонов, флаванолов, антоцианидинов установлена антибактериальная активность [9]. Имеются данные о противогрибковой активности, в частности, флавонов эстрагона. Многие флавоноиды обладают противовирусной активностью. Выявлены корреляции структуры и активности флавоноидов в отношении вируса герпеса: наличие ОН-группы в положении 7 и двойной связи в кольце С повышает активность, при этом появление ОН-группы в положении 3 приводит к ее потере [10].

Важным с точки зрения сохранения здоровья человека является анаболическое и антикатаболическое влияние ряда флавоноидов (кемпферол, кверцетин, изорамнетин) на белковый обмен [8].

Флавоноиды способны достаточно эффективно тормозить рост многих видов опухолей [11]. Противоопухолевая активность может быть связана с антипролиферативными свойствами и способностью индуцировать апоптоз [12] по различным, не до конца изученным механизмам: связывание с молекулами тубулина, ингибирование трансмембранного переноса глюкозы, снижение трансмембранного потенциала в митохондриях, регуляция экспрессии генов, продуцирование свободных радикалов. При этом,

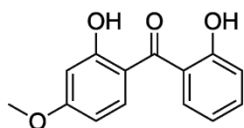
корреляции строения и противоопухолевой активности различны для разных видов опухолей.

3-метоксилирование флавоноидов сопряжено со способностью снижать агрегацию форменных элементов крови [8]. Для ряда флавоноидов (без установления корреляций с химическим строением) показана способность регулировать агрегацию тромбоцитов [8]. Многие флавоноиды из групп халконов, флаванонов, флавонов, изофлавонов, флавонолов обладают выраженным гиполипидемическим и антиатероматозным действием. В одном из исследований был установлен следующий ряд уменьшения этих свойств: генистеин > кверцетин > лютеолин > кемпферол [8]. В совокупности со способностью ингибировать процессы перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков, а также характерным для многих флавоноидов капилляроукрепляющим эффектом, вышеперечисленные свойства делают эту группу АО весьма привлекательной для разработки новых средств профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

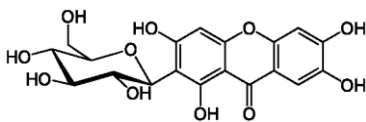
Соединения, у которых кольцо В присоединено к кольцу С в положении С₃, образуют группу **изофлавоноидов**, которых насчитывается около 600, а в положении С₄ – группу **неофлавоноидов**. Геометрия молекул изофлавоноидов имеет сходство с эстрогенами, в связи с чем многие изофлавоноиды и содержащие их продукты обладают эстрогенной активностью, что необходимо учитывать при формировании пищевого рациона.

Ауруны отличаются от флавоноидов тем, что имеют пятичленный цикл С, в котором гетероатом кислорода образует связь с атомом углерода С₃.

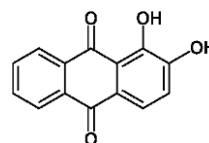
Менее распространенными базовыми структурами растительных фенолов с двумя бензольными кольцами являются производные бензофенона, ксантона, антрахинона:



диоксибензон
(бензофенон)

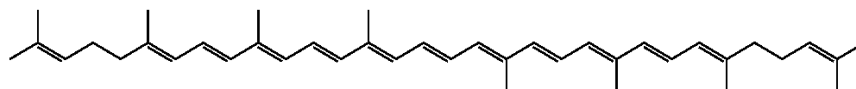


магниферин
(ксантон; гликозилированная форма)

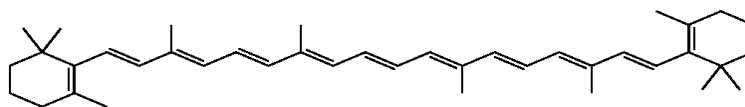
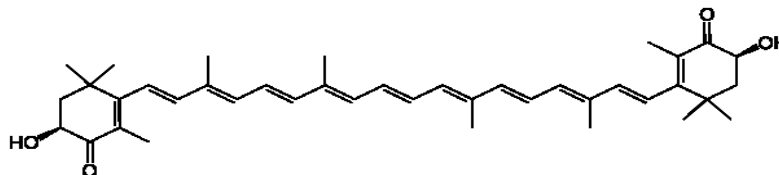


ализарин
(антрахинон)

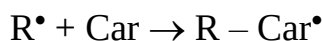
Среди каротиноидов выделяют каротины [13] и их окси(эпокси)-производные – ксантофиллы:



Ликопин

 β -каротин β -криптоксантин

Каротиноиды ингибируют реакции цепного свободнорадикального окисления, присоединяя радикалы по двойным связям [14]:



Кроме того, каротиноиды являются тушителями электронных возбужденных состояний благодаря способности быть акцепторами энергии возбуждения при столкновении с возбужденными молекулами, что предотвращает инициирование свободнорадикальных процессов. Наконец, молекулы каротиноидов могут присоединять кислород по двойным связям, снижая его концентрацию в реакционной среде.

3. Взаимосвязь строения и ингибирующей эффективности АО растительного происхождения.

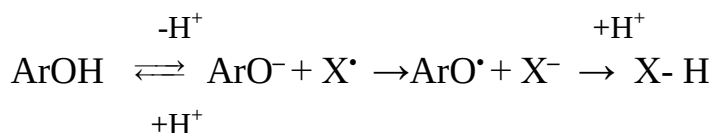
Эффективность АО и ее взаимосвязь с химическим строением зависит от многих факторов, определяемых как свойствами самого АО, так и используемой модельной химической или биологической системы.

Начнем с наиболее простого случая – химической гомогенной системы. При рассмотрении влияния заместителей в ароматическом кольце на реакционную способность фенольных АО в отношении алкилпероксидных радикалов [15;16] общее правило состоит в том, что увеличение электронной плотности в положении ОН-группы приводит к возрастанию активности АО и уменьшению активности радикалов, образующихся из АО в процессе его расходования. Наиболее сильное влияние на величину k_7 оказывают заместители, расположенные в *орто*- и *пара*-положении по отношению к фенольной ОН-группе. Соотношение индуктивных эффектов заместителей различного строения соответствует эмпирическим рядам электрофильных и нуклеофильных свойств, известным из курса органической химии. Индуктивные эффекты заместителей в ароматическом кольце суммируются [17]. Методами квантовой химии

выведены инкременты для аддитивных расчетов энтальпии диссоциации, исходя из природы и положения заместителей.

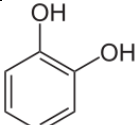
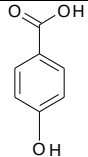
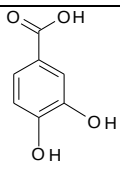
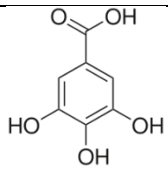
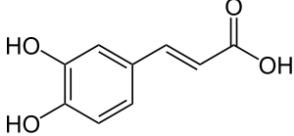
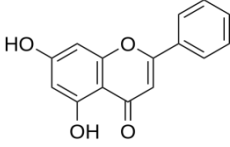
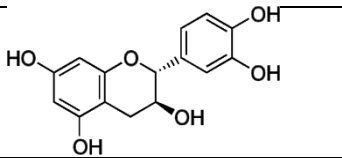
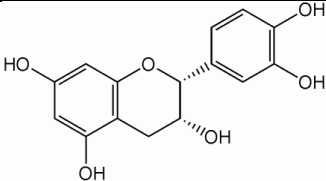
Особым случаем является наличие двух ОН-групп в орто-положении ароматического кольца. Такая конфигурация приводит к дополнительному снижению энтальпии диссоциации ОН-группы благодаря увеличению энергии внутримолекулярной водородной связи при переходе от *орто*-диоксиароматического соединения к семихинонному радикалу с 4 до 8 ккал/моль. В гомогенных системах этот эффект приводит к различию величин констант k_7 на 1 – 3 порядка между АО, имеющими и не имеющими второй гидроксил в *орто*-положении к фенольной ОН-группе.

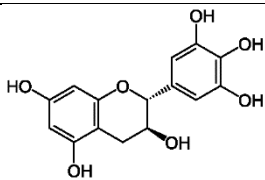
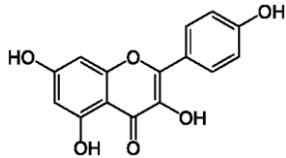
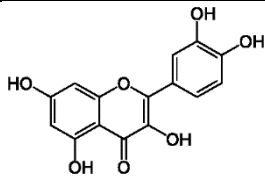
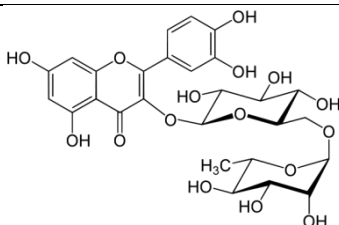
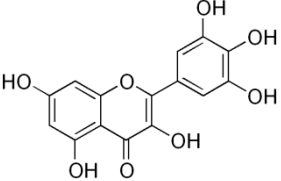
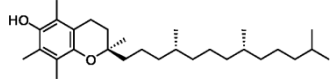
При переходе к **гетерогенным** системам эти различия нивелируются вследствие того, что значительное влияние на величину k_7 в таких системах оказывает межфазное распределение АО и свободных радикалов (табл. 1); при этом соединения с меньшим числом полярных групп оказываются в более тесном контакте с субстратами окисления. В [18] была показана прямая корреляционная зависимость ингибирующей эффективности флавоноидов от коэффициента распределения между липидной и водной фазами. Вероятно, именно этим эффектом объясняется и биологический смысл синтеза флавоноидов, замещенных производными изопрена, многие из которых имеют весьма высокие показатели биологической активности. По данным целого ряда исследований, галлаты катехинов обладают заметно более высокой биологической активностью, чем неэтерифицированные исходные катехины, что связывают с большей их липофильностью галлатов [19]. Однако, если источник свободных радикалов находится в водной фазе, увеличение полярности способствует росту ингибирующей эффективности. Так, в метиллинолеатной мицеллярной системе при инициации водорастворимым азоинициатором ААРН, согласно данным [20] (табл.1), более полярный гликозид рутин оказался активнее своего агликона. Образование водородных связей с молекулами полярных растворителей, хотя и повышает энергию гомолитической диссоциации ОН-связи фенольного АО, не является, вопреки предположению [21], причиной эффекта нивелирования в гетерогенных системах активностей АО, имеющих и не имеющих второй гидроксил в *орто*-положении к фенольной ОН-группе, что подтверждается экспериментами с использованием стабильного радикала ДФПГ в среде 95% этанола в условиях подавления ионизации фенолов [22]. Более того, в среде растворителя, способного образовывать водородные связи, наряду с радикальным механизмом HAT (hydrogen atom abstraction), реализующимся в неполярных средах, включается ионный механизм SPLET (sequential proton loss – electron transfer)



При реализации процесса по этому механизму АО, имеющие второй гидроксил в *орто*-положении к фенольной ОН-группе, также проявляют намного более высокую реакционную способность по сравнению с не имеющими.

Таблица 1. Константы скорости реакции некоторых растительных фенольных АО с различными радикалами в гомогенных и гетерогенных реакционных системах.

№ п/п	Наименование АО	Структурная формула	k_7 (М ⁻¹ с ⁻¹) (стирол), л/моль·с [23]	$k_{\text{ДФПГ}}$, л/моль·с [22]*	k_7 (мицеллы, метиллинолеат , л/моль·с [20])
1	Пирокатехин		$(1.0 \pm 0.1) \cdot 10^6$	4,1±0,4	$(4,69 \pm 0,40) \cdot 10^3$
2	п-оксибензойная кислота		$(1.3 \pm 0.2) \cdot 10^3$	~10 ⁻²	—
3	3,4-диоксибензойная кислота		$(4.3 \pm 0.3) \cdot 10^5$	1,3±0,1	—
4	Галловая кислота		$(1.2 \pm 0.1) \cdot 10^6$	12,7±0,3	$(5,56 \pm 0,74) \cdot 10^3$
5	Кофейная кислота		$(1.5 \pm 0.1) \cdot 10^6$	4,7±0,5	$(2,08 \pm 0,13) \cdot 10^4$
6	Хризин		<10 ³	(1,2±0,1) · 10 ⁻²	—
7	(+) катехин		1.6 · 10 ⁶	—	$(6,50 \pm 0,67) \cdot 10^3$
8	(-)-эпикатехин		$(1.6 \pm 0.1) \cdot 10^6$	8,1±0,3	$(6,40 \pm 0,60) \cdot 10^3$

9	Эпигаллокатехин		$(3.2 \pm 0.2) \cdot 10^6$	—	$(9,20 \pm 0,74) \cdot 10^3$
10	Кемпферол		$(1.3 \pm 0.1) \cdot 10^5$	—	$(8,38 \pm 0,80) \cdot 10^3$
11	Кверцетин		$(1.9 \pm 0.1) \cdot 10^6$	—	$(1,21 \pm 0,148) \cdot 10^4$
12	Рутин		—	$3,7 \pm 0,1$	$(2,41 \pm 0,268) \cdot 10^4$
13	Мирицетин		$(2.8 \pm 0.2) \cdot 10^6$	—	$(1,74 \pm 0,200) \cdot 10^4$
14	α -токоферол		$3.2 \cdot 10^6$ [24]	—	—

* Реакционной средой являлся 0,1мМ раствор HCl в этаноле.

Поскольку растительная клетка является гетерогенной системой, включающей как водную, так и липидную фазу, нивелирования активностей АО, имеющих и не имеющих второй гидроксил в *орто*-положении к фенольной ОН-группе в гетерогенных системах объясняет, почему в тканях растений значительную, часто — доминирующую, долю фенольных соединений составляют вещества, не имеющие *орто*-диоксигруппы.

Весьма интересным объектом с точки зрения корреляций строения и антиоксидантной активности является α -токоферол. Благодаря большому числу электронодонорных заместителей он является единственным

растительным монофенолом, реакционная способность которого по отношению к пероксидным радикалам превышает 10^6 л/моль·с.

Эффективность антирадикальных АО характеризуется не только константой скорости взаимодействия со свободными радикалами, но и числом радикалов, с которыми способна прореагировать одна молекула АО, т.е. **стехиометрическим коэффициентом ингибирования**. Стехиометрические коэффициенты ингибирования растительных фенолов зависят от числа *активных* ОН-групп в молекуле и дальнейших превращений, которые претерпевает продукт взаимодействия АО со свободными радикалами.

Продукты, образующиеся из многих фенольных АО природного происхождения (например, катехинов) в результате их взаимодействия со свободными радикалами, склонны к олигомеризации [25], сопровождающейся восстановлением активности фенольных ОН-групп путем перемещения на них атомов Н; среди продуктов окисления флавоноидов не были обнаружены ни в одном из исследований соединения хинонной структуры [26].

Таким образом, стехиометрический коэффициент ингибирования антирадикального АО не является простой функцией числа активных групп, а определяется соотношением скоростей окисления и регенерации и редко принимает целочисленные значения. Так, при ингибированном окислении метиллинолеата в мицеллярной системе при $T=310\text{ K}$ для рутина $f=4,6$; при окислении стирола, ингибированного кверцетином (агликоном рутина), $f=1,9$, хотя кверцетин имеет на одну ОН-группу больше. Вообще, стехиометрический коэффициент ингибирования не является для антиоксиданта некоей постоянной, а характеризует его ингибирующую емкость *в данных конкретных условиях и в конкретной модельной системе*. Вследствие превращений продуктов окисления АО, сопровождающихся восстановлением активности функциональных групп, реальные стехиометрические коэффициенты ингибирования могут быть заметно выше, чем данные, получаемые из периодов индукции окисления модельных субстратов при скорости инициирования, превосходящей скорость этих превращений.

В табл. 2 приведены данные по стехиометрии окисления АО в различных модельных системах.

Таблица 2. Стехиометрические коэффициенты ингибирования фенольных АО, определяемые с помощью различных модельных реакций.

№ п/п	Наименование АО	волюмометрия (стирол) [23]	волюмометрия (мицеллы, метиллинолеат) [20]	TEAC (ABTS) [27]	ORAC [28]

1	Пирокатехин	2.1 ± 0.2	3.6 ± 0.2	–	–
2	Галловая кислота	1.0 ± 0.1	1.87 ± 0.33	3.01	1.76
3	Кофейная кислота	1.5 ± 0.1	5.7 ± 0.4	1.26	2.23
4	Кемпферол	>1.4	2.05 ± 0.20	1.34	–
5	Кверцетин	1.9 ± 0.1	5.6 ± 0.2	4.47	3.29
6	Рутин	–	4.6 ± 0.2	2.4	0.56
7	Мирицетин	1.6 ± 0.1	2.5 ± 0.4	3.1	–
8	Катехин	–	5.7 ± 0.6	2.4	2.49
9	Эпикатехин	1.4 ± 0.1	6.3 ± 0.5	2.5	2.36
10	Эпигаллокатехин	>0.9	1.57 ± 0.22	3.82	–

Как уже упоминалось выше, закономерности соотношений строения АО и их эффективности существенно зависят и от **способа инициирования цепей окисления**. Так, при иницировании окисления ионизирующей радиацией, включая УФ-облучение, наибольшей эффективностью обладают флавоноиды с карбонильной группой в кольце С [2]. Как модуляторы иницирующей активности металлов переменной валентности, флавоноиды могут иметь несколько сайтов связывания: 3',4'-ОН, 4-С=О-5-ОН; 4-С=О-3-ОН; при этом образование металл-флавоноидного комплекса, в зависимости от вида комплексообразователя, строения флавоноида, наличия пероксидов может как подавлять, так и ускорять образование ОН-радикалов. Что касается типа присоединения кольца В к кольцу С, в литературе имеются данные об отсутствии влияния места присоединения кольца В к кольцу С (2 – у флавоноидов и 3 – у изофлавоноидов) на способность тормозить железоиндуцированное аскорбатзависимое ПОЛ [Корулькин]. Имеются указания на то, что комплексы флавоноидов с металлами переменной валентности обладают супероксиддисмутазной активностью [29].

Не исключено, что фенольные соединения с малым числом атомов кислорода могут снижать уровень ПОЛ и путем участия в структурировании

биомембран. Так, в [30;31] было показано, что агликоны флавоноидов способны увеличивать микровязкость мембран, причем эта способность находится в прямой зависимости от гидрофобных свойств. Увеличение микровязкости приводит к снижению скорости взаимодействия пероксирадикалов с молекулами липидов. **В живых системах, помимо чисто физико-химических механизмов влияния на процессы ПОЛ, фенольные АО проявляют и физиологические,** такие, как снижение активности липоксигеназ, циклооксигеназ, монооксигеназ, провоспалительных цитокинов. В дополнение ко всему, в пищеварительном тракте флавоноиды с помощью гидролаз и трансфераз подвергаются дегликозилированию, глюкуронированию, метилированию и сульфатированию [32;33]. Совокупность приведенных выше факторов приводит к тому, что взаимосвязь строения и регуляторных эффектов в отношении ПОЛ и связанных с ним иных процессов и состояний гораздо сложнее, чем в модельных химических системах. Так, при исследовании автоокисления во фракции мембран, полученных из мозга крысы, кверцетин, несмотря на наличие катехольной группировки, показал гораздо более низкую ингибирующую активность в сравнении с нарингенином и гесперетином [34].

4. Смеси АО растительного происхождения.

Эффекты синергизма АО растительного происхождения могут проявляться при совместном присутствии активного антирадикального АО и восстановителя (который может являться менее активным АО либо вообще не проявлять антиокислительных свойств) либо разрушителя пероксидов. В первом случае происходит восстановление быстрее расходующегося более активного АО менее активным, что снижает скорость окисления и повышает период индукции. Классическим примером синергиста АО является аскорбиновая кислота, которая сама по себе не тормозит окисление органических веществ, но при совместном присутствии усиливает ингибирующее действие рутина, α -токоферола [35;36] и других антиоксидантов (37). В [38] показано, что лимонная кислота не обладает собственной антиоксидантной активностью, а играет роль синергиста α -токоферола (рис. 1). Синергизм обнаружен при совместном присутствии ряда флавоноидов (кверцетин, рутин, лютеолин) и α -токоферола; оксикоричных

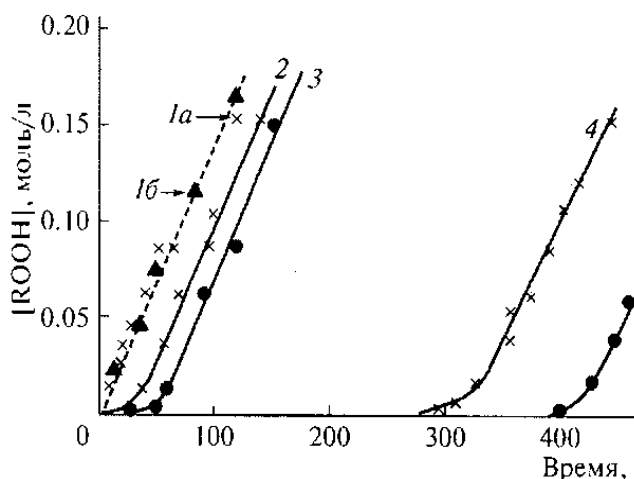


Рис. 1. Эффект синергизма α -токоферола и лимонной кислоты при торможении накопления перекисей в растительном масле: 1а – рафинированное масло; 1б – рафинированное масло + лимонная кислота; 2 – рафинированное масло + токоферол; 3 – нерафинированное масло; 4 – рафинированное масло + токоферол + лимонная кислота; 5 – нерафинированное масло + лимонная кислота

кислот (феруловой, синаповой кислот) и α -токоферола, флавоноидов (физетин, нарингенин, 7-моногоксиэтилрутозид) и глутатиона [39;40]. В живых организмах классической синергической антиоксидантной системой является α -токоферол – аскорбиновая кислота – глутатион, среди которых α -токоферол обладает наибольшей активностью в отношении радикалов, а аскорбиновая кислота и глутатион по цепочке восстанавливают его. В модельной системе анализа АО, основанной на окислении кумола, образуется в результате его распада фенол, который может играть роль синергиста исследуемых АО, что может влиять на результаты измерений.

5. Нормы потребления с пищей и источники различных групп АО растительного происхождения.

В 2004 году Главным санитарным врачом РФ утверждены «Рекомендуемые уровни потребления пищевых продуктов и биологически активных веществ» [41], в соответствии с которыми введены адекватные и верхние допустимые уровни суточного потребления АО растительного происхождения. Суммарное адекватное потребление фенольных АО составляет около 500 мг, верхнее допустимое – около 1100 мг. В США наиболее распространена точка зрения, что суточная норма потребления фенольных АО с пищей составляет около 1000 мг; при этом лишь 30% жителей США потребляют АО в количестве, соответствующем этой норме.

Для соблюдения норм по суточному потреблению АО необходимо создать общедоступный банк данных количественного содержания АО в

различных пищевых продуктах с поправками на сортовые особенности, место выращивания, сроки хранения. Эта информация была бы полезна как для специалистов (врачей, технологов, руководителей сельхозпредприятий), так и для широких слоев населения.

С целью получения сельхозпродукции с высоким содержанием АО предпринимаются попытки использования и генной инженерии. Так, созданы линии томатов с повышенной экспрессией халконфлаванонизомеразы, катализирующей реакцию, являющуюся лимитирующей стадией процесса биосинтеза флавоноидов [8].

6. Аналитические методы в химии антиоксидантов растительного происхождения

Несмотря на все большую доступность современных хроматографических методов, в том числе, хроматомасс-спектрометрии, интерпретация получаемых результатов, по-прежнему, довольно сложна. Кроме того, суммарная антиоксидантная и иная биологическая активность соединений, извлекаемых из лекарственного растительного сырья, часто превосходит активность индивидуальных компонентов.

Среди аналитических задач, возникающих при исследованиях антиоксидантных и связанных с ними свойств объектов растительного происхождения, можно выделить 2 группы: 1) нахождение суммарного содержания АО в сравнении со стандартным образцом; 2) определение кинетических характеристик индивидуальных соединений (константа k_7 , стехиометрический коэффициент ингибирования) или многокомпонентных образцов.

В качестве стандарта при количественном анализе предпочтительно выбирать вещество с химическим строением, наиболее близким к структуре доминирующих компонентов. Целью исследования как количества, так и активности АО в объектах растительного происхождения может быть скрининг неизученных видов на предмет выделения наиболее перспективных с фармакологической точки зрения; изучение влияния различных факторов на суммарное содержание АО в растительных объектах; оптимизация экстракционных процессов и стандартизация лекарственного растительного сырья; выявление взаимосвязей антиоксидантной активности с химическим строением и фармакологическим действием растительных лекарственных форм; оценка качества и полезных свойств сельскохозяйственной продукции растительного происхождения.

Выбор метода, адекватного поставленной задаче, является самым ответственным этапом планирования исследования, и далеко не всегда делается корректно. В обзоре В.А. Рогинского сформулированы основные требования, к соблюдению которых необходимо стремиться [42].

Физико-химическая интерпретация результатов, получаемых с помощью многих методик, как и сопоставление данных, полученных в исследованиях с применением различных методов, вызывает вопросы и дискуссии. Данные таблицы 2 по стехиометрическим коэффициентам ингибирования демонстрируют основную причину расхождений между результатами количественного анализа АО в многокомпонентных объектах при использовании разных модельных систем.

Как было отмечено выше, в Государственной фармакопее Российской Федерации стандартизация лекарственного растительного сырья примерно в 70% частных фармакопейных статей основана на анализе суммы флавоноидов по поглощению их комплексов в видимой области с катионом алюминия. Проблема, однако, заключается в том, что не все флавоноиды образуют комплексы с катионом алюминия; образующиеся же комплексы поглощают при разных длинах волн. Было бы корректно во многих случаях стандартизировать лекарственное растительное сырье по уровню содержания АО, однако, это сдерживается отсутствием общепринятого консенсуса в вопросах аналитической химии антиоксидантов и валидированных методик.

В зависимости от полярности реакционной среды, различные методики могут быть применимы для исследования водо- и жирорастворимых АО, либо только одной из этих групп. Если стоит задача по изучению антиоксидантных свойств объектов, в которых присутствуют каротиноиды, помимо требования к наличию в системе липофильной фазы, в модельной аналитической системе должны образовываться активные формы кислорода (например, алкилпероксирадикалы, ОН-радикал и т.д.), способные атаковать молекулы каротиноидов по двойным связям.

В живой системе эффективность ингибитора зависит не только от реакционной способности и числа активных функциональных групп, но и, как было описано выше, от распределения между водной и липидной фазами, концентрации в тех компартментах клетки, в которых наиболее интенсивно образуются радикалы, и других факторов. Антиоксиданты, имеющие в молекуле и полярные, и неполярные фрагменты, могут концентрироваться на границе раздела фаз. Как было показано в разделе 3, кинетические характеристики антиоксидантов, соотношение радикальных и ионных механизмов действия при переходе из одной фазы в другую могут существенно меняться. Если стоит задача исследования эффективности антиоксидантов в гетерогенных системах, моделирующих биологические объекты, наиболее подходят методы, основанные на спектрофотометрическом наблюдении за накоплением диеновых конъюгатов при окислении фосфатидилхолиновых липосом или мицелл непредельных жирных кислот, а также волнометрические модели, основанные на окислении непредельных субстратов (метиллинолеат и др.) в эмульсиях различного состава. Весьма интересна модель ингибирования

инициированного радикалами гемолиза эритроцитов, однако, на результаты может влиять изменчивость состава объекта и наличие в нем эндогенных АО. Это же касается и других методик, где в качестве субстрата используется биологический материал (гомогенаты тканей и т.д.).

Для решения более простых задач, связанных с количественным анализом АО, менее трудоемкими и перспективными для практического применения в биомедицинских, сельскохозяйственных, фармацевтических исследованиях, в пищевой и косметической промышленности являются люминесцентные методы, основанные на использовании люминола, и метод, основанный на взаимодействии антиоксидантов со стабильным радикалом ДФПГ. Эти методы позволяют напрямую наблюдать за взаимодействием свободных радикалов с антиоксидантами и регистрировать аналитический сигнал автоматизированным способом. ДФПГ-метод, в отличие от других, позволяет также наблюдать кинетику восстановления активности АО в ходе превращений продуктов их окисления. В проведенных автором исследованиях метод ДФПГ-теста и 2 метода хемилюминесценции (с инициацией радикальных реакций ААРН и системой $\text{Nb}/\text{H}_2\text{O}_2$) демонстрировали очень тесную корреляционную связь между получаемыми результатами ($r \geq 99\%$). Данные таблицы 1 и корреляционной диаграммы, представленной на рис. 2, демонстрируют, что применение данной ДФПГ-модели имеет определенный физико-химический смысл, поскольку коэффициент корреляции Пирсона наблюдаемых величин k_7 реакции фенольных АО с ДФПГ и алкилпероксирадикалами в гомогенных системах составляет около 95% (из 7 точек только одна, соответствующая галловой кислоте, сильно отклонилась от тенденции и не учитывалась при расчете коэффициента корреляции). Следует, однако, иметь ввиду, что эффективные величины констант скорости обрыва цепей окисления, ведомых алкилпероксирадикалами, в гомогенных и в гетерогенных системах по описанным выше причинам могут слабо коррелировать между собой.

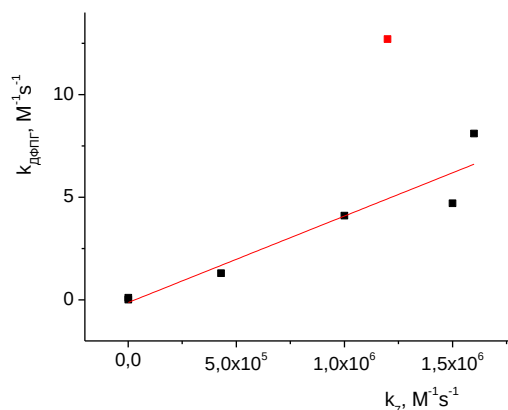


Рис. 2. Корреляционная связь между константами скорости реакции растительных фенольных АО с пероксирадикалами при окислении

стирола, инициированном AMVN (ось абсцисс) и с ДФПГ в среде этанола+0.1 мМ HCl (ось ординат).

Метод ORAC [28] в США является общераспространенным методом определения АОА пищевых продуктов. Более предпочтительной является его модификация, основанная на замене фикоэритрина флуоресцеином. Он основан на определении активности веществ в отношении водорастворимых пероксирадикалов и, теоретически, может быть использован не только для количественного анализа, но и для исследования реакционной способности АО. Область применения его ограничена водорастворимыми АО.

Применимость электрохимических методов для оценки для исследования регуляторов свободнорадикальных процессов весьма дискуссионна, поскольку эти методы либо вообще не основаны на свободнорадикальных процессах либо, как методики с использованием атомарного брома, детектируют поглощение радикала не только антиоксидантами, но и любыми легко бромлируемыми органическими соединениями. В исследованиях автора показано, что амперометрический метод, основанный на окислении веществ на аноде из стеклоуглерода, имеет существенный вклад в сигнал компоненты, не связанной с антиоксидантами, вследствие чего, при анализе вин с малым и средним уровнем содержания АО дает завышенные результаты. При использовании вольтамперометрического метода, основанного на использовании ртутно-пленочного электрода, в реакционной системе формируются активные формы кислорода, образующиеся и в живых организмах, что является достоинством метода. Однако, взаимосвязь анализируемого сигнала с реакционной способностью АО в отношении этих АФК в данной системе и его физико-химический смысл не являются очевидными.

Метод FRAP [43], основанный на восстановлении трипиридилтриазинового комплекса железа (III), хотя и не основан на свободнорадикальных процессах, в экспериментах продемонстрировал соотношения стехиометрических коэффициентов билирубина, токоферола, мочевой и аскорбиновой кислоты, хорошо согласующиеся с их химической структурой (рис. 3).

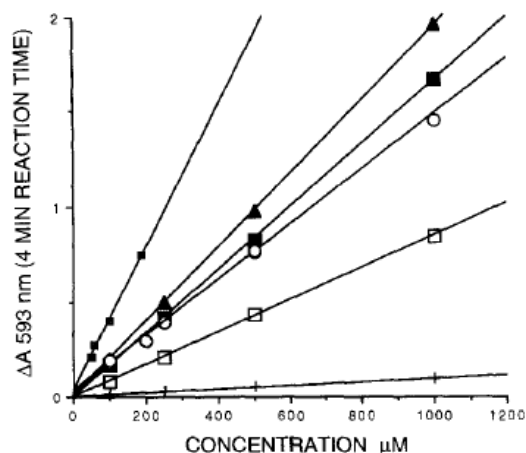


Рис. 3. Зависимость отклика по методу FRAP от концентрации антиоксидантов в реакционной системе: билирубин (▪), мочевиная кислота (▲), аскорбиновая кислота (■), α -токоферол и тролокс (○), Fe(II) (□), альбумин (+)[43]

Основным первичным звеном в процессе инициирования свободнорадикальных процессов в живых системах является генерация супероксидного анион-радикала, однако способы оценки активности различных объектов в отношении этого радикала недостаточно разработаны с точки зрения методологии и физико-химической интерпретации результатов. Метод аутоокисления адреналина реализуется в сильнощелочной среде при pH, весьма далеких от физиологических, а получаемые параметры не имеют четкой, однозначной интерпретации. Более очевидный физико-химический смысл имеет методика, основанная на фотоиндуцированной генерации супероксида при облучении рибофлавина видимым излучением, а также методы, в которых осуществляется генерация супероксида в неферментативных системах НАДН/феназинметосульфат или НАДН/3-меркаптоэтанол.

Метод Фолина-Чиокалтеу, хотя и считается классическим методом количественного определения растительных фенолов, чувствителен к редуцирующим сахарам и дает значительную переоценку содержания анализируемых веществ.

Также следует отметить, что не все методы пригодны для исследования взаимодействия АО по типу синергизма или антагонизма. Например, при исследованиях совместного действия антирадикальных и антипероксидных АО необходимо пользоваться методиками, связанными с цепным свободнорадикальным окислением субстратов и инициированием, основанным на гомолитическом распаде пероксидов, поскольку при других способах инициирования действие антипероксидного АО будет малозаметным. Обнаружить эффект синергизма от восстановления более активного АО менее активным можно только в случае, если скорость этого

восстановления выше, чем скорость прямого расходования менее активного АО в радикальных реакциях, а также имеет заметную величину в сравнении со скоростью расходования более активного АО.

Среди антиоксидантов растительного происхождения наиболее важной и перспективной для фундаментальных и прикладных научных исследований являются фенольные соединения. Разнообразие механизмов биологической активности, во многих случаях взаимно усиливающих эффекты воздействия на живые системы, в сочетании со способностью регулировать свободнорадикальные процессы, лежащие в основе многих нормальных и патологических явлений, свидетельствуют о том, что их базовые структуры являются оптимальными, эволюционно отобранными для построения веществ-биорегуляторов. Ни одна другая группа химических соединений не содержит такое количество перспективных малотоксичных лекарственных субстанций. Поиск новых структур и создание полусинтетических производных, дальнейшее изучение свойств и систематизация накопленных знаний откроют новые горизонты в смежных науках, таких, как фармакология и медицина.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Физиология растений : учебник для студентов вузов / под ред. И. П. Ермакова. М. : Изд. центр «Академия», 2005. 640 с.- с. 589.
2. Зенков Н.К., Кандалинцева Н.В., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б., Просенко А.Е. Фенольные биоантиоксиданты. Новосибирск: Изд-во СО РАМН, 2003.
3. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Т. IV. М., 2018.
4. Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M. (Eds.): Antioxidants in Food, Practical Applications. CRC Press, Woodhead Publ Ltd, Cambridge (UK), 2001.
5. Мазалецкая Л.И., Шелудченко Н.И., Шишкина Л.Н. Влияние лецитина на эффективность антиоксидантного действия флавоноидов и α -токоферола. Прикладная биохимия и микробиология, 2010, т. 46(2), с. 148-152
6. Tejero, I., Gonzalez-Garcia N., Gonzalez-Lafont A., Lluch J. M. Tunneling in green tea: understanding the antioxidant activity of catecholcontaining compounds. A variational transition-state theory study// J.Am. Chem.Soc., 2007, 129, 5846–5854.
7. Kostova I., Bhatia S., Grigorov P., et al. Coumarins as Antioxidants // Current Medicinal Chemistry. 2011. V. 18 (25). P. 3929 – 3951.
8. Д.Ю. Корулькин, Ж.А. Абилов, Р.А. Музычкина, Г.А. Толстиков. Природные флавоноиды. - Новосибирск: Академическое изд-во "Тео", 2007. 232 с. – с. 191 – 196.
9. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. М., 1990. 336 с.

10. Глызин В.И. // Тез. докл. 3-го Всесоюз. симп. по фенольным соединениям. Тбилиси, 1976. С. 140.
11. Кабиев О., Балмуханов СБ. Природные фенолы - перспективный класс противоопухолевых и радиопотенцирующих соединений. М.: Медицина, 1975. 188 с.
12. Stuart, E. C., Scandlyn, M. J., Rosengren, R. J. Role of epigallocatechin gallate (EGCG) in the treatment of breast and prostate cancer// *Life Sci.*, 2006, 79, 2329–2336.
13. Yang A.L., Lowe G.M. Antioxidant and prooxidants properties of carotenoids // *Arch. Biochem. Biophys.* 2001, V. 385. P. 20 – 27.
14. Soffers A. E. M. F. et al. Antioxidant activities of carotenoids: Quantitative relationships between theoretical calculations and experimental literature data // *Free Radic. Res.*, 1999, V. 30, P. 233 – 240.
15. Цепалов В.Ф. и др. Определение констант скорости и коэффициентов ингибирования фенолов - антиоксидантов с помощью модельной ценной реакции // *Кинетика и катализ*, 1977. – Т. 18, № 5, С. 1261 – 1267.
16. Bukharkina T.V., et al. Kinetic model of ethyl benzene oxidation catalysed by manganese salts // *Org. Proc. Res. Dev.* 2003. V. 7, N 2. P. 148 – 154.
17. Wright J.S., Johnson E.R., DiLabio G.A. Predicting the Activity of Phenolic Antioxidants: Theoretical Method, Analysis of Substituent Effects, and Application to Major Families of Antioxidants // *J. Amer Chem. Soc.* 2001. V. 123. P. 1173 – 1183.
18. Oteiza, P. I., Erlejman A. G., Verstraeten S. V., Keen C. L., Fraga C. G. Flavonoid-membrane interactions: a protective role of flavonoids at the membrane surface // *Clin.Dev.Immunol.*, 2005,12, 19–25.
19. Kajiya, K., Kumazawa S., Nakayama T. Steric effects on interaction of tea catechins with lipid bilayers // *Biosci.Biotechnol.Biochem.* 2001. V.65, pp. 2638–2643.
20. Roginsky V. Chain-breaking antioxidant activity of natural polyphenols as determined during the chain oxidation of methyl linoleate in X-100 Triton micelles / V. Roginsky // *Arch. Biochem. Biophys.* 2003. V. 414, Issue 2. P. 261 – 270.
21. Тихонов И.В., Бородин Л.И., Осипов Е.М., Рябкова В.А. Антиоксидантная активность полифенолов при окислении метиллинолеата в мицеллах // *Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты. X Международный симпозиум : Сб. трудов. Т. 1, с. 165 – 169.*
22. В. А. Волков, В. М. Мисин. Кинетика взаимодействия антиоксидантов ряда пищевых и лекарственных растений со стабильным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом // *Кинетика и катализ.* - 2015. - Т. 56, № 1. - С. 48-54 .

23. Tikhonov I., Roginsky V., Pliss E. The Chain-Breaking Antioxidant Activity of Phenolic Compounds with Different Numbers of O-H Groups as Determined During the Oxidation of Styrene // *Int. J. Chem. Kinet.* 2009. V. 41. P. 92 – 100.
24. Burton G.W., Doba T., Gabe E.J., et al // *J. Am. Chem. Soc.* 1985. V. 107. P. 7053.
25. Bors W., et al. Chemical studies of proanthocyanidines and hydrolyzable tannins // *Antioxidants Redox Signaling.* 2001. N. 3. P. 995 – 1008.
26. Bors W., Michel C., Stettmaier K. Structure-Activity Relationships Governing Antioxidant Capacities of Plant Polyphenols // *Methods in enzymology.* V. 335, P.166–180.
27. Roginsky V. Chain-breaking antioxidant activity of natural polyphenols as determined during the chain oxidation of methyl linoleate in X-100 Triton micelles / V. Roginsky // *Arch. Biochem. Biophys.* 2003. V. 414, Issue 2. P. 261 – 270.
28. Guo C., Cao G., Sofic E., Prior R.L. // *J. Agric. Food Chem.* 1997. V. 45. P. 1787 – 1796.
29. Kostyuk, V. A., Potapovich A. I., Kostyuk T. V., Cherian M. G. Metal complexes of dietary flavonoids: evaluation of radical scavenger properties and protective activity against oxidative stress in vivo // *Cell Mol.Biol.*, 2007, 53, 62– 69.
30. Tarahovsky, Y. S., Muzafarov E. N., Kim Y. A. Rafts making and rafts braking: how plant flavonoids may control membrane heterogeneity // *Mol.Cell Biochem.*, 2008, 314, 65–71.
31. Tsuchiya, H., Nagayama M., Tanaka T., Furusawa M., Kashimata M., Takeuchi H. Membrane-rigidifying effects of anti-cancer dietary factors // *Biofactors*, 2002, 16, 45–56.
32. Alvarez, A. I., Real R., Perez M., Mendoza G., Prieto J. G., Merino G. Modulation of the activity of ABC transporters (P-glycoprotein, MRP2, BCRP) by flavonoids and drug response // *J.Pharm.Sci.*, 2010, 99, 598–617.
33. Zhang, L., Zuo Z., Lin G. Intestinal and hepatic glucuronidation of flavonoids, *Mol.Pharm.*, 2007, 4, 833–845.
34. Saija, A., Scalese M., Lanza M., Marzullo D., Bonina F., Castelli F. Flavonoids as antioxidant agents: importance of their interaction with biomembranes // *Free Radic.Biol.Med.*, 1995, 19, 481–486.
35. Galey J.-B. In: *Antioxidants in Disease. Mechanisms and Therapy.* H Sies (ed.), Academic Press, San Diego. 1997. P. 167 – 203.
36. Negre-Salvayre A., Affany A., Hariton C., et al. Additional antilipoperoxidant activities of alpha-tocopherol and ascorbic acid on membrane-like systems are potentiated by rutin // *Pharmacology.* 1991.V. 42. P. 262 – 272.
37. Sakihama, Y., Mano J., Sano S., Asada K., Yamasaki H. Reduction of phenoxyl radicals mediated by monodehydroascorbate reductase // *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, 2000, 279, 949–954

38. Эмануэль Н.М. Торможение процессов окисления жиров. М: Пищепромиздат, 1961. 359 с.
39. Kancheva V.D.. Phenolic antioxidants of natural origin – structure activity relationship and their beneficial effect on human health. In: Phytochemicals and Human Health: Pharmacological and Molecular Aspects, Nova Science Publishers Inc., USA, Ed. A. A. Farooqui, 2012, Chapter I, P. 1 –
40. Kancheva V.D. Antioxidants. Structure - activity relationship. In: “Antioxidants - Prevention and Healthy Aging”, Ed. by F. Ribarova, SIMELPRESS Publ., Sofia, Bulgaria, 2010, Chapter 1, P. 56 – 72.
41. Рекомендуемые уровни потребления пищевых продуктов и биологически активных веществ. Методические рекомендации. МР 2.3.1.1915-04 (утв. Роспотребнадзором 02.07.2004).
42. V. A. Roginsky, E. A. Lissi. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food // Food Chem. – 2005. – Vol. 92. – P. 235-254.
43. Iris F., Benzie F., Strain J. J. Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay: Direct Measure of Total Antioxidant Activity of Biological Fluids and Modified Version for Simultaneous Measurement of Total Antioxidant Power and Ascorbic Acid Concentration // Methods in enzymology. V. 299. P. 15 – 27.

МЕХАНИЗМ АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ ПОЛИФЕНОЛОВ ПРИ ОКИСЛЕНИИ МЕТИЛЛИНОЛЕАТА В МИЦЕЛЛАХ

Тихонов И.В., Бородин Л.И., Рябкова В.А.

*Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова.
150003, РФ, г. Ярославль, ул. Советская, 14.*

Полифенолы являются одним из основных классов биоантиоксидантов, к которым приковано огромное внимание в свете борьбы с окислительным стрессом. Центральными вопросами в химии антиоксидантов являются установление связи строения с антиоксидантной активностью и выяснение детального механизма их действия. Существуют различные подходы к определению антиоксидантной активности (АОА): исследование как при окислении субстратов биологической природы *in vitro*, так в модельных системах, в частности при окислении метиллинолеата (МЛ) в мицеллах [1].

Нами исследована АОА ряда поли- и метоксифенолов различных классов (гидроксикислоты, флавоноиды, катехоламины) при окислении МЛ в мицеллах Triton X-100 (310 К, рН 7,4). Кинетику поглощения кислорода в процессе окисления изучали с использованием кислородного биологического монитора YSI 5300А. Параметры АОА (k_7 и f) определяли по методике, описанной в работе [1].

Обнаружено, что полифенолы различных классов существенно различаются по антиоксидантному действию. Так, коэффициенты ингибирования f для моно- и метоксифенолов не превышают теоретического значения, равного двум. В тоже время для производных пирокатехина они существенно выше ($4 \div 6$). Показано, что в присутствии фермента супероксиддисмутазы (СОД) значения f не снижаются. Таким образом, высокие значения f не могут объясняться регенерацией фенолов под действием радикала $\text{HO}_2^\bullet$, образующимся при окислении МЛ в мицеллах. Вероятная причина высоких f – образование фенольных структур из продуктов превращения антиоксидантов (*орто*-хинонов) в результате нуклеофильного присоединения к хиноидному кольцу. Косвенным подтверждением этого являются низкие значения f для пространственно экранированных пирокатехинов, в которых подобное присоединение затруднено.

Производные пирогаллола и катехоламины в изученных условиях не тормозят окисление МЛ. Вероятной причиной этого является неустойчивость антиоксидантов QH_2 или их феноксильных радикалов $\text{QH}^\bullet$, которые реагируют с кислородом с образованием радикалов $\text{HO}_2^\bullet$ ($\text{O}_2^{\bullet-}$). При введении в систему СОД происходит ингибирование, причем для производных пирогаллола значения f составляют $1 \div 2$, а для катехоламинов $3 \div 5$. Высокие значения для катехоламинов объясняются циклизацией соответствующих *орто*-хинонов с регенерацией ОН-групп. Для выяснения механизма

образования радикалов $\text{HO}_2^\bullet$ в рассматриваемом процессе была исследована зависимость АОО производных пирогаллола и катехоламинов от рН среды. Установлено, что в диапазоне рН 4 ÷ 6 данные соединения начинают проявлять антиоксидантные свойства в отсутствие СОД, причем АОО при снижении рН возрастает. В области низких рН QH_2 и $\text{QH}^\bullet$ находятся в недиссоциированном состоянии, а при рН 7,4 – в виде ионов (ион-радикалов). Увеличение АОО при низких рН свидетельствует о снижении доли побочных реакций с кислородом, в которые QH_2 ($\text{QH}^\bullet$), очевидно, вступают в ионизированном состоянии по механизму переноса электрона:



При переходе от окисления МЛ в гомогенной среде к мицеллам для большинства полифенолов наблюдается существенное снижение эффективных значений k_7 , которое объясняется образованием водородных связей между ОН-группой фенола и ПАВ или водой, а также распределением антиоксиданта между фазами (водой и внутренней частью мицеллы). Последний фактор представляется определяющим. Более гидрофильные антиоксиданты имеют более низкую локальную концентрацию в мицеллах, вследствие чего не могут эффективно тормозить протекающее там окисление. Масштаб снижения значений k_7 при переходе от гомогенной среды к мицеллам, в целом, определяется липофильностью антиоксидантов, в качестве меры которой использовали коэффициент распределения в системе октанол – вода ($\lg P$): для антиоксидантов с более высокими $\lg P$ наблюдалось меньшее снижение k_7 . При этом отмечены отдельные аномалии. Так, некоторые антиоксиданты (в частности, ванильная кислота) в мицеллах характеризовались более высокими значениями k_7 , чем в гомогенной среде. Обнаружено, что при снижении рН антиоксидантная активность таких соединений существенно снижается. Таким образом, причиной повышенных значений k_7 при рН 7,4 является вклад в ингибирование реакций ионизированного антиоксиданта по механизму переноса электрона: $\text{PhO}^- + \text{RO}_2^\bullet \rightarrow \text{PhO}^\bullet + \text{RO}_2^-$. С другой стороны, для некоторых высоколипофильных антиоксидантов наблюдалось значительное снижение k_7 . Предполагаемой причиной данного эффекта является низкая способность данных полифенолов к перемещению между мицеллами, необходимому для эффективного ингибирования, вследствие малой растворимости антиоксидантов в воде.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-03-00644.

Литература

1. Roginsky V. *Arch. Biochem. Biophys.* 2003, **414**, 261.

ОКИСЛЕНИЕ ТРОЙНОЙ СИСТЕМЫ ЭПОКСИД СТИРОЛА – ХЛОРИД МЕДИ (II) – α -НАФТОЛ В СПИРТОВОЙ И ВОДНО-СПИРТОВОЙ СРЕДАХ

Л.В. Петров, Б.Л. Психа, В.М. Соляников

Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка

E-mail: plv@icp.ac.ru

В продолжение изучения конкуренции гетеро- и гомолитических процессов в катализированных реакциях эпоксидов, расширения круга объектов, волнометрически исследовано окисление тройной системы ТрС (эпоксид стирола – хлорид меди(II) – α -нафтол) в растворе метанола при 315 – 331 К. Альфа-нафтол, сильный ингибитор реакций радикального окисления в спиртовой среде, в этой системе заметно ускоряет поглощение кислорода. Установлен каталитический характер действия медной соли в поглощении кислорода и расходовании α -нафтола (α -НФ). Скорости окисления ТрС прямо пропорциональны концентрации эпоксида и соли меди (первый порядок по реагентам), зависимость от α -НФ сложнее (порядок ~ 0.7). Характер кислородной зависимости отличен от таковых для классических радикальных (радикально-цепных) объектов окисления. Небольшая величина энергии активации окисления ~ 44.0 кДж/моль и сложность концентрационного выражения скорости указывают на сложность механизма окисления данной тройной системы. Полученные данные указывают на то, что поглощение кислорода в ней вряд ли классическая радикальная или радикально-цепная реакция – опыты проводились в присутствии сантимолярных концентраций α -НФ, сильного акцептора радикалов, а чистый эпоксид стирола (ЭС) кислородом окисляется с трудом даже в присутствии инициатора при 413 К.

Стимулирование традиционного окисления α -нафтолом факт необычный, но аналогичный эффект ранее наблюдался в работе по окислению тройной системы (ЭС – гидрохинон – *n*-толуолсульфо кислота) [1]; в обоих случаях окисление ускоряет введение ингибиторов: гидрохинона в двойную систему (ЭС – кислота) и α -НФ в двойную систему (ЭС – CuCl_2).

Изучена зависимость начальных скоростей окисления от концентраций эпоксида стирола, хлорида меди(II) и α -нафтола в водно-трет.бутанольной среде. Скорость окисления возрастает с увеличением содержания воды, достигая предельного значения при 20 % об.

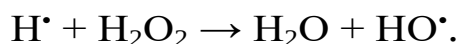
Литература: 1. Л.В. Петров, В.М. Соляников, Нефтехимия, 2017, 57, 474.

ПАРАБОЛИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ РЕАКЦИЙ ЗАМЕЩЕНИЯ ПО О–О–СВЯЗИ ГИДРОПЕРОКСИДОВ

Покидова Т.С.

*Институт проблем химической физики РАН, 142432 Черноголовка
Московской обл., просп. Акад. Семенова, Российская Федерация
e-mail: pokidova@icp.ac.ru*

Параболическая модель переходного состояния бимолекулярной реакции (МПП), как было показано ранее, является эффективным методом анализа реакционной способности реагентов в реакциях отрыва, присоединения и распада [1-4]. В настоящей работе мы использовали эту модель для анализа реакций радикального замещения по О–О -связи гидропероксидов и расчета кинетических параметров (энергий активации (E) и констант скорости (k) не описанных ранее реакций данного класса. Атом водорода реагирует с пероксидом водорода по двум параллельным реакциям: отрывает атом Н с образованием H_2 и атакует О–О-связь, вызывая ее расщепление (реакция замещения). Ниже приведена реакция замещения по О–О-связи [3]:

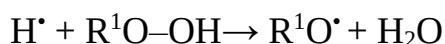


Вычисленные на основании МПП [1] параметры рассматриваемой реакции имеют следующие значения:

$br_e(\text{кДж/моль})^{1/2}$	$E_{c0}, \text{кДж/моль}$	$r_e \times 10^{11}, \text{м}$	$b(\text{кДж/моль})^{1/2}\text{м}^{-1}$
16.26 ± 0.04	95.4 ± 0.4	5.01	3,238

Значение вычисленного по экспериментальным данным параметра br_e , было использовано нами для расчета E и k смоделированных реакций атома водорода с некоторыми гидропероксидами по алгоритмам МПП [2].

Таблица 1 Рассчитанные значения энтальпии ΔH , энергии активации E и константы скорости k (298 К) реакций замещения



R^1O-OR^2	$D_{O-O},$ кДж/моль	$-\Delta H,$ кДж/моль	$E,$ кДж/моль	k (298 K) л/моль с
$HO-OH + H^\bullet \rightarrow HO^\bullet +$ HOH	211.0	286.0	14.8	2.7×10^7
$CH_3O-OH + H^\bullet \rightarrow CH_3O^\bullet$ $+HOH$	189.1	308.0	11.9	8.2×10^7
$C_2H_5OOH + H^\bullet \rightarrow C_2H_5O^\bullet$ $+HOH$	178.1	319.0	10.6	1.4×10^8
$(CH_3)_2CHO-OH + H^\bullet \rightarrow$ $(CH_3)_2CHO^\bullet + HOH$	185.8	311.3	11.5	9.6×10^7
$(CH_3)_3CO-OH + H^\bullet \rightarrow$ $(CH_3)_3CO^\bullet + HOH$	186.2	310.9	11.5	9.6×10^7
$CH_3C(O)O-OH + H^\bullet \rightarrow$ $(CH_3C(O)O)^\bullet + HOH$	169.9	327.2	9.6	2.1×10^8

Как видно из табл. 1, реакции замещения $H^\bullet$ с гидропероксидами с образованием H_2O также как и с H_2O_2 высоко экзотермичны (ΔH изменяется от -308 до -327.2 кДж/моль). Энергии активации реакции имеют близкие небольшие значения: $9.6 - 11.9$ кДж/моль, чему соответствуют высокие скорости реакции – от 8.2×10^7 до 2.1×10^8 л/моль с. Параметры, рассчитанные МПП для реакции $H^\bullet + HO-OH$ хорошо согласуются с экспериментальными данным.

Работа посвящается светлой памяти Денисова Евгения Тимофеевича.

Работа выполнена по теме государственного задания № 0089-2019-0004

Список литературы.

1. Денисов Е.Т. // Успехи химии. 1997. Т. 66. № 10. С. 953.
2. Denisov E.T., Denisova T.G., Pokidova T.S. Handbook of Free Radical Initiators. Hoboken, New Jersey: John Wiley and Sons, Inc., 2003. 879 p.
3. Денисов Е.Т., Покидова Т.С. // Успехи химии. 2012. Т. 81. № 5. С. 415.
4. Покидова Т.С., Емельянова Н.С. // Известия Академии наук. Сер. хим. 2018, № 9, с.1558.

ВЛИЯНИЕ ИОННОГО СОСТАВА СРЕДЫ НА РЕАКЦИЮ ГЛУТАТИОНА С ПЕРОКСИДОМ ВОДОРОДА

К.М. Зинатуллина¹, О.Т. Касаикина¹, Н.П. Храмеева²,

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук,

*² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук,
119991 Москва, ул. Косыгина, 4*

Факс: (495)651-2191. E-mail: karinazinat11@gmail.com

Изучение влияния среды, ее состава, pH и ионной силы на кинетику реакции позволяет выяснить особенности ее механизма, и возможности регулирования скорости и направления реакции. Глутатион (GSH) является эндогенным биоантиоксидантом, и синтезируется непосредственно в живых организмах. Концентрация GSH в биологических тканях и жидкостях составляет $0.1 - 10 \text{ ммоль} \cdot \text{л}^{-1}$, что значительно выше концентраций других низкомолекулярных соединений. Понимание функций GSH в работе клеток эволюционировало в ходе исследований его поведения в биологических системах и биохимических реакциях. В литературе редокс пара GSH/GSSG и пероксид водорода (H_2O_2) занимают центральное место в редокс-сигнализации и определении окислительно-восстановительного гомеостаза.

В живых организмах восстановление пероксидов осуществляется ферментами глутатионпероксидазами (GP), специфичными для органов и тканей, которые используя восстановленную форму GSH в качестве субстрата, эффективно восстанавливают не только H_2O_2 , но и органические гидропероксиды, включая гидропероксиды мембранных полиненасыщенных жирных кислот. В активном центре большинства из них присутствует остаток селеноцистеина, необходимого для протекания ферментативной реакции.

Общеизвестно, что непосредственная реакция восстановления H_2O_2 описывается брутто-уравнением: $2\text{GSH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{GSSG} + 2\text{H}_2\text{O}$ (1). Однако в реальности механизм реакции включает образование промежуточных продуктов, сильно зависит от состава среды, pH, скорость имеет первый порядок по концентрациям реагентов и зависит от соотношения

концентраций GSH и H_2O_2 [1,2]. Молекула GSH включает две карбоксильных, сульфгидрильную и аминную группы, диссоциация которых в водных растворах характеризуется следующими значениями рКа: 2,5; 3,7; 9,2 и 9,5, соответственно [3]. Поэтому можно ожидать сильное влияние рН и ионной силы раствора на скорость реакции GSH и H_2O_2 .

В деионизованной воде эта реакция сопровождается образованием димеров GSH и комплексов с H_2O_2 , что проявляется в нелинейных зависимостях скорости расходования GSH (W_{GSH}) от концентраций реагентов [1]. В солевом фосфатном буфере PBS и натриевых и калиевых фосфатных буферных растворах при $pH \geq 7$ увеличивается скорость расходования GSH (W_{GSH}) в значительной степени за счет ускорения его окисления кислородом воздуха. Обнаружена чувствительность реакции GSH с H_2O_2 к ионному составу среды; W_{GSH} в PBS и калий-фосфатном буферном растворе отличаются в 6 раз при близких рН (7,4 и 7,2) и близкой ионной силе растворов (0,17 и 0,15M) [2].

Таблица 1. Характеристики растворов и кинетические характеристики реакции GSH с H_2O_2 в них.

Среда	I, мМ	pH раствора	[GSH], мМ	[H_2O_2], мМ	pH в реакции	W_{GSH} , М/с
Деионизованная вода		6,5	10	2	3,16	$7,1 \cdot 10^{-7}$
PBS	170	7,44	10	2	3,61	$1 \cdot 10^{-6}$
			0,08	0,02	7,4	$4,8 \cdot 10^{-9}$
Калиевый фосфатный буфер	340	6,97	10	2	6,84	$2,3 \cdot 10^{-5}$
	360	7,19	10	2	7,01	$2,8 \cdot 10^{-5}$
	390	7,43	10	2	7,29	$5 \cdot 10^{-5}$
			0,08	0,02	7,43	$2 \cdot 10^{-8}$
Натриевый фосфатный буфер	350	7	10	2	6,84	$2,3 \cdot 10^{-5}$
	370	7,21	10	2	7,08	$3,8 \cdot 10^{-5}$
	390	7,43	10	2	7,27	$5,3 \cdot 10^{-5}$
			0,08	0,02	7,43	$1,2 \cdot 10^{-8}$

Поскольку в молекуле GSH содержится две карбоксильных группы, рН его 10мМ водного раствора составляет ~ 3 . Из таблицы 1 видно, что добавка такого количества GSH в стандартный фосфатно-солевой буферный раствор

PBS сильно понижает pH с 7,4 до 3,6, и влияет на pH буферного раствора даже при высокой ионной силе.

В водных растворах и в PBS взаимодействие GSH и H_2O_2 сопровождается образованием радикалов. Выход радикалов небольшой (~0,03) [4], но его хватает для инициирования цепных процессов, в частности тиол-ен реакции GSH с ненасыщенными фенолами ресвератролом и кофейной кислотой [5]. Сопоставление кинетики расходования глутатиона и образования радикалов в присутствии H_2O_2 в различных водных средах выявило чувствительность этих процессов к биологически значимым ионам переходных металлов натрия, калия, магния и кальция, анионам гидрофосфатов и хлора.

Полученные результаты свидетельствуют о высокой чувствительности пары GSH и H_2O_2 , которую физиологи ставят на центральное место в редокс-сигнализации и определении окислительно-восстановительного гомеостаза в живых организмов.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 18-33-00742 и №17-03-00364.

Литература

- [1]. К.М. Зинатуллина, О.Т. Касаикина, В.А. Кузьмин, Н.П. Храмеева. // Кинетика и Катализ, 2019, том 60, № 3, с. 281–288.
- [2]. К.М. Зинатуллина, О.Т. Касаикина, В.А. Кузьмин, Н.П. Храмеева, Л.М. Писаренко. // Известия Академии наук. Серия химическая, 2019, №7, с.1441-1444.
- [3]. T.N.Huckerby, A.J. Tudor, J.G. Dawber // Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2, 1985, №6, pp. 759-763.
- [4]. К.М. Зинатуллина, О.Т. Касаикина, Кузьмин В.А., Храмеева Н.П., Шапиро Б.И. // Изв. АН. Серия химич. 2016. № 12. с. 2825.
- [5]. К.М. Зинатуллина, Н.П. Храмеева, О.Т. Касаикина, Б.И. Шапиро, В.А. Кузьмин // Изв. АН. Серия химич. 2017. № 11. с. 2145.

ТЕЗИСЫ УСТНЫХ И СТЕНДОВЫХ ДОКЛАДОВ

КИНЕТИЧЕСКИЙ ИЗОТОПНЫЙ ЭФФЕКТ ПРИ ОКИСЛЕНИИ ЭФИРОВ ЛИНОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ В МИЦЕЛЛАХ

Москаленко И.В.

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова.

150003, РФ, г. Ярославль, ул. Советская, 14.

E-mail: i.v.m.rostov.yar@gmail.com

В настоящее время известно, что замена водорода на дейтерий в бис-алильном положении в молекулах полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) может снижать уровень окислительного стресса в митохондриях, где значительную роль играют активные формы кислорода. Также известно, что окисление метиллинолеата в мицеллах проходит с выделением гидропероксильного радикала ($\text{HO}_2^\bullet$), который является одной из наиболее активных форм кислорода. Кроме того, в качестве источника $\text{HO}_2^\bullet$ в водной среде можно использовать инициатор SOTS-1. Все это делает окисление метиллинолеата в мицеллах является удобной системой для тестирования дейтерированных ПНЖК к устойчивости к $\text{HO}_2^\bullet$.

Все эксперименты проводили при температуре 310 K, в фосфатном буфере с $\text{pH}=7,4$. В качестве инициаторов использовался 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорид (AAPH) и SOTS-1. Субстратами окисления являлись: метиллинолеат (LH_2), метилолеат (MO), 11-дейтероэтиллинлеат (LDH), 11,11-дидейтероэтиллинлеат (LD_2); ПАВ – Triton X100. Концентрация ПАВа во всех случаях была 0,05 моль/л, а субстрата окисления 0,02 моль/л. Для изучения влияния $\text{HO}_2^\bullet$ на кинетику окисления применяли супероксиддисмутазу и нитроксильный радикал 2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил (TEMPO).

Длина цепи для LD_2 составляет 15-20 звеньев, что примерно в 2 раза меньше числа молекул в мицелле (в среднем на мицеллу приходится от 40 до 60 молекул субстрата). Следовательно, обрыв цепи происходит значительно раньше полного расходования субстрата в мицелле, а передачи цепи между мицеллами не происходит. В тех же условиях длина цепи окисления LH_2 достигает 150 – 170 звеньев. В присутствии СОД происходит уменьшение скорости окисления LH_2 и длины цепи, поскольку в этом случае устраняется передачи цепи между мицеллами посредством реакций $\text{HO}_2^\bullet$.

Поскольку в данном случае нельзя говорить об истинных константах скоростей отдельных стадий, формальным кинетическим изотопным

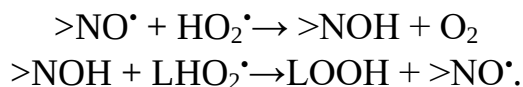
эффектом следует считать отношение скоростей окисления, за вычетом скорости окисления ПАВ:

$$КИЭ = \frac{W(LH_2) - W(Triton)}{W(LD_2) - W(Triton)}$$

В соответствие с данным уравнением КИЭ составляет 23,6. Следует отметить, что найденная величина является брутто-значением КИЭ, на которое может влиять изотопный эффект в нескольких стадиях продолжения и обрыва цепи.

При замене одного атома водорода на дейтерий в бис-аллильной группе (субстрат LDH) скорость окисления снижается в 2,1 раза. Таким образом, окисляемость ПНЖК главным образом определяется числом связей С–Н в бисаллильной группе. Длина цепи составляет около 70 звеньев, что говорит о возможной передаче цепи между мицеллами. В пользу этого предположения свидетельствует и снижение скорости окисления LDH в присутствии СОД.

Следует отметить, что в присутствии СОД скорость окисления LD₂ не снижается. Это может быть вызвано двумя причинами: либо HO₂• в условиях эксперимента не образуется, либо HO₂• не ведет цепи. Косвенным способом идентификации HO₂• являются их реакции с нитроксильными радикалами (>NO•). Они, как известно, способны ингибировать окисление метиллинолеата в мицеллах, многократно обрывая цепи по следующим реакциям:



Введение супероксиддисмутазы заметно снижает период индукции, поскольку канал регенерации >NO• при этом устраняется.

Напрямую исследовать реакционную способность ПНЖК по отношению к радикалам HO₂• можно, используя в качестве инициатора источник радикалов O₂•⁻/HO₂• (SOTS-1). При этом для сравнения в качестве субстрата окисления был использован и МО, который, как указано выше, не реагирует с радикалами HO₂•. Скорость окисления Triton X-100 в отсутствие субстратов равна (в пределах экспериментальной ошибки) скорости окисления в присутствии LD₂ и МО. Можно предположить, что окисление Triton X-100 происходит независимо от наличия субстрата в мицелле, а сами LD₂ и МО при этом не окисляются.

Таким образом, в настоящей работе обнаружен высокий изотопный эффект при окислении эфиров линолевой кислоты в мицеллах. Причиной этого является отсутствие взаимодействия LD₂ с радикалом HO₂•, образующимся в процессе окисления.

ВЛИЯНИЕ 2,2,6,6-ТЕТРАМЕТИЛПИПЕРИДИН-1-ОКСИЛА НА ОКИСЛЕНИЕ КОМПОНЕТОВ СИСТЕМЫ МЕТИЛЛИНОЛЕАТ – TRITON X-100

Молодочкина С.В.¹, Лошадкин Д.В.²

¹ *Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова*
150003, г. Ярославль, ул. Советская 14
molodochkina95@mail.ru

² *Ярославский государственный технический университет*
150023 г. Ярославль, Московский пр-кт 88

Биологические процессы, сопровождающиеся разрушением клеточных мембран, обусловлены пероксидным окислением субстрата. Для предотвращения нежелательных последствий используют разнообразные антиоксиданты, одними из которых являются соединения производные окиси азота. Например, 2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил (Темпро), как антиоксидант может обеспечивать эффективную защиту клеток и тканей [1].

Для оценки антиоксидантной активности применяют различные упрощённые модели окисления непредельных соединений. Одной из них является окисление метиллинолеата в мицеллах Triton X-100, однако этот мицеллообразователь подвергается окислению [2]. Очевидно, что в окисляющейся системе появляется ещё один тип радикалов. Это пероксирадикалы $\text{TO}_2^\bullet$, образующиеся при окислении Triton X-100. Кроме того, скорость окисления метиллинолеата и Triton X-100 постоянно изменяется. Это связано с тем, что к моменту достижения максимальной скорости поглощения кислорода мицеллярная система представляет собой смешанные мицеллы Triton X-100 с образовавшимися гидропероксидами, где в гидрофобном интерьере солюбилизирован метиллинолеат [3]. Другой особенностью системы метиллинолеат – Triton X-100 является использование водорастворимого инициатора. Так как инициатор находится в клетке молекул воды, то образующиеся при распаде инициатора третичные алкильные радикалы быстро взаимодействуют с кислородом с образованием пероксильных ($\text{rO}_2^\bullet$). То есть в системе есть ещё один тип свободных радикалов, с которыми может взаимодействовать ингибитор. Очевидно, что механизм ингибированного действия Темпро на выбранную систему не ограничивается взаимодействием с радикалами образующимися при окислении метиллинолеата.

В данной работе представлены экспериментальные данные и результаты компьютерного моделирования ингибированного окисления метиллинолеата в мицеллах Triton X-100. Окисление проводили в водном фосфатном буфере с $\text{pH} = 7,4$ при 37°C с использованием водорастворимого инициатора 2,2'-

азобис(2-метилпропионамид) дигидрохлорида (AAPH). Для определения концентрации кислорода в системе использовался биологический кислородный монитор YSI-5300A (США).

Установлено, что Темпро тормозит окисление Triton X-100. То есть в системе метиллинолеат – Triton X-100 необходимо учитывать расход антиоксиданта на взаимодействие с $\text{TO}_2^\bullet$ в гидрофильной части мицеллы. Кроме того, подтверждена возможность реакции Темпро с радикалами, образующимися при распаде инициатора, которые происходят в водной фазе.

Известно, что Темпро лучше растворяется в органической среде, чем в воде. Однако судя по значениям коэффициентов распределения в системах октан – вода и октанол – вода с увеличением полярности органического субстрата количество Темпро в воде возрастает. В ходе окисления метиллинолеата и Triton X-100 образование смешанных мицелл происходит вследствие накопления соответствующих гидропероксидов, то есть более полярных соединений, что, вероятно, способствует перераспределению Темпро из мицеллярной фазы в водную. Таким образом, увеличение концентрации ингибитора в водной фазе во время процесса увеличит доли реакций ингибитора с $\text{TO}_2^\bullet$ и $\text{rO}_2^\bullet$.

Список литературы

1. Е. Т. Denisov, I. B. Afanas'ev, Oxidation and Antioxidants in Organic Chemistry and Biology CRC Press, 2005.
2. Касаикина О.Т. Окисление неионных поверхностно-активных веществ молекулярным кислородом. О.Т. Касаикина, Е.А. Менгеле, И.Г. Плащина. Коллоидный журнал. 2016. Т. 78. № 6. С. 1-5.
3. Лошадкин Д. В. Особенности окисления метиллинолеата в мицеллярных буферных растворах Triton X-100. Д.В. Лошадкин, О.Т. Касаикина, Е.М. Плисс (в печати).

ОКИСЛЕНИЕ АЛКИЛАРЕНОВ СОЕДИНЕНИЯМИ НЕПЕРЕХОДНЫХ МЕТАЛЛОВ

Усманова Ю.Х., Денисова М.Н., Нуруллина Н.М.*, Харлампиди Х.Э.

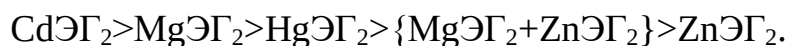
*Казанский национальный исследовательский технологический университет
420015, г.Казань, ул. К.Маркса, 15
* nyryllina@mail.ru*

Известно, что соединения непереходных металлов существенно влияют на ход жидкофазного окисления углеводородов. В связи с этим было изучено окисление алкиларенов (изопропилбензола) в присутствии соединений непереходных металлов и их смесей в интервале концентраций Kat 0.001-0.05 моль/л.

В присутствии этилгексаноатов Zn и Hg накопление гидропероксида изопропилбензола (ГПИПБ) носит аутоускоренный характер. $CdЭГ_2$ начинает процесс сразу с высокой скоростью, кривая накопления гидропероксида проходит через максимум – содержание ГПИПБ достигает кинетически равновесного значения. Более высокая у Hg, по сравнению с Zn, скорость накопления ГПИПБ обусловлена наивысшими значениями доли радикального распада гидропероксида для ртути.

С ростом концентрации катализатора увеличивается скорость накопления гидропероксида (таблица). Основной вклад в каталитическую активность исследуемых бинарных соединений вносит 2-этилгексаноат магния. Интересно также отметить, что с увеличением концентрации $ZnЭГ_2$ с 5×10^{-3} до 1×10^{-2} моль/л при фиксированной концентрации $[MgЭГ_2] = 1 \times 10^{-3}$ моль/л и $[MgЭГ_2] = 5 \times 10^{-3}$ моль/л, происходит снижение выхода гидропероксида. Этот факт может быть обусловлен тормозящим действием фенола, образующегося при распаде ГПИПБ.

Анализ кинетических данных по начальным скоростям накопления гидропероксида позволяет расположить исследуемые системы по каталитической активности в следующий ряд:



Поскольку инициирование окисления происходит за счет свободных радикалов, образующихся при разложении комплекса $ROOH-MЭГ_2$, различия в каталитической активности соединения металла в реакции окисления

связаны с комплексообразующими свойствами элемента, входящего в состав катализатора. У соединений Mg каталитическая активность определяется электростатическими факторами. В случае с Zn во взаимодействии существенную роль играет ковалентность. В соединениях Zn доля ковалентности велика, он менее активен, а у активного Mg эта связь имеет более ионный характер. Следовательно, чем выше степень ионности связи, тем активнее катализатор. Действительно, чисто ионные комплексы магния превосходят по активности металлы подгруппы Zn.

Таблица. Накопление гидропероксида изопропилбензола в присутствии различных катализаторов (110°C, 6 ч)

Катализатор	[Kat], моль/л	[ГПИПБ], % мас
ауто	—	0.54
MgЭГ ₂	1×10^{-3}	3.14
MgЭГ ₂	5×10^{-3}	19.71
MgЭГ ₂	1×10^{-2}	24.29
ZnЭГ ₂	5×10^{-3}	5.05
ZnЭГ ₂	1×10^{-2}	6.48
CdЭГ ₂	5×10^{-3}	26.70
HgЭГ ₂	5×10^{-3}	19.55
MgЭГ ₂ ZnЭГ ₂	1×10^{-3} 5×10^{-3}	7.05
MgЭГ ₂ ZnЭГ ₂	1×10^{-3} 1×10^{-2}	5.71
MgЭГ ₂ ZnЭГ ₂	2.5×10^{-3} 2.5×10^{-3}	8.09
MgЭГ ₂ ZnЭГ ₂	5×10^{-3} 5×10^{-3}	18.44
MgЭГ ₂ ZnЭГ ₂	5×10^{-3} 1×10^{-2}	18.43

В составе продуктов окисления обнаружены диметилфенилкарбинол, ацетофенон, альфа-метилстирол, метанол, бензальдегид, фенол. Интересным фактом является то, что цинк в составе бинарного катализатора значительно уменьшает, а в чистом виде полностью подавляет образование ацетофенона.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ,
Госзадание № 10.956.2017*

ТОМОГРАФИЯ ТЕРМООКИСЛЕНИЯ ЭТИЛЕНПРОПИЛЕНОВЫХ КАУЧУКОВ

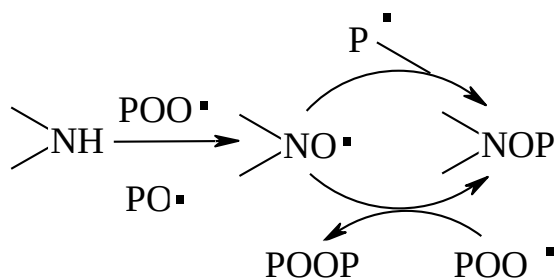
М.В. Мотякин¹, И.С. Ионова¹, Е.Э. Потапов²

¹ *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н. Н. Семенова РАН*

² *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "МИРЭА - Российский технологический университет" Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова*

При эксплуатации полимерные материалы подвергаются воздействию различных факторов, таких как УФ-облучение, температура, механические нагрузки и т.д., что приводит к возникновению химически активных интермедиатов, таких как $R\cdot$, $RO\cdot$, $ROO\cdot$, $ROOH$ и др. Химические процессы, в которых задействованы эти интермедиаты, изменяют структуру и физические свойства полимеров. Причем изменения зависят от того, какие интермедиаты доминируют в той или иной части образца. Знание распределения этих активных интермедиатов очень важно для прогнозирования срока службы массивных полимерных материалов [1].

Определить пространственное распределение активных центров, участвующих в химических превращениях полимеров, можно с помощью методов ЭПР томографии. Однако в большинстве случаев при химических превращениях полимеров образуются нестабильные радикалы, что существенно затрудняет их прямое детектирование. Для решения данной проблемы предложено вводить в исследуемый объект стерически затрудненные амины. Их химическое взаимодействие с перекисными или алкокси- радикалами приводит к образованию стабильного нитроксильного радикала [2,3]:



Определив пространственное распределение нитроксильных радикалов по образцу, можно идентифицировать области полимера, в которых протекает процесс окислительной деструкции.

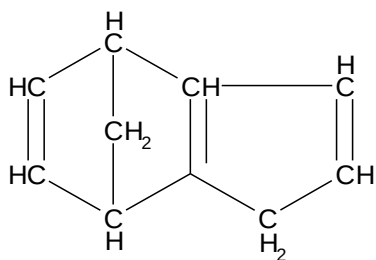
Цель исследования - разработка ЭПР томографической методики контроля физико-химических свойств различных участков массивных неоднородных материалов и применение ее к промышленно важным этиленпропиленовым каучукам.

Экспериментальная часть

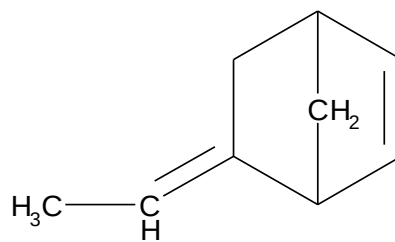
В качестве объектов исследования использовались этиленпропиленовые каучуки двух различных марок.

Первый каучук - тройной этиленпропиленовый сополимер *Keltan 5470P* «Lanxess» (Германия) (далее в тексте *EPDM E*) с содержанием этилена – 69,6%, и в котором в качестве диеновых звеньев используется 2-этилен-5-норборнен, в количестве 4,6%.

Второй использованный каучук – тройной этиленпропиленовый сополимер *Keltan 6160D* «Lanxess» (Германия) (далее в тексте *EPDM D*) с содержанием этилена – 70%, в котором в качестве диеновых звеньев используется дициклопентадиен в количестве 1,2%.



(1)



(2)

Рис. 1. Структурные формулы диеновых звеньев, входящих в этиленпропиленовые каучуки: (1) 2-этилен-5-норборнен, (2) дициклопентадиен.

Вулканизация проводилась при температуре 171⁰С в прессе в течение 15 минут. По окончании вулканизации образцы представляли собой полимерные пластинки размерами 24х24х3 мм.

ЭПР томограммы регистрировались при температуре 70⁰С на модифицированном спектрометре Radioran, оборудованным градиентными катушками. Регистрация проводилась при значении линейного градиента магнитного поля 201,9 Гс/см.

Результаты

На рисунке 2 представлено распределение концентрации нитроксильных радикалов, возникающих из затрудненных аминов, по глубине образцов *EPDM E* (1) и *EPDM D* (2) при их термической обработке при 160⁰ С.

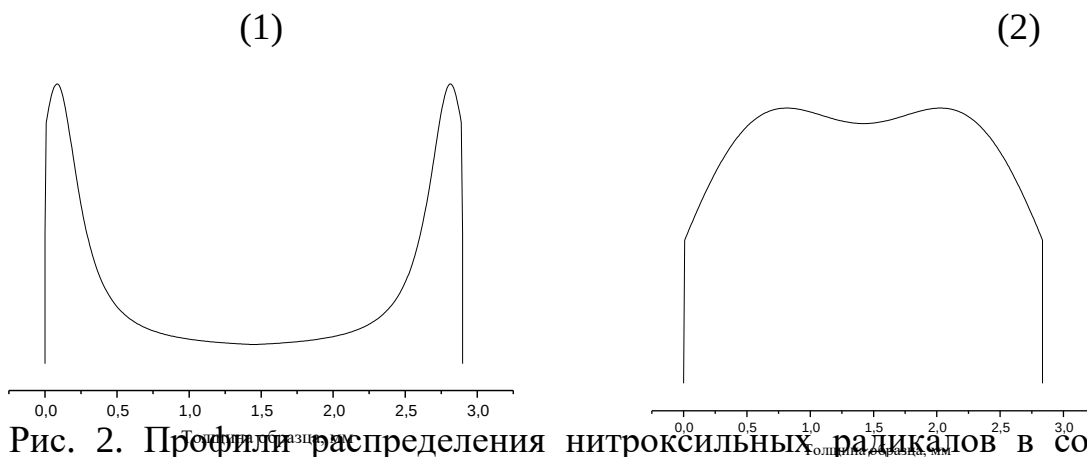


Рис. 2. Профили распределения нитроксильных радикалов в сополимерах *EPDM E* (1) и *EPDM D* (2) при их термоокислении при 160⁰ С в течение 44 часов.

Сравнение ЭПР томографических результатов, полученных для сополимеров *EPDM E* и *EPDM D*, позволяет сделать следующие **выводы**:

- При термической обработке сополимера *EPDM E* окислению подвергаются только его поверхностные слои, в то время как максимальная концентрация продуктов окисления в сополимере *EPDM D* наблюдается между центром

образца и поверхностью;

- Режимы термоокисления сополимеров *EPDM E* и *EPDM D* разные. Если для первого сополимера термоокисление протекает в диффузионно-ограниченном режиме, то для второго – в «квазидиффузионном». Это означает, что сополимер *EPDM E* более подвержен термоокислению, чем *EPDM D*.
- При термоокислении сополимера *EPDM E* доминирует процесс сшивания макромолекул, в то время как для *EPDM D* он не является основным.

Литература:

1. Emanuel N.M., Buchachenko A.L., Chemical Physics of Molecular Destruction and Stabilization of Polymer. Utrecht, Netherlands: VNU Science Press; 1987.
2. Pospisil J., Aromatic and heterocyclic amines and polymer stabilization, Adv Polym Sci, 1995, 124, p. 87.
3. Schlick S., Motyakin M.V., “ESR Imaging beyond phantoms: Application to polymer degradation”, in *Specialist Periodical Reports - Electron Paramagnetic Resonance*, Eds. B.C. Gilbert, M.J. Davies, and D.M. Murphy, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2007, vol. 20, p. 1-28.

МЕХАНИЗМЫ АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ α -ЛИПОВОЙ КИСЛОТЫ В МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМАХ

Лотош Н.Ю*., Селищева А.А., Стрельцов Д. Р., Кулебякина А. И.

НИИ «Курчатовский институт», 123182, Москва, пл. Ак. Курчатова, 1;

тел: +7 (499) 196–95–39

** e-mail: natalotosh@gmail.com*

α -Липоевая кислота (ЛК) (рис.), участвующая как кофермент в дегидрогеназных реакциях, получила широкое применение в качестве антиоксиданта при лечении осложнений многих воспалительных заболеваний, которым сопутствует окислительный стресс.

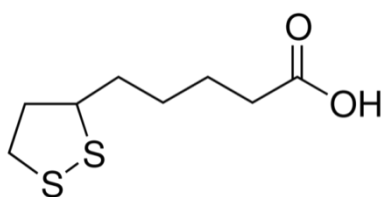


Рисунок. α -Липоевая кислота.

Экзогенная ЛК проникает в клетки, восстанавливается там до дигидролипоевой кислоты, которая является истинным антиоксидантом и способна восстанавливать окисленный глутатион и взаимодействовать с активными формами кислорода [1]. Однако, антиоксидантный механизм самой ЛК изучен недостаточно.

В работе оценивали действие ЛК на перекисное окисление фосфатидилхолина (ФХ) в присутствии H_2O_2 и Fe^{2+} (реакция Фентона); методом масс-спектрометрии исследовали взаимодействие ЛК с ионами двухвалентного железа; методами спектроскопии комбинационного рассеяния и ИК-спектроскопии исследовали изменения в структуре ЛК при окислении, инициированном реакцией Фентона.

Влияние ЛК на перекисное окисление липидов (ПОЛ) (т.е. взаимодействие ЛК с гидроксил-радикалом $\text{OH}\cdot$) определяли по содержанию малонового диальдегида (МДА) при окислении мультиламеллярных эмульсий из ФХ (12.5 мМ) в реакции Фентона (Fe^{2+} 0.1 мМ, H_2O_2 1 мМ).

Окисление проводили в течение 3 часов при 37 °С в присутствии водного раствора ЛК с концентрацией от 0.06 до 4 мМ. Ингибирующее действие на ПОЛ оказывала только самая большая концентрация ЛК - 4 мМ: содержание МДА снижалось более чем на 70%. Низкие концентрации были неэффективны. Стоит отметить, что 4 мМ – это максимальная концентрация ЛК, которую можно достичь в водном растворе.

Механизм подавления ПОЛ можно объяснить тем, что ЛК хелатирует ионы железа [2] или взаимодействует с гидроксил-радикалом [1]. Предполагают, что при этом происходит окисление ЛК, однако конкретные сведения по этому вопросу отсутствуют.

При исследовании водного раствора ЛК (4 мМ) методом ВЭЖХ-МС с тройным квадрупольным детектором было обнаружено, что наряду с мономерами присутствуют свободные и связанные с ионами натрия и калия димеры и тримеры ЛК, т.е. образуется неидеальный раствор. При исследовании масс-спектров раствора ЛК в присутствии 0.1 мМ Fe^{2+} были обнаружены масс-ионы, отсутствующие в исходном спектре ЛК: в позитивной ионизации - 261.1, 467.2, 727.1; в негативной - 671.0. Предположили, что ионы мономера, димера и тримера ЛК хелатируют ионы Fe^{2+} с образованием новых соединений. В данной работе впервые методом масс-спектрометрии показали, что ЛК может образовывать различные комплексы с ионами железа. Таким образом, антиоксидантное действие ЛК можно объяснить не только прямым взаимодействием с гидроксил-радикалом, о чем было высказано предположение ранее, но и хелатированием ионов железа, что должно привести к уменьшению образования $\text{OH}\cdot$.

Изменения в строении молекулы ЛК вследствие окисления H_2O_2 , Fe^{2+} и в реакции Фентона исследовали методом спектроскопии комбинационного рассеяния и методом ИК-спектроскопии. Образцы ЛК окисляли в условиях, указанных выше, затем замораживали и лиофилизировали. Методом спектроскопии комбинационного рассеяния показали, что при окислении ЛК

изменяется соотношение интенсивностей полос, соответствующих -S-S- (ок. 500 см^{-1}) и -COOH (ок. 1400 см^{-1}) группам по сравнению с не окисленной ЛК: $I_{\text{S-S}}/I_{\text{COOH}}$ при окислении уменьшается с 2.2 ± 0.1 до 1.6 ± 0.2), т.е. ЛК окисляется и количество S-S групп уменьшается, вероятно, вследствие образования сульфокислот.

При изучении ИК-спектра порошка ЛК, окисленной в присутствии H_2O_2 и Fe^{2+} обнаружено появление новых полос, соответствующих 1077 и 1027 см^{-1} , что является доказательством окисления S-S связей до сульфоксида $>\text{S}=\text{O}$ (с сохранением S-S связи) или до сульфиновой кислоты $-\text{SO}-\text{OH}$ (с разрывом S-S связи) [3].

В данной работе применен комплексный подход к решению вопроса о механизмах антиоксидантного действия липоевой кислоты, благодаря чему установили, что при окислении ЛК в присутствии H_2O_2 и Fe^{2+} ЛК способна образовывать комплексы с ионами двухвалентного железа и окисляться гидроксил радикалом до сульфокислот, снижая ПОЛ.

Литература.

1. Packer L., Witt E.H., Tritschler H.J. Alpha lipoic acid as a biological antioxidant// Free Radic. Biol. Med. 1995. V. 19. № 2. P. 227-250.
2. Mendes P.R., Félix Ddos S., Silva P.C., Pereira G.H., Simões M.O. Effect of alpha lipoic acid on the blood cell count and iron kinetics in hypertensive patients // Nutr. Hosp. 2015. V. 31. № 2. P. 883-889.
3. G. Socrates. Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies: Tables and Charts. John Wiley & Sons, England. 2004, P. 362

ОЦЕНКА ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ СТАБИЛЬНОСТИ НОВЫХ ГИДРАВЛИЧЕСКИХ МАСЕЛ

Петров Л.В.¹, Психа Б.Л.¹, Тыщенко В.А.², Шейкина Н.А.²

¹*Институт проблем химической физики РАН, г. Черноголовка*

²*Средневолжский НИИ по нефтепереработке, г. Новокуйбышевск*

E-mail: psi@icp.ac.ru

В качестве гидравлических жидкостей в системах управления ракетно-космической техники применяют минеральные маловязкие масла, основным требованием к которым является продолжительность ресурса работы. Для обеспечения этого требования гидравлические масла должны обладать рядом важных характеристик, в частности, высокой термоокислительной стабильностью.

Гидравлическое масло получают добавлением в специальную углеводородную основу антиокислительной присадки. Таким образом, качество масла зависит как от окислительной стабильности этой основы, так и от эффективности действия антиокислительной присадки. В [1-2] была разработана методика исследования механизма окисления углеводородных основ гидравлических масел. Изучен механизм окисления углеводородной основы масла МГ-7-Б. При 120, 130, 140°C идентифицированы ключевые реакции в механизме окисления, определены численные значения и энергии активации кинетических параметров. Получена математическая модель процесса окисления, которая количественно описывает экспериментальные кривые поглощения кислорода и накопления гидропероксидов и может служить основой для количественного изучения механизма действия ингибиторов в масле МГ-7-Б.

В [3-4] была детально исследован механизм тормозящего действия двух антиоксидантов – дифениламина и ионола. В механизме обоих антиоксидантов идентифицированы ключевые реакции и определены соответствующие кинетические параметры. Полученная математическая

модель процесса количественно описывает кинетические кривые поглощения кислорода в процессе авто- и инициированного окисления гидравлического масла МГ-7-Б в широком диапазоне изменения начальных условий (концентрации антиоксиданта, скорости инициирования, содержания гидропероксидов в образце).

В результате проведенной работы были заложены теоретические основы прогнозирования окислительной стабильности гидравлических масел. Для разработки методов практического прогнозирования необходимо было установить связь между данными по окислительной стабильности, полученными в лабораторных условиях, и результатами стандартных испытаний качества масел, в частности, – ускоренных климатических испытаний (УКИ), которые имитируют различные условия и сроки хранения масел (15, 20, 25, 30, 35, 40 лет). Сущность УКИ заключается в выдерживании металлической пластинки в испытуемом продукте при температуре 70°C. В качестве металлов используются сталь, алюминиевые и медные сплавы. В ходе УКИ фиксируется изменение внешнего вида пластинки, характеризующего коррозионное воздействие масла на металл, а также определяются характеристики качества гидравлических масел.

В [5-6] были выработаны основные показатели, характеризующие окислительную стабильность образцов гидравлического масла, прошедших ускоренные климатические испытания и проведено исследование окислительной стабильности нового масла МГ-7-Б в процессе УКИ. В соответствии с разработанной методикой были определены:

- концентрация гидропероксидов, накопившихся в образце в процессе УКИ;
- остаточная концентрация ингибитора – дифениламина в образце после УКИ
- кинетические закономерности окисления образцов масел, прошедших ускоренные климатические испытания.

Результаты исследования показали, что по окислительной стабильности новое масло МГ-7-Б превосходит старый образец и сопоставимо с эталонным гидравлическим маслом РМ.

Работа выполнена по теме государственного задания (№ гос. регистрации 01201361859) и за счет средств договора между ИПХФ РАН и СвНИИ НП № 621/16/17061 от 30.11.2016.

Литература

1. Тыщенко В.А., Психа Б.Л., Харитонов В.В., Шабалина Т.Н., Шейкина Н.А. // Нефтехимия. 2003. Т. 43. № 5. С. 366 – 372.
2. Шейкина Н.А., Петров Л.В., Психа Б.Л., Харитонов В.В., Тыщенко В.А., Шабалина Т.Н. // Нефтехимия. 2004. Т. 44. № 4. С. 284 – 288.
3. Шейкина Н.А., Петров Л.В., Психа Б.Л., Харитонов В.В., Тыщенко В.А., Шабалина Т.Н. // Нефтехимия. 2005. Т. 45. № 4. С. 310 – 314.
4. Шейкина Н.А., Петров Л.В., Психа Б.Л., Харитонов В.В., Тыщенко В.А., Шабалина Т.Н. // Нефтехимия. 2006. Т. 46. № 1. С. 37 – 43.
5. Петров Л.В., Психа Б.Л., Соляников В.М., Харитонов В.В., Тыщенко В.А., Шейкина Н.А. // Высокие технологии, исследования, образование, экономика. Санкт-Петербургский политехнический университет. 2012. Т.1. С. 132-135.
6. Петров Л.В., Психа Б.Л., Тыщенко В.А., Шейкина Н.А., Куликова И.А., Гаврилова И.А. // Сборник тезисов докладов XII Международной конференции молодых ученых по нефтехимии. М.: ИНХС РАН, 2018. С. 721-725

КИНЕТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ДОНОРОВ ОКСИДА АЗОТА С ЭРИТРОЦИТАМИ

Психа Б.Л., Нешев Н.И., Соколова Е.М., Санина Н.А.

Институт проблем химической физики РАН, г. Черноголовка

E-mail: psi@icp.ac.ru

Синтетические нитрозильные комплексы железа (СНКЖ) представляют большой интерес для создания лекарственных препаратов в качестве потенциальных доноров оксида азота [1]. В отношении сердечно-сосудистой системы фармакологический эффект экзогенных доноров NO реализуется в кровеносных сосудах, клеточное содержимое которых на 90 процентов состоит из эритроцитов. В настоящей работе суспензия эритроцитов использована в качестве модельной системы для исследования свойств нитрозильных комплексов железа с тиолсодержащими лигандами.

Экспериментальной основой настоящей работы послужили ранее выполненные исследования кинетики образования внутриэритроцитарного метгемоглобина в реакции оксигемоглобина с оксидом азота, выделяющимся при разложении СНКЖ [2, 3]. В качестве СНКЖ были использованы:

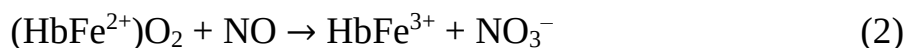
- нейтральные комплексы состава $[\text{Fe}_2(\text{SR})_2(\text{NO})_4]$, где R – бензотиазол-2-ил (БТЗ), 1-метил-имидазол-2-ил (МИМ) и пиримидин-2-ил (ПИМ);
- неорганический анионный тиосульфатсодержащий комплекс ТНК $\text{Na}_2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$;
- катионные комплексы, содержащие в качестве S-лигандов цистеамин $[\text{Fe}_2(\text{S}(\text{CH}_2)_2\text{NH}_3)_2(\text{NO})_4]\text{SO}_4 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ (ЦАК) и пеницилламин $[\text{Fe}_2(\text{S}(\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{NH}_3)\text{COOH}))_2(\text{NO})_4]\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (ПЕН).

С каждым комплексом были проведены две серии кинетических экспериментов. В первой серии варьировали концентрацию СНКЖ, сохраняя неизменным гематокрит суспензии (объемное процентное содержание

клеток). Во второй серии варьировали гематокрит, сохраняя неизменной концентрацию комплекса.

Целью данной работы была разработка кинетической модели, количественно описывающей образование метгемоглобина в процессе взаимодействия СНКЖ с суспензией эритроцитов.

В результате исследования и решения соответствующей обратной задачи предложена кинетическая модель процесса, которая включает реакции (1), (1') выделения NO из комплекса в раствор, взаимодействие NO с оксигемоглобином внутри эритроцита (2) и растворенным кислородом (3), а также адсорбцию комплексов (кроме ПЕН) на поверхности эритроцитов (4):



Здесь A – исследуемый комплекс; $(\text{HbFe}^{2+})\text{O}_2$ – оксигемоглобин; HbFe^{3+} – метгемоглобин; Er – центры адсорбции на поверхности эритроцитов, Er-A – нитрозильный комплекс, адсорбированный на мембране эритроцита.

Константы скорости реакций (2) и (3) известны из литературы: $k_2 = 5.2 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ [4], $2k_3 = 8.8 \cdot 10^6 \text{ M}^{-2} \text{ c}^{-1}$ [5]. В результате численных исследований были оценены значение константы равновесия $K_4 = 5 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}$ и концентрация центров связывания на поверхности эритроцитов, выраженное относительно концентрации оксигемоглобина $[\text{Er}] = 0.3 \cdot [(\text{HbFe}^{2+})\text{O}_2]$.

Таким образом, по экспериментальным данным необходимо было определить параметры донирования NO – константы скорости k_1 , k_1' и стехиометрический коэффициент β . В таблице приведены средние значения кинетических параметров, полученные в двух сериях опытов для каждого из рассматриваемых комплексов.

Таблица. Кинетические параметры разложения нитроксильных комплексов железа в суспензии эритроцитов

Комп-лекс	БТЗ	МИМ	ПИМ	ТНК	ЦАК	ПЕН
$k_1 \cdot 10^4 \text{ с}^{-1}$	-	-	0.92 ± 0.02	69 ± 1	4.7 ± 0.3	≈ 800
$k'_1 \text{ М}^{-1}\text{с}^{-1}$	4.7 ± 0.4	7.0 ± 0.5	1.8 ± 0.2	-	-	-
β	2.0 ± 0.1	2.0 ± 0.1	3.0 ± 0.2	0.48 ± 0.05	3 ± 1	3.4 ± 0.3

Из таблицы следует, что разложение комплексов ТНК, ЦАК и ПЕН происходит по реакции 1-го порядка (1); разложение комплексов БТЗ и МИМ – по реакции 2-го порядка (1'), а в механизме разложения комплекса ПИМ присутствуют обе реакции (1) и (1'). Видно также, что значение k_1 у ПЕН на порядок больше, чем у ТНК и на два порядка больше, чем у ЦАК, а наименьшее число групп NO в рассматриваемых условиях выделяется у ТНК ($\beta = 0.48$).

Работа выполнена по теме государственного задания (№ гос. регистрации 01201361859).

Литература

1. Алдошин С.М., Санина Н.А., Давыдов М.И., Чазов Е.И. // Вестник РАН. 2016. Т. 86. С. 495.
2. Нешев Н.И., Психа Б.Л., Соколова Е.М. Санина Н. А., Руднева Т. Н. // Изв. АН. Сер. хим. 2014. № 9. С. 2020.
3. Нешев Н.И., Психа Б.Л., Соколова Е.М., Санина Н. А., Руднева Т. Н. // Изв. АН. Сер. хим. 2016. № 3. С. 779.
4. Liu X., Miller M.J.S., Joshi M.S. et al. // J. Biol. Chem. 1998. V. 273. P. 18709.
5. Погребная В.Л., Усов А.П., Баранов А.В., Нестеренко А.И., Безъязычный А.П. // ЖПХ. 1975. Т. 48. С. 954.

2,6-ДИАМИНОПИРИДИНЫ, СОДЕРЖАЩИЕ В ЯДРЕ ПРОСТРАНСТВЕННО-ЗАТРУДНЕННЫЙ БЕНЗИЛФОСФОНАТНЫЙ ФРАГМЕНТ-В КАЧЕСТВЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ АНТИОКСИДАНТНЫХ И ПРОТИВОРАКОВЫХ АГЕНТОВ

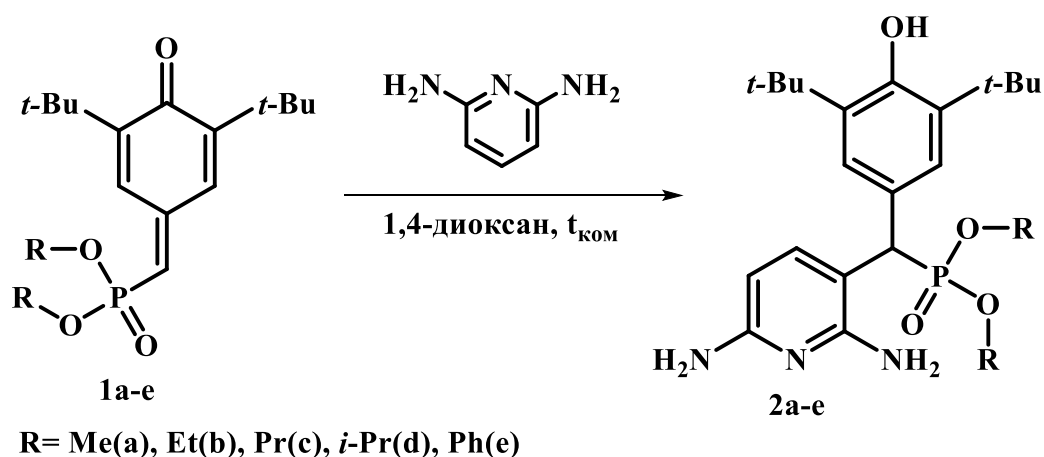
Нгуен Тхи Тху^{1,2}, Гибадуллина Э.М.¹, Бурилов А.Р.^{1,2}

¹ИОФХ им. А.Е.Арбузова – обособленное структурное подразделение ФИЦ
КазНц РАН, 420088, г. Казань, ул. Академика Арбузова, д. 8.

²Казанский Национальный Исследовательский Технологический
Университет, 420015, г. Казань, ул. Карла Маркса, д. 68;

Email: nguyenthuthu2021991@gmail.com

Антиоксидантные вещества играют важную роль при лечении большого числа заболеваний, в том числе при раковых. Лекарственные средства, содержащие в своем составе пространственно-затрудненный фенольный фрагмент, могут приводить к повышению их активности и снижению токсичности. В данной работе создание новых соединений, проявляющих антиоксидантную и противоопухолевые активности, основано на сочетании в одной молекуле 2,6-диаминопиридина пространственно-затрудненной фенольной и фосфорильной групп. В результате взаимодействий диалкил/дифенил(3,5-ди-*трет*-бутил-4-оксоциклогекса-2,5-диенилиден)метилфосфонатов **1a-e** с 2,6-диаминопиридином в среде диоксана при комнатной температуре получены новые производные 2,6-диаминопиридина, содержащие в ядре фосфорильные пространственно-затрудненные фенольные фрагменты **2a-e**.



Для всех синтезированных соединений нами были изучены антиоксидантная активность и цитотоксичность *in vitro* по отношению нормальной клеточной линии человека (Chang liver) и опухолевых линий эпителиоидной карциномы шейки матки (M-Hela), аденокарциномы молочной железы (MCF₇). Показано, что производные 2,6-диаминопиридина проявляют высокую антиоксидантную, противоопухолевую активности (M-Hela- IC₅₀ 7.4-38.0 μM; MCF₇- IC₅₀ 16.0-34.2 μM) и низкую токсичность на нормальных клетках печени человека (Chang liver). Установлено, что все исследованные соединения не обладают гемолитической активностью.

ВЛИЯНИЕ НАНОЭМУЛЬСИЙ α -ЛИПОВОЙ КИСЛОТЫ НА АГРЕГАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ И НА НАКОПЛЕНИЕ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ

Щелконогов В.А.^{1,2,3}, Шипелова А. В.¹, Синебрюхова А.М.¹, Дарнотук Е.С.¹, Шастина Н.С.¹, Баранова О.А.^{2,3}, Чеканов А.В.^{2,3}, Казаринов К.Д.³, Селищева А.А.², Соловьева Э.Ю.², Федин А.И.²

¹ МИРЭА-Российский технологический университет (ИТХТ), РФ, Москва, 119571, пр. Вернадского, д.86, e-mail: vasily9999@yandex.ru

² ФГБОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова Минздрава России. ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, РФ, 117997.

³ Фрязинский филиал ФГБУН «Институт радиотехники и электроники имени В. А. Котельникова» РАН. пл. Введенского, д. 1, Московская область, г. Фрязино, РФ.

Сосудистые заболевания головного мозга остаются одной из наиболее актуальных проблем современной медицины. Ежегодно в мире регистрируется около 15 миллионов случаев инсульта, из них 7 миллионов являются смертельными, а остальные глубоко и длительно инвалидизирующими [1]. Изучение роли факторов воспаления в патогенезе инсульта, а также изучение действия новейших лекарственных препаратов, снижающих повреждающее воздействие воспаления и связанного с ним окислительного стресса, являются наиболее актуальными направлениями современных исследований. Одним из наиболее универсальных и перспективных антиоксидантов, применяющихся при комплексной терапии ишемии головного мозга, в настоящее время является α -липоевая кислота (α -ЛК) [2].

Целью данной работы является получение наноэмульсий, содержащих α -липоевую кислоту, а также изучение влияния полученных ЛК-наноэмульсий на агрегацию тромбоцитов и на подавление продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме человека.

Ранее были получены α -ЛК липосомы, характеризующиеся 85%-ной эффективностью включения субстанции и стабильностью при длительном хранении. Также было изучено антиагрегационное действие α -ЛК липосом [3,4].

В настоящей работе были получены и охарактеризованы α -ЛК наноэмульсии (НЭ), было изучено их влияние на агрегацию тромбоцитов и на накопление продуктов ПОЛ в плазме крови человека.

Прямые наноэмульсии («масло-в-воде») с α -ЛК получали методом диспергирования под действием ультразвука, после инъекции фосфатного буферного раствора (ПБС) стабилизатора, с последующим удалением органического растворителя и избытка воды с целью увеличения концентрации α -ЛК в наночастицах (НЧ). Индекс полидисперности (ИП), размер и ζ -потенциал НЧ определяли методом динамического и электрофоретического светорассеяния. В результате проведенных исследований были получены α -ЛК наноэмульсии на основе фосфатидилхолина (соотношение ФХ:ЛК=1:2, α -ЛК-ФХ), из 0,4% Плуороника Ф68 (α -ЛК-Ф68) и из ФХ, Ф68 (α -ЛК-ФХ-Ф68) в ПБС, (рН 7.4), характеризующиеся стабильностью при комнатной температуре в течение 8–12 месяцев. Размер ФХ и α -ЛК-ФХ нанодисперсий (НД) колебался в диапазоне 100–190 нм, а среднее значение ИП–0.25, что подтверждало их однородность. α -ЛК НЭ на основе Ф68 (α -ЛК-Ф68 и α -ЛК-ФХ-Ф68) были гетерогенными (ИП>0.3) и содержали 2 фракции НЧ: 50–90 нм (10–20%) и 130–250 нм (80–90%). Кроме того, НЭ на основе Ф68 были более стабильными по сравнению с фосфатидилхолиновыми НЭ. Полученные α -ЛК-НЭ были электронейтральными (значения ζ -потенциала не превышали -5,5 мВ). Необходимо отметить, что концентрация α -ЛК в НЭ была в 1.5 раза больше, чем в ранее полученных нами ЛК-липосомах [3].

Методом оптической агрегатометрии были проведены сравнительные исследования влияния полученных НЭ с α -ЛК, на агрегацию тромбоцитов (Тц) в плазме крови, взятой у здоровых доноров. В качестве индуктора агрегации Тц использовали арахидоновую кислоту (АК). В результате проведенных исследований было показано, что α -ЛК-ФХ НЭ ($C_{\alpha\text{-ЛК}}=1.3\text{--}3.8$ мМ), уменьшали агрегацию Тц, вызванную АК, на 35–70%. Кроме того, α -ЛК НЭ, содержащие Ф68 (α -ЛК-Ф68 и α -ЛК-ФХ-Ф68) эффективней α -ЛК-ФХ

НЭ ингибировали агрегацию Тц (50–80%), обусловленную этим индуктором. Вместе с этим было установлено, что ФХ ($C_{\text{ФХ}}=0.16\text{--}0.5$ мМ) и Ф68 (0.05–1.4%) НЭ, не содержащие α -ЛК практически не оказывали влияния на агрегацию Тц.

Антиоксидантное действие α -ЛК НЭ оценивали по содержанию тиобарбитурат активных продуктов (ТБК-АП) в образцах обогащенной Тц плазмы (ОТП), инкубированными с АК. В результате исследований было выявлено, что в процессе агрегации Тц, обусловленной АК, происходит окисление липидов в ОТП. При этом, добавление всех типов α -ЛК НЭ ($C_{\alpha\text{-ЛК}}=1.3\text{--}3.8$ мМ) к образцам плазмы крови приводило к значительному уменьшению концентрации ТБК-АП (в 3.5–7.5 раз). Кроме того, было обнаружено, что ФХ и Ф68 НЭ, не содержащие α -ЛК незначительно влияли на образование продуктов ПОЛ в плазме крови, при активации Тц АК. Предполагаемым механизмом антиагрегационного действия α -ЛК наноэмульсий можно считать ингибирование ею процесса инициирования продуктов ПОЛ при наличии экзогенно индуктора АК.

Предполагается, что после проведения дополнительных исследований полученные α -ЛК нанодисперсии возможно использовать при комплексной терапии ишемии головного мозга.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Benjamin E.J., Virani S.S., Callaway C.W., Chamberlain A.M., Chang A.R., Cheng S., Chiuve S.E., Cushman M., Delling F.N., Deo R., et al. Heart disease and stroke statistics-2018 update: a report from the American Heart Association. //Circulation. 2018, vol. 137, no.12, 67–492.
2. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. //М.: "Медицина", 2001, 328 с.
3. Щелконогов В.А., Сорокоумова Г.М., Баранова О.А. и др. Липосомальная форма липоевой кислоты: получение и определение антиагрегационной и антиоксидантной активности. //Биомедицинская химия. 2016, том 62, №5, С. 577-583, DOI: 10.18097/PBMC20166205577
4. Щелконогов В.А., Сорокоумова Г.М., Баранова О.А. и др. Взаимодействие липосомальной формы липоевой кислоты с компонентами крови человека. // IX Международный конгресс "Биотехнология: состояние и перспективы развития", Москва, 2017, 20-22 февраля. Т.2, с.579-580 с.

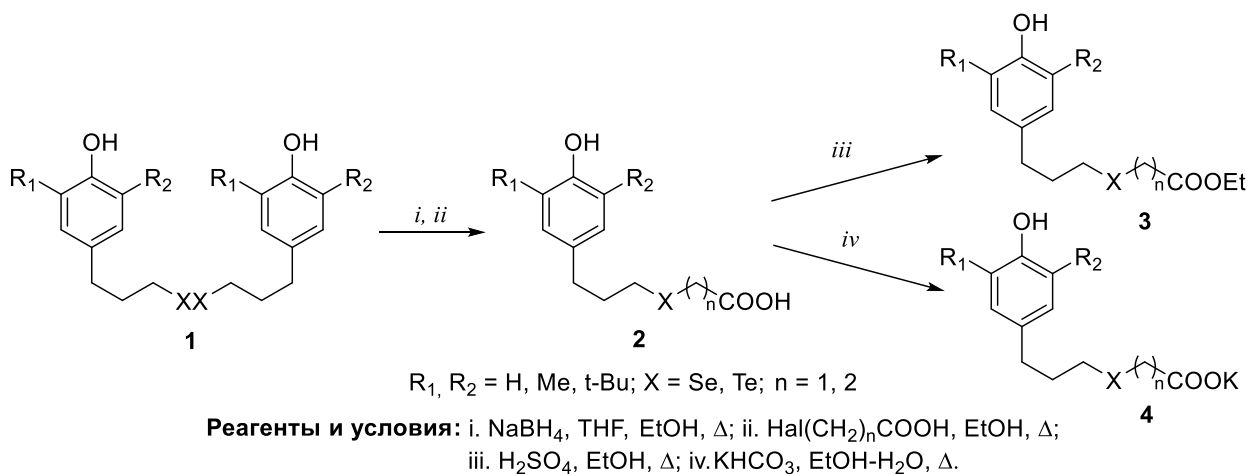
СИНТЕЗ СЕЛЕН- И ТЕЛЛУРСОДЕРЖАЩИХ АНАЛОГОВ ФЕНОЗАН-КИСЛОТЫ

Хольшин С.В., Ягунов С.Е., Кандалинцева Н.В., Просенко А.Е.

*Новосибирский Государственный Педагогический Университет
630126, Россия, Новосибирск, Вилюйская, 28, (383) 244-18-56,
E-mail: s.kholshin@gmail.com*

Фенозан-кислота (3-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксифенил)пропионовая кислота) является фенольным антиоксидантом гидрофильной природы, проявляющим выраженные биологические свойства и являющимся действующим веществом в составе лекарственного средства Дибуфелон.

В настоящей работе представлены новые селен- и теллурсодержащие аналоги фенозан-кислоты **2**, синтезированные из дихалькогенидов **1**. На основе кислот **2** получены соответствующие этиловые эфиры **3** и калиевые соли **4**.



Синтезированные селенсодержащие производные проявляли выраженную противопероксидную активность в модельной реакции разложения гидропероксида кумола, а также достоверно снижали уровень цитотоксических продуктов свободнорадикального перекисного окисления липидов в легочной ткани крыс в модели хронического глюкокортикоид-индуцированного окислительного стресса.

ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ АНАЛОГИ ТОКОФЕРОЛОВ НА ОСНОВЕ 5-ГИДРОКСИ-2,3-ДИГИДРОБЕНЗОФУРАНА

Ягунов С. Е., Хольшин С. В., Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е.

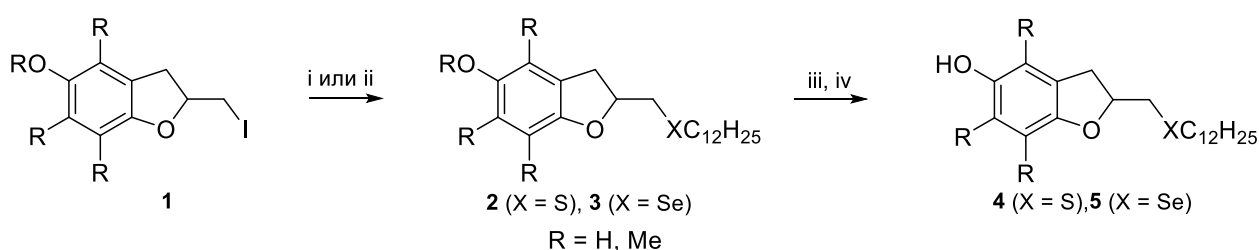
Новосибирский Государственный Педагогический Университет

630126, Россия, Новосибирск, Виллюйская, 28, (383) 244-18-56,

E-mail: syagunov@yandex.ru

В последние десятилетия возрос интерес к антиоксидантам как средствам профилактики и лечения заболеваний, ассоциированных с окислительным стрессом. К числу перспективных направлений разработки высокоэффективных антиоксидантов для биологии и медицины относится создание гибридных структур, сочетающих в своей структуре фрагменты эффективных природных антиоксидантов с халькогенсодержащими группами [1, 2].

В рамках этого подхода на основе иодидов **1**, через промежуточное получение сульфида **2** и селенида **3**, осуществлен синтез ряда серо- и селен-содержащих производных 5-гидрокси-2,3-дигидробензофурана **4** и **5** – структурных аналогов токоферолов [3-5].



Реагенты и условия: i. $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{SH}$, NaOH, EtOH, 40°C ; ii. $(\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{Se})_2$, NaBH_4 , EtOH, Δ ;
iii. BBr_3 , DCM, комн. темп.; iv. PhMe, Δ .

В модельной реакции инициированного окисления стирола для 5-гидрокси-2,3-дигидробензофуранов **4** и **5** измерены константы скорости взаимодействия с пероксидными радикалами (k_7) и стехиометрические коэффициенты ингибирования. На основе констант k_7 по методу пересекающихся парабол рассчитаны энергии связи O—H. В модельной реакции термического автоокисления метилолеата селенсодержащие

производные **5** по ингибирующей способности превосходили свои серосодержащие аналоги **4** в 9—14 раз и в 19—20 раз α -токоферол.

Высокое противooksидлительное действие селенсодержащих 5-гидрокси-2,3-дигидробензофуранов **5** вероятно связано с проявлением синергетических эффектов. Наличие ярко выраженного синергизма между 2-метил-5-гидрокси-2,3-дигидробензофураном и органическим селенидом было показано нами в соответствующих бинарных композициях (рис. 1).

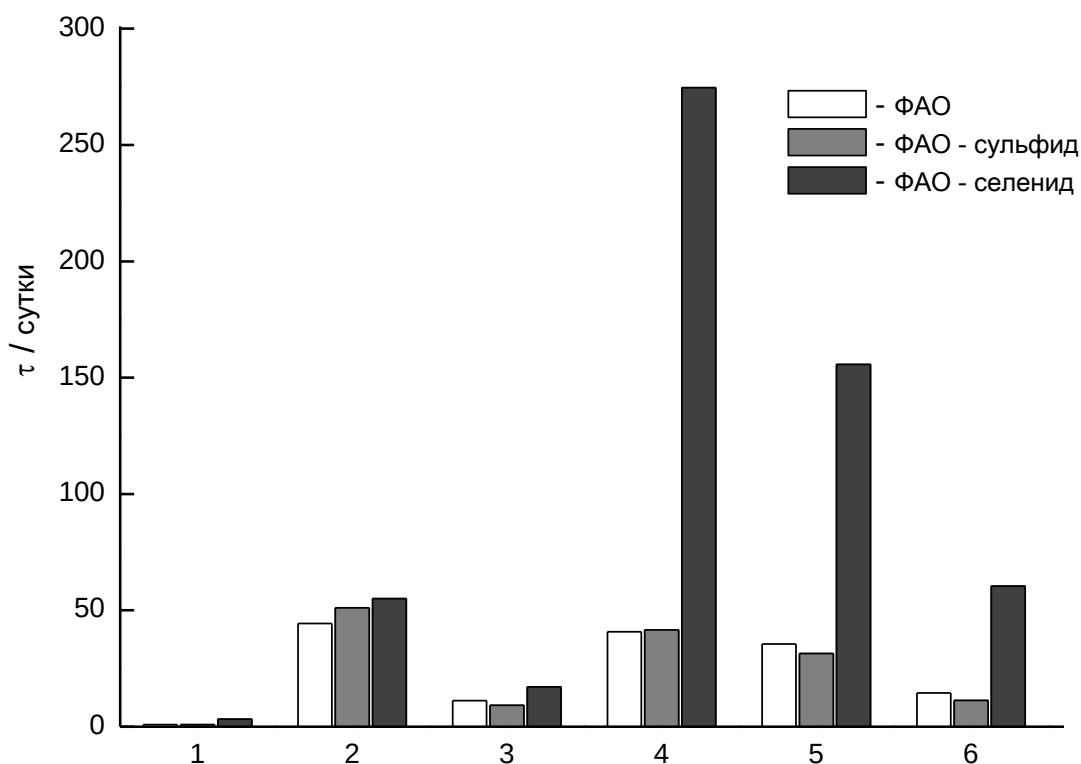


Рис. 1. Периоды индукции автоокисления метилолеата при 60°C, ингибированного фенолами (2 мкмоль/г) и их композициями (1:1) с бис-додецилсульфидом и бис-додецилселенидом: контроль (1), ионол (2), 2,4,6-триметилфенол (3), БОА (4), 2-метил-5-гидрокси-2,3-дигидробензофуран (5), α -токоферол (6).

Литература

1. S. Kumar, J. Yan, J.-F. Poon, V. P. Singh, X. Lu, M. Karlsson Ott, L. Engman, S. Kumar, Angew. Chem. Int. Ed., 2016, 55, 3729.
2. J.-F. Poon, V. P. Singh, J. Yan, L. Engman, Chem. Eur. J., 2015, 21, 2447.
3. Ягунов С. Е., Хольшин С. В., Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е., Изв. АН, Сер. хим., 2017, 1024.
4. Ягунов С. Е., Хольшин С. В., Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е., Изв. АН, Сер. хим., 2018, 844.
5. Ягунов С. Е., Хольшин С. В., Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е., Изв. АН, Сер. хим., 2018, 1452.

СИНТЕЗ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА (ДОДЕЦИЛСУЛЬФАНИЛ)МЕТИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ КВЕРЦЕТИНА

Т.К. Багавиева¹, Е.В. Вологодина¹, А.Е. Просенко^{1,2}

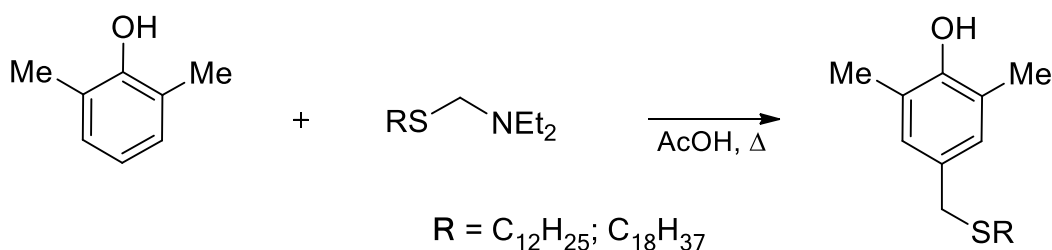
¹Новосибирский государственный педагогический университет,
Россия, 630126 Новосибирск, ул. Виллюйская, 28, E-mail:
bagavieva.tanya@mail.ru

²Новосибирский институт антиоксидантов,
Россия, 630091 Новосибирск, ул. Красный проспект, 54а.

Модификация серосодержащими группами природных антиоксидантов – флавоноидов является одним из перспективных направлений создания высокоэффективных антиоксидантов для использования в биологии и медицине.

Ранее разработан простой и эффективный способ введения алкилтиометильных групп по реакции фенолов с алкилтиометилсульфидом [1] (схема 1).

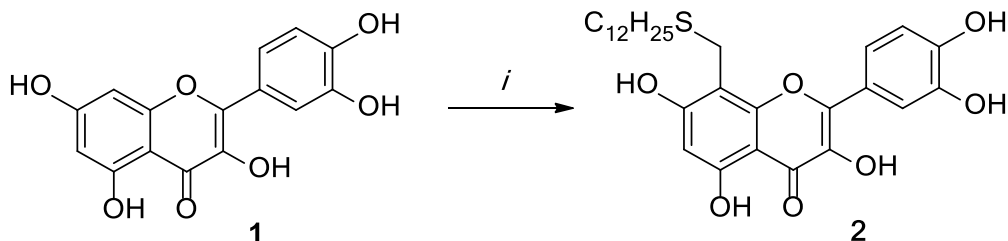
Схема 1



В последние годы данный подход был успешно использован для синтеза тиопроизводных на основе 5-гидроксидигидробензофуранов и 6-гидроксикхроманов. [2].

В недавней работе [3] нами показана возможность модификации кверцетина **1** (додецилсульфанил)метильной группой с помощью (N,N-диэтиламинометил)додецилсульфида, что позволило получить тиопроизводное **2** с 65 % выходом. (схема 2).

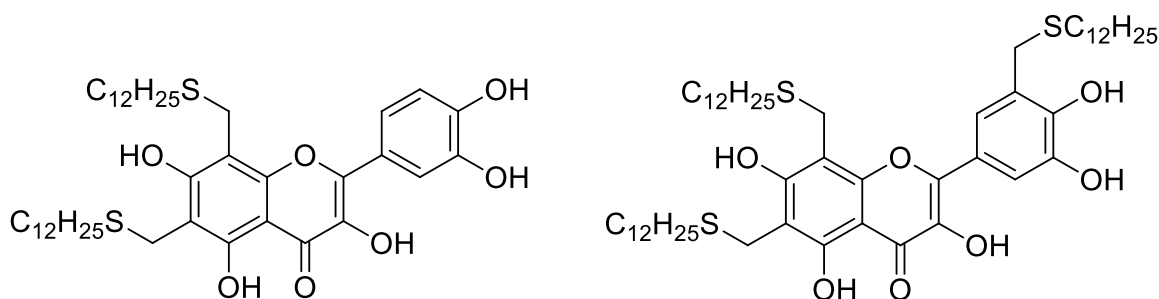
Схема 2



Реагенты и условия: *i*. Et₂NCH₂SC₁₂H₂₅, лимонная кислота, MeOCH₂CH₂OH, Δ.

В продолжении этого исследования, данный способ был использован для получения производных, содержащих две и три (додецисульфанил)метильных группы (схема 3).

Схема 3



Проведено исследование антирадикальной активности синтезированных тиопроизводных кверцетина в модельной реакции AIBN-инициированного окисления стирола (37 °C), в результате чего определены константы скорости k_7 реакции OH-группы с полипероксидными радикалами и стехиометрические коэффициенты ингибирования f .

Определена брутто-ингибирующая активность в модельной реакции термического автоокисления лярда (133 °C) и растительного масла (60 °C). Анализ величин периодов индукции показал, что введение алкилтиометильных групп в молекулу кверцетина приводит к существенному увеличению антиоксидантной активности. Полученные тиопроизводные превосходят не только ионол, БОА, α-токоферол и кверцетин. Более того в низких концентрациях тиопроизводные кверцетина превосходят ряд известных серосодержащих фенольных антиоксидантов: Ф-21-S и СО-3.

Определена величина острой токсичности для крыс LD₅₀, согласно которой полученные соединения относятся к малотоксичными или нетоксичными (IV и V классы) веществам. Прогноз биологической активности *in silico* показывает, что исследуемые соединения могут проявлять широкий спектр биологической активности, что делает их перспективными для дальнейших биологических исследований *in vitro* и *in vivo*.

Список литературы

1. Бугаев И.М., Просенко А.Е., Новый метод алкилтиометилирования фенолов // Изв. АН, Сер. хим., 2010, № 4, С. 843-844.
2. С. Е. Ягунов, С. В. Хольшин, Н. В. Кандалинцева, А. Е. Просенко, Синтез и антиоксидантная активность 5-гидроксикумаранов, 6-гидроксихроманов и серосодержащих производных на их основе // Изв. АН, Сер. хим., 2013, № 6, С. 1395-1400.
3. Багавиева Т.К., Ягунов С.Е., Хольшин С.В., Просенко А.Е., Модификация кверцетина (додецилсульфанил)метильной группой // Изв. АН, Сер. хим., 2019, № 1, С. 194-196

СИНТЕЗ ДОДЕЦИЛТИОМЕТИЛИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ТИРОЗОЛА И ПАРА-ДИГИДРОКУМАРОВОГО СПИРТА И ИХ АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА

А.А. Веригина¹, П.И. Пинко¹, Е.В. Вологодина¹, А.Е. Просенко^{1,2}

¹Новосибирский государственный педагогический университет,
Россия, 630126 Новосибирск, ул. Виллюйская, 28, E-mail: a-verigina@list.ru

²Новосибирский институт антиоксидантов,
Россия, 630091 Новосибирск, ул. Красный проспект, 54а.

Известно, что фенолы являются монофункциональными антиоксидантами и проявляют антирадикальную активность за счет фенольного гидроксила. Для усиления антиоксидантной активности в молекулы таких соединений вводят серосодержащие фрагменты, которые инактивируют гидропероксиды, образующиеся в результате взаимодействия свободного радикала с ОН-группой. В результате данной модификации получают полифункциональные производные проявляющие высокую антиоксидантную активность.

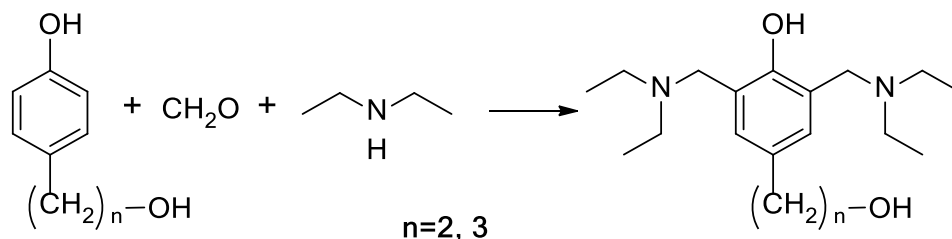
Одним из способов получения алкилтиометильных производных фенолов является синтез оснований Манниха, которые взаимодействуя с тиолами образуют алкилтиометильные производные фенолов [1].

Синтез оснований Манниха не вызывает затруднений [2], однако последующее введение сульфидного фрагмента проходит в более жестких условиях и требует больших временных затрат [3].

Синтонами для осуществления данных превращений были выбраны природные соединения 4-(2-гидроксиэтил)фенол (тирозол) и его аналог 4-(3-гидроксипропил)фенол (*пара*-дигидрокумаровый спирт), которые известны своей биологической активностью.

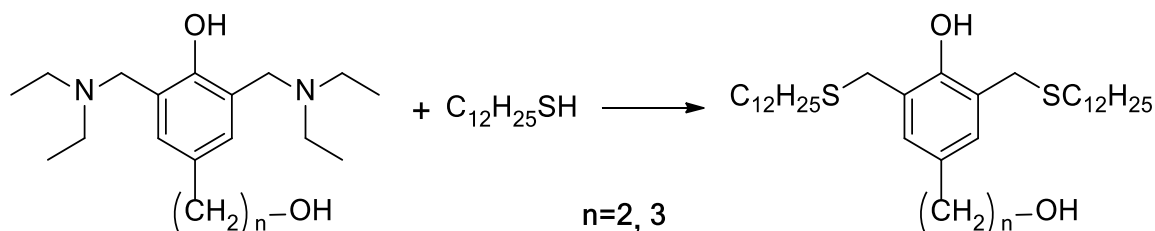
Для осуществления данных превращений нами были получены диэтиламинометильные производные из тирозола и *n*-дигидрокумарового спирта (схема 1).

Схема 1



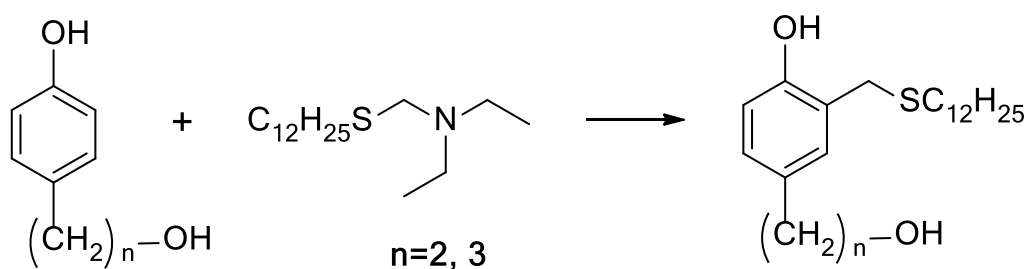
При дальнейшем замещении аминогрупп на додецилсульфидные фрагменты были получены 2,6-бис(додецилтиометил)-4-(2-гидроксиэтил)фенол и 2,6-бис(додецилтиометил)-4-(3-гидроксипропил)фенол (схема 2):

Схема 2



Ранее на кафедре химии был разработан способ введения алкилтиометильного фрагмента в молекулу фенола используя N,N-диэтиламинометилдодецилсульфид, который показал свою применимость не только к одноатомным фенолам, но и к двухатомным, включая природные [4]. По данному способу нами были получены новые моно-замещенные сульфиды с высокими выходами (схема 3):

Схема 3



Была проведена предварительная оценка антиоксидантной активности полученных соединений на модели термического автоокисления растительного масла (60°C). В качестве эталонов сравнения были использованы бутилоксианизол (БОА), ионол и α -токоферол.

Все полученные соединения превосходят промышленные антиоксиданты (БОА, ионол, α -токоферол) в различных концентрациях (на примере модели термического автоокисления растительного масла) примерно в 1,3-1,5 раз.

Додецилтиометилзамещенные моно-производные превосходят по антиоксидантной активности свои ди-замещенные аналоги, предположительно из-за меньшего экранирования гидроксогруппы.

Список литературы

- 1) Билалов С.Б., Алиева Ф.Д., Гасанов Б.Р. Синтез и исследование антиокислительных свойств некоторых тиометильных производных 2,6-ди-трет-бутилфенола / ЖОрХ. – 1987. – № 7(23). – С. 1508-1510
- 2) Дюбченко О.И., Никулина В.В., Терах Е.И., Кандалинцева Н.В., Марков А.Ф., Григорьев И.А., Просенко А.Е. Синтез и исследование антирадикальной активности замещенных гидроксibenзиламинов и их хлороводородных солей // Нефтехимия. – 2005. – Т. 45 № 5. – С. 359-363.
- 3) Золотова Л.В., Брук Ю.А. Реакция N,N-диметил-3,5-ди-трет-бутил-4-оксибензиламинами с тиолами // ЖОрХ. – 1974. – Т.10 – № 6. – С. 1338-1339.
- 4) Бугаев И.М., Просенко А.Е., Новый метод алкилтиометилирования фенолов // Известия Академии Наук. Серия химическая. – 2010. – № 4. – С. 843-844.

ПРОДУКТЫ ОКИСЛЕНИЯ ЖИРОВ – БИОМАРКЕРЫ ОРГАНИЧЕСКИХ ОСТАТКОВ НА АРХЕОЛОГИЧЕСКОЙ КЕРАМИКЕ

Куликова И.С., Пожидаев В.М., Камаев А.В.

НИЦ «Курчатовский Институт», пл. Академика Курчатова, д.1,
Москва, 123182, kef-irka08@mail.ru

С древних времен человек использовал керамическую посуду для приготовления и хранения пищи. Характеристика липидов в археологическом материале имеет большое значение для получения информации об использовании масел и жиров в обычаях и питании людей прошедших эпох. Исследование липидных остатков пищевых продуктов основано на количественном определении отдельных жирных кислот, получения жирно-кислотного профиля и сравнения с профилями современных растений и животных. Идентификация жиров и масел, в том числе, в органических остатках археологических образцов может быть осуществлена по относительному содержанию жирных кислот (ЖК). Ненасыщенные жирные кислоты представляют большую часть липидного материала, но они значительно сильнее подвержены окислительной деградации в процессе длительного хранения. Эти ЖК в остатках на поверхности древней керамики обнаруживаются в небольших количествах, либо практически отсутствуют. Полиненасыщенные жирные кислоты наиболее сильно подвержены окислительной деградации в процессе длительного хранения, поэтому в поверхностных остатках керамических сосудов не обнаруживаются. Некоторые жиры (например, рыбий жир), в составе которых преобладают полиненасыщенные жирные кислоты, практически не идентифицируются в остатках на древних сосудах. Конечными продуктами окислительной деградации ненасыщенных жирных кислот являются дикарбоновые кислоты (ДК). Образование дикарбоновой

кислоты зависит от положения кратной связи в молекуле исходной ненасыщенной жирной кислоты.

В работе представлены результаты экспериментального исследования окислительной деградации растительных масел (оливкового и подсолнечного) и животных жиров (коровьего масла и рыбьего жира) с целью определения состава, образующихся при этом дикарбоновых кислот. Было показано, что в качестве конечных продуктов окислительной деградации ненасыщенных ЖК образуются азелаиновая, глутаровая и янтарная дикарбоновые кислоты. Образование этих кислот происходит в результате полного расщепления кратной связи, ближайшей к карбоксильной группе и может служить биомаркером исходной ненасыщенной ЖК. Во всех экспериментах по окислительной деградации, исследуемых жиров обнаружена азелаиновая (C9) кислота. При окислении подсолнечного и оливкового масел эта кислота преобладала в составе ДК. При окислении коровьего масла, кроме азелаиновой кислоты обнаружена также и глутаровая кислота. В продуктах окисления рыбьего жира преобладала янтарная кислота. Эти результаты подтверждают вывод, что образование различных дикарбоновых кислот зависит от положения кратной связи в молекуле исходной ЖК. В составе большинства жиров присутствуют ненасыщенные ЖК (пальмитолеиновая, олеиновая, линолевая, линоленовая и др.) имеющие кратную связь у 9 атома углерода, при расщеплении которых образуется азелаиновая кислота. В коровьем масле содержится арахидоновая кислота с кратной связью ближайшей к карбоксильной группе у 5 атома углерода. При окислении этой кислоты образуется глутаровая кислота (C5). В продуктах окисления рыбьего жира преобладала янтарная (C4) кислота, которая образуется при окислении докозагексаеновой ЖК, имеющей кратную связь у 4 атома углерода.

С целью определения содержания дикарбоновых кислот, изучена эффективность извлечения органических остатков с поверхности древних

глиняных черепков с использованием трех способов экстракции: органическими растворителями по методу Фолча; 5% раствором гидроксида натрия в метаноле и смесью хлороформа - 2% раствором серной кислоты в метаноле (2:1) с одновременным получением метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК).

Установлено, что кислотная экстракция по способу 3 приводит более эффективному извлечению жировых остатков. При этом в этом способе обработка проводится в одну стадию, что заметно сокращает затраты времени и реактивов, а также уменьшает погрешность определения.

По итогам проведенного исследования была выбрана оптимальная процедура отбора и подготовки проб для газохроматографического анализа и проведено исследование глиняных черепков, найденных сотрудниками Государственного исторического музея при археологических раскопках. В экстрактах с поверхности некоторых черепков была обнаружена янтарная кислота. Это может служить доказательством того, что эти глиняные сосуды использовали для приготовления и хранения пищевых продуктов из рыбы. Косвенным подтверждением этому может служить и географическое расположение мест археологических раскопок – берега рек или озер.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ офи_м 17-29-04100.

Список литературы

1. Colombini M.P., Modugno F., Ribechini E. Direct exposure electron ionization mass spectrometry and gas chromatography/mass spectrometry techniques to study organic coatings on archaeological amphorae // J. Mass Spectrom. 2005. V. 40. P. 675.
2. R.J. Hamilton, A. Bhati. Fats and oils: chemistry and technology. London: Applied Science Publishers Ltd. 1980. P. 255.

ХАРАКТЕР ВЛИЯНИЯ КАЛИКСАРЕНОВ НА ПРОЦЕССЫ ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ

Дарюхина Е.Н., Сторожок Н. М., Цымбал И.Н.

*Кафедра химии, ФГБОУ ВО Тюменский государственный медицинский университет Минздрава России, ул. Одесская, 54. г. Тюмень, 625023. Россия.
Тел./факс: (3452) 20-74-21. E-mail: nadinstor@mail.ru*

Известно, что фенольные соединения используются для предотвращения окислительной деструкции липидов. Полифенолы ряда каликсаренов: *n.трет*-бутил каликс[4]арена (каликсарен С) и *n.трет*-бутил тиокаликс[4]арена (каликсарен S) представляют собой тетрафенолы, связанные между собой мостиковыми метиленовыми ($-\text{CH}_2-$), тиенильными ($-\text{S}-$) группами, в орто-положении, к которым находятся гидроксилы. Их можно отнести к пространственно незатрудненным фенолам. Строение каликсаренов обуславливает возможность выступать их в роли ингибиторов процессов окисления и использовать их в качестве антиоксидантов (АО). Действие каликсаренов на процессы окисления ранее не исследовалось.

Целью настоящей работы являлось изучение влияния действия каликсарена С и каликсарена S на процессы окисления липидов и их совместного ингибирующего действия с дибунолом.

Экспериментальная часть Кинетику инициированного окисления метилолеата (МО) изучали в присутствии каликсаренов индивидуально и с добавками дибунола в разных концентрациях. Окисление проводили в среде хлорбензола в манометрических установках типа Варбурга, при температуре $(60,0 \pm 0,2)^{\circ}\text{C}$ при перемешивании. Процесс инициировали за счет разложения азобисизобутиронитрила ($C = 3 \times 10^{-3}$ моль/л).

Результаты и их обсуждение Изучение кинетики поглощения кислорода модельным субстратом (МО) в присутствии (I) и (II) показало, что на кинетических кривых обнаруживаются периоды индукции, возрастающие с

ростом концентрации каликсаренов. Таким образом, каликсарены проявляют АО действие. Установлено, что каликсарен С более эффективен, чем каликсарен S. Ингибирующая способность каликсарена С и каликсарена S в наибольшей степени проявляются в диапазонах концентраций $(2,5-75) \times 10^{-4} \text{М}$ и $(1,0-5,0) \times 10^{-4} \text{М}$ (Рис.1). Показано, что зависимость величины периодов индукции от концентрации каликсаренов носит экстремальный характер, характерный для слабых ингибиторов. В сравнимых концентрациях величина периодов индукции для (I) практически в 2 раза выше, чем для (II), значения скорости окисления, напротив, у (II) превышают таковую при окислении в присутствии (I). Различия в характере зависимостей для I и II объясняется особенностями их химической структуры.

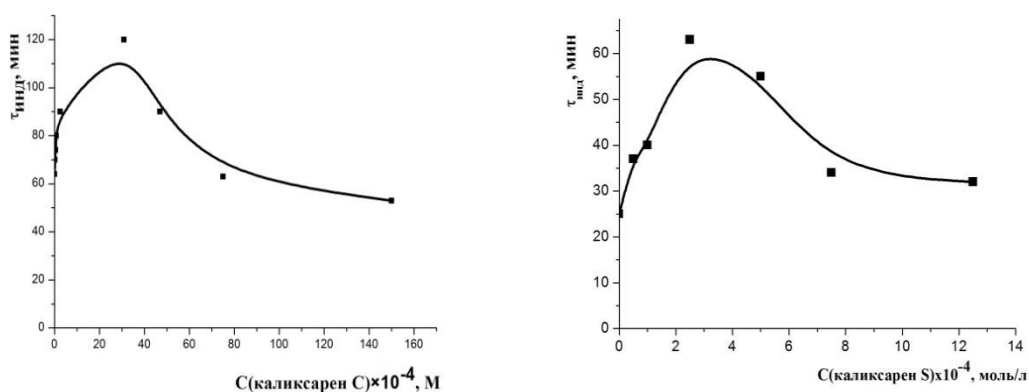


Рис. 1. Зависимость величины периодов индукции от концентрации каликсарена С и каликсарена S при инициированном окислении МО,

$$C_{\text{МО}}=0,85\text{М}, C_{\text{АИБН}}=3,0 \times 10^{-3}\text{М}, T=333\text{К}$$

Брутто ингибирующее действие бинарных смесей изучали при разных количественных соотношениях между компонентами. В разных сериях экспериментов сохраняли концентрацию дибунола, которая соответствовала $(5,0 \times 10^{-6}) \text{М}$ и $(5,0 \times 10^{-5}) \text{М}$. Содержание каликсарена С варьировалось в диапазоне $(5,0 \times 10^{-6}-1,56 \times 10^{-3}) \text{М}$. Установлено, что эффективность совместного действия смесей дибунола от концентрации каликсарена С описывается U-образной зависимостью (Рис.2).

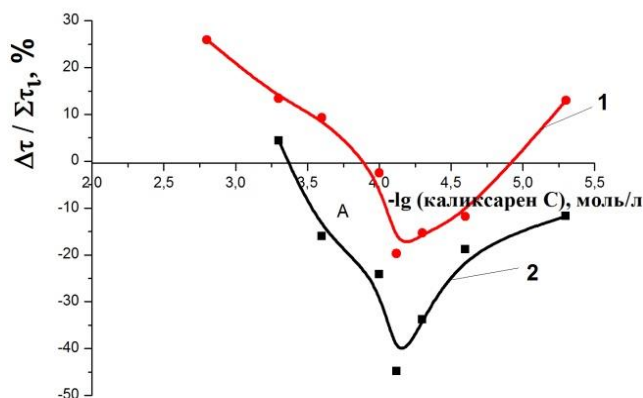


Рис. 2. Полулогарифмическая анаморфоза зависимости эффективности смеси АО от содержания каликсарена С при инициированном окислении МО с постоянными концентрациями дибунола: 1 - $C_{\text{дибунол}} = \text{const} = 5,0 \times 10^{-5} \text{M}$, 2 - $C_{\text{дибунол}} = \text{const} = 5,0 \times 10^{-6} \text{M}$, $C_{\text{АИБН}} = 3,0 \times 10^{-3} \text{M}$, $T = 333 \text{K}$

Точки экстремума кривых совпадают и соответствуют концентрации каликсарена С, равной $(7,5 \times 10^{-4}) \text{M}$ (Рис. 2). Эффективность смеси при совместном ингибирующем действии изучаемых АО растёт с увеличением содержания в окисляемой системе каликсарена С и дибунола. При концентрациях дибунола $(5,0 \times 10^{-6} \text{M})$ или $(5,0 \times 10^{-5} \text{M})$ для проявления аддитивного действия смеси количество каликсарен С должно превышать в 100 и 3 раза, соответственно. При более высоком содержании каликсарена С эффективность смеси увеличивается в разы и достигает 25%.

Выводы

1. Каликсарены проявляют ингибирующее действие. Каликсарен С более эффективен, чем каликсарен S.
2. Показано, что при разных соотношениях в действии бинарных композиций дибунола с каликсареном С возможно проявление эффектов антагонизма или синергизма. Обнаружено, что на фоне увеличения количества дибунола происходит существенное снижение скорости окисления субстрата и наблюдается усиление АО действия соединений.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС ПРИ СТЕРОИДНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ.

Луканина* С.Н., Сахаров А.В., Просенко А.Е.,

*Новосибирский государственный педагогический университет, 630126,
Новосибирск, ул.Виллюйская, 28, lukanina@ngs.ru*

Цель – изучить возможность коррекции морфофункциональных нарушений поджелудочной железы крыс при глюкокортикоид-индуцированном сахарном диабете антиоксидантами соединениями «Тиофан» и «α-токоферол» в сравнительном аспекте.

Исследование проводили на половозрелых самцах линии Вистар (масса 250-300г.). Для изучения влияния оксидативного стресса на морфофункциональное состояние инсулярного аппарата поджелудочной железы были сформированы 5 групп: интактная, контрольная и 3 группы сравнения, по 10 особей в каждой. Всех животных содержали в стандартных условиях вивария без ограничения доступа к воде и корму. Крысам контрольной и трех групп сравнения (ГС) ежедневно в течение 14 суток вводили водную суспензию синтетического глюкокортикоида «Преднизолон Никомед» («Никомед Австрия ГмбХ», Линц, Австрия) в дозе 50 мг/кг с помощью внутрижелудочного зонда, инициируя у них развитие окислительного стресса. Для чистоты эксперимента и стандартизации манипуляций, связанных с введением в организм веществ, крысам первой группы сравнения (1 ГС) через три часа после преднизолона вводили 0,2 мл водопроводной воды. Животные второй группы сравнения (2 ГС) по аналогичной схеме получали антиоксидант «Тиофан» (Ассоциация «Новосибирский институт антиоксидантов», Новосибирск, Россия) (в дозе действующего вещества 100 мг/кг веса), растворенный в 0,2 мл растительного масла производства ОАО «ЭФКО» торговой марки «Altero

Golden», а третьей группы сравнения (3 ГС) – « α -токоферол» в той же дозе. В связи с тем, что «Тиофан» и « α -токоферол» – жирорастворимые антиоксиданты, крысам контрольной группы после приема преднизолона внутрижелудочно вводили только растворитель антиоксидантов – растительное масло (0,2 мл). На 15 сутки наблюдения всех животных под эфирным наркозом выводили из эксперимента и забирали у них образцы поджелудочной железы, для проведения морфогистохимического анализа.

Установлено, что структурная организация поджелудочной железы животных интактной группы соответствует морфологии активно функционирующей железы. Строма органа формирует дольки паренхимы. Ациноциты сохраняют типичную для эпителия полярность. Среди них выделяются как активно функционирующие клетки с крупным ядром, содержащим эухроматин и 1-2 ядрышка, так и экзокриноциты в состоянии покоя. В панкреатических островках бета-клетки выявляются в центре, имеют овальную или кубическую форму и располагаются между капиллярами в виде тяжей. В их цитоплазме на стороне, обращенной к просвету сосудов выявляются гранулы инсулина. Альфа-клетки расположены на периферии железы на границе с ацинусами. В отличие от инсулиноцитов, их цитоплазма практически целиком заполнена гранулами секрета. Другие клетки эндокринной части поджелудочной железы доступными методами идентифицировать не удалось.

У крыс 1 ГС отмечаются ярко выраженные изменения в экзокринной и эндокринной части железы, проявляющиеся в снижении площади экзокринной и эндокринной частей железы за счет гибели ациноцитов и эндокриноцитов. Морфология структурных нарушений включает нарушение кровообращения, в виде отека стромы железы и стенки кровеносных сосудов. Бесструктурные оксифильные массы и агглютинированные эритроциты в просвете вен являются подтверждением нарушения реологических свойств крови, которые приводят к развитию гипоксии, нарушению работы системы

энергообеспечения клетки и повреждению клеточных мембран. Свидетельством этого являются регистрируемые нами многочисленные вакуоли в цитоплазме экзокриноцитов. На отдельных препаратах на месте разрушенных клеток определяются только сморщенные ядра и многочисленные апоптические тельца. Те же процессы происходят и в островковых клетках эндокринной части железы.

Результаты морфометрического анализа образцов поджелудочной железы крыс 2 ГС показали, что общая площадь железы не имеет достоверных различий от показателей интактных животных. Морфология клеток, содержание гранул секрета в эндо- и экзокриноцитах свидетельствуют о протекторном эффекте антиоксиданта «Тиофан» и о преобладающей роли свободных радикалов в механизмах клеточного повреждения поджелудочной железы.

Морфологические показатели тканей животных 3 ГС не имеют значительных отличий от показателей крыс контрольной группы, что может свидетельствовать о слабой выраженности протективного эффекта α -токоферола

Таким образом, результаты исследования подтверждают развитие сахарного диабета у крыс при длительном использовании глюкокортикоидов, а также доказывают ведущую роль свободнорадикальных соединений в патогенезе данного заболевания. Эффективность использования для коррекции структурных нарушений поджелудочной железы при стероидном диабете антиоксиданта «Тиофан» превосходит « α -токоферол» на 21,38%.

НОВЫЙ СПОСОБ СИНТЕЗА 1,2-ДИГИДРОКСИ-4-(ДОДЕЦИЛТИОМЕТИЛ)БЕНЗОЛА ИЗ ВАНИЛИНА

К.А. Клименко¹, С.Л. Нестерович¹, А.Е. Просенко^{1,2}

¹Новосибирский государственный педагогический университет,
Россия, 630126 Новосибирск, ул. Виллюйская, 28,
E-mail: klimenko.k@rambler.ru

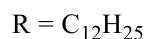
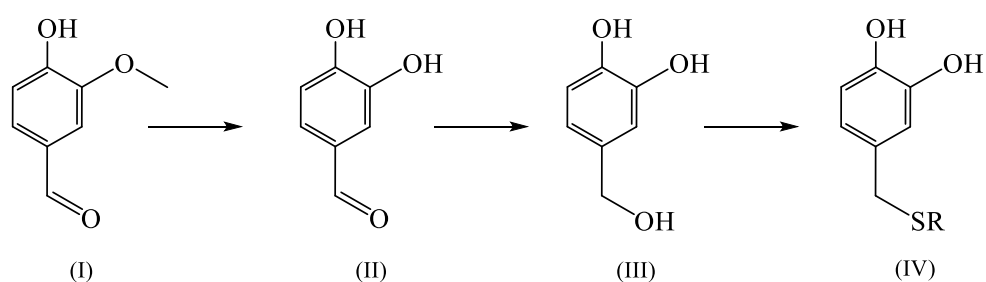
²Новосибирский институт антиоксидантов,
Россия, 630091 Новосибирск, ул. Красный проспект, 54а.

Исследования, проведенные в НИИ химии антиоксидантов, показали высокую антиоксидантную активность у несимметричных сульфидов бензильного типа на основе пирокатехина. По способности ингибировать окисление непредельных субстратов (*растительные масла, лярд*) эта группа соединений значительно превосходит хорошо известный полифункциональный серосодержащий антиоксидант - ирганокс 1726 [1]. Определенный интерес из рассматриваемого ряда ингибиторов вызывает 1,2-дигидрокси-4-(додецил-тиометил)бензол. Данный сульфид может быть получен в одну стадию при взаимодействии пирокатехина с (N,N-диэтиламинометил)додецилсульфидом в среде ДМФА. Однако, выход целевого соединения при таком варианте синтеза на сегодняшний день составляет всего 16%. А учитывая, что для предотвращения полиалкилтиометилирования требуется значительный избыток многоатомного фенола, привлекательность этого метода для практических целей крайне сомнительна. Прогнозирование более сложных схем его синтеза из того же реагента (пирокатехина) возможно, но многостадийность и трудоемкость процесса, несомненно, отрицательно скажутся на рентабельности такого подхода. Поэтому актуальной задачей является поиск другого коммерчески доступного исходного сырья для получения заявленного сульфида. Наличие определенных функциональных групп и их «удачное» расположение в ароматическом кольце позволяет нам

рассматривать 3-гидрокси-4-метоксибензальдегид (ванилин) в качестве удобного реагента для синтеза 1,2-дигидрокси-4-(додецилтиометил)бензола.

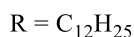
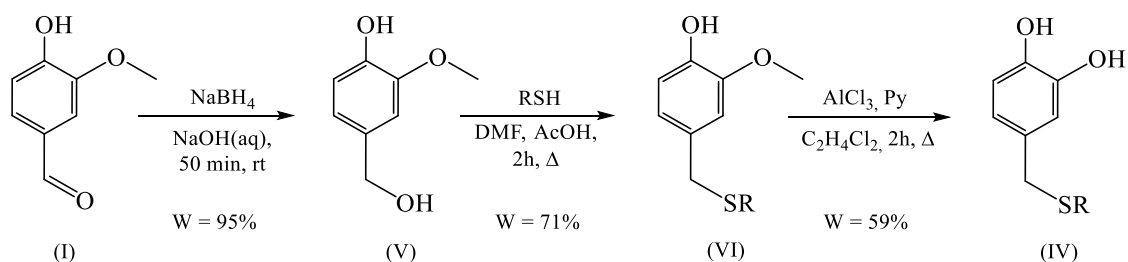
Известно, что несимметричные гидроксибензилсульфиды могут быть получены в результате взаимодействия соответствующих гидроксибензиловых спиртов с алкантиолами. В свою очередь, бензиловые спирты можно рассматривать как продукты восстановления ароматических альдегидов. Учитывая сказанное, предполагаемая схема синтеза целевого соединения из ванилина первоначально имела следующий вид:

Схема 1



Но столкнувшись с определенными трудностями на стадии восстановления протокатехового альдегида (II) в соответствующий спирт, мы внесли в нее некоторые изменения (см. схему 2).

Схема 2



Для восстановления альдегидной группы ванилина мы использовали боргидрид натрия в присутствии водного раствора щелочи. Замещение гидроксильной группы на додецилтиогруппу было осуществлено действием

на ванилиновый спирт додекантиола. Реакцию проводили в среде ДМФА и небольшого количества уксусной кислоты. К сожалению, мы не нашли литературных данных с описанием замещения метильной (связанной с «эфирным» кислородом) группы на водород у производных анизола, содержащих в молекуле сульфидный фрагмент бензильного типа. Поэтому для деметилирования соединения (VI) опробовали методику, используемую для превращения ванилина в протокатеховый альдегид [2]. Нагревание с обратным холодильником в течение двух часов растворенного в дихлорэтано сульфида (VI) в присутствии безводного хлорида алюминия и пиридина привело к образованию целевого соединения с выходом около 59%. Общий выход за три стадии составил 41%, что значительно превышает выход этого же соединения при получении его из пирокатехина.

Список литературы

1. Нестерович С.Л., Коробицина Е.В., Просенко А.Е. Сульфиды бензильного типа на основе многоатомных фенолов. Синтез и антиоксидантная активность // Свободные радикалы и антиоксиданты в химии, биологии и медицине: материалы Междунар. науч.-практ. конф. (Новосибирск, 1-4 октября 2013 г.): в 2 частях. – Новосибирск: НГПУ, 2013. – Ч. 2. – С. 56.
2. Ravindran J., Subbaraju, G. V., Ramani M. V., Sung B., Aggarwal B. B. Bisdemethylcurcumin and structurally related hispolon analogues of curcumin exhibit enhanced prooxidant, anti-proliferative and anti-inflammatory activities in vitro // J. Biochemical Pharmacology. – 2010. – Vol. 79, N 11. – P. 1658-1666.

ВЛИЯНИЕ РЕПЕРФУЗИИ РАЗЛИЧНОЙ ДЛИТЕЛЬНОСТИ НА СОДЕРЖАНИЕ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В КОРЕ МОЗГА СТАРЫХ КРЫС ПОСЛЕ ДВУХСОСУДИСТОЙ ИШЕМИИ ПЕРЕДНЕГО МОЗГА

Рыжов Ю. Р., Фокина Е. А., Зорина И. И.

*ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова
Российской академии наук, пр. Тореза 44, 194223, Санкт-Петербург, Россия
E-mail: zorina.inna.spb@gmail.com*

Острые нарушения мозгового кровообращения являются одной из основных причин смертности и инвалидизации населения в зрелом и пожилом возрасте. Успешность доклинических исследований нейропротекторных свойств соединений зависит от используемой модели заболеваний ЦНС на животных. Модели экспериментального ишемического инсульта и ишемического и реперфузионного повреждений головного мозга в настоящее время хорошо разработаны и широко применяются, но в основном на молодых животных. В то время как эти модели могут быть не столь эффективны при их воспроизведении на старых животных, использование которых рекомендовано ассоциацией «Stroke Therapy Academic Industry Roundtable» при проведении доклинических испытаний [1].

Механизмы патогенеза при ишемии и реперфузии тканей головного мозга хорошо изучены. Нарушение мозгового кровообращения сопровождается ухудшением функционирования митохондрий на фоне недостатка энергетических субстратов, усилением образования активных форм кислорода и азота, что ведет к развитию окислительного стресса и окислительной деструкции биомолекул, в частности интенсификации перекисного окисления липидов (ПОЛ). При реперфузии мозга, т.е. при восстановлении мозгового кровообращения, происходит усиление запущенных в ходе ишемии функциональных и молекулярных нарушений [2]. Цель данной работы состояла в изучении влияния реперфузии головного

мозга различной длительности в течение 1 ч или 3 ч после двухсосудистой ишемии переднего мозга с гипотензией на уровень продуктов перекисного окисления липидов в коре головного мозга крыс в возрасте 22-24 месяцев.

Двухсосудистую ишемию переднего мозга вызывали у наркотизированных крыс (хлораль гидрат, 400 мг/кг) путем окклюзии каротидных артерий на 20 мин в сочетании с гипотензией [3], которая осуществлялась с помощью отбора артериальной крови в шприц с гепарином (50 Ед/мл) до достижения артериального давления 50 мм Нг. Животные находились в состоянии реперфузии в течение 1 ч или 3 ч. Ложно-оперированные животные использовались как контрольные, у них препарировались сосуды, но не проводилась их окклюзия. Далее проводили экстракцию липидов коры головного мозга крыс по методу Фолча. Затем в липидном экстракте коры мозга определяли индекс окисленности липидов, содержание оснований Шиффа (ОШ) и малонового диальдегида [4, 5].

Мы обнаружили, что двухсосудистая ишемия у старых крыс с реперфузией длительностью 3 ч оказывает более выраженное повреждающее действие, чем одночасовая рециркуляция. Так при трехчасовой реперфузии индекс окисленности липидов достоверно увеличивается у крыс, перенесших ишемию, до 0.175 ± 0.003 , по сравнению с уровнем у ложно-оперированных животных (0.156 ± 0.005) и у крыс, подвергшихся ишемии и одночасовой реперфузии (0.160 ± 0.008), $p < 0.05$ в обоих случаях. Трехчасовая рециркуляция крови после ишемии также сопровождалась более значительным повышением содержания ОШ. Содержание ОШ достоверно увеличивалось в сравнении с ложно-оперированными животными в 1.76 раза и в сравнении с крысами, перенесшими одночасовую реперфузию в 1.84 раза. Уровень малонового диальдегида в коре мозга крыс, перенесших ишемию и трехчасовую реперфузию, имел тенденцию к повышению, но различия с группой ложно-оперированных не были статистически значимыми.

Полученные результаты отчетливо демонстрируют, что для накопления продуктов ПОЛ в коре мозга старых крыс требуется существенно более длительная реперфузия после перенесенной ишемии переднего мозга. Так у старых животных не наблюдалось достоверного увеличения уровня продуктов ПОЛ после однократной реперфузии, в то же время, согласно полученным нами ранее данным [4, 5], у молодых животных при этом сроке реперфузии накопление продуктов ПОЛ увеличивалось значительно и достоверно. Обнаруженные особенности развития нарушений при ишемии и реперфузии головного мозга старых крыс необходимо учитывать при доклинических испытаниях.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 18-315-00285).

Список литературы:

1. Moskowitz M.A. et al. // *Stroke*. 2013. V. 44. № 8. P. 2343–2350.
2. Broughton B.R.S. et al. // *Stroke*. 2009. T. 40. № 5. P. e331–e339.
3. Raval A.P. et al. // *Animal Models of Acute Neurological Injuries*. – Humana Press. 2009. P. 77–86.
4. Зорина И.И. и др. // *Ж. эвол. биохим. физиол.* 2018. Т. 54. № 3. С. 215–217.
5. Зорина И.И. и др. // *Ж. эвол. биохим. физиол.* 2019. Т. 55. № 4. С. 97–99.

НОВЫЙ СЕРОСОДЕРЖАЩИЙ ВОДОРАСТВОРИМЫЙ АНТИОКСИДАНТ НА ОСНОВЕ ГИДРОКИНОНА

А.С. Брезгина¹, В.Н. Никитин¹, О.И. Просенко^{1,2}, А.Е. Просенко^{1,2}

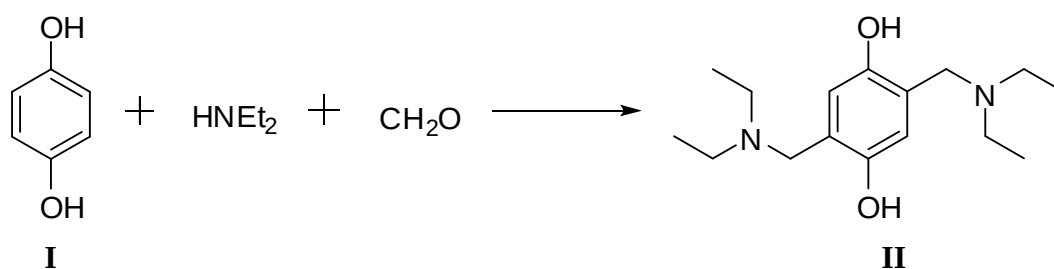
¹Новосибирский государственный педагогический университет,
Россия, 630126 Новосибирск, ул. Виллюйская, 28, E-mail: nastia12.08@mail.ru

²Новосибирский институт антиоксидантов,
Россия, 630091 Новосибирск, ул. Красный проспект, 54а.

Производные фенолов содержащие бензилсульфидные фрагменты относятся к числу наиболее эффективных ингибиторов окисления различных органических субстратов. Проведенные ранее исследования показывают, что производные многоатомных фенолов по антиоксидантной активности превосходят свои одноатомные аналоги [1, 2]. Представляет интерес получение серосодержащих водорастворимых соединений, обладающих высокой биологической доступностью.

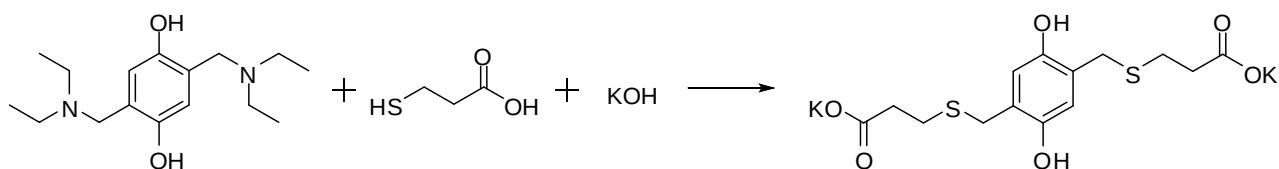
Существуют различные способы введения алкилтиометильных групп в молекулу фенола как в одну, так и в несколько стадий. В качестве исходного соединения нами был выбран гидрохинон (I). Синтез целевого продукта (III) осуществляли в две стадии через основание Манниха (II), которое было получено по следующей реакции (схема 1):

Схема 1



Дальнейшее замещение аминогруппы на серосодержащий фрагмент осуществляли по схеме 2:

Схема 2



III

Реакцию проводили в этиленгликоле и его эфирах, в течение 2-х часов при 120 °С в инертной среде. В результате данного превращения было получено белое кристаллическое вещество (**III**) (СОВ 98%) с выходом до 80%. Строение установлено современными физико-химическими методами.

Полученное соединение хорошо растворимо в воде и не растворимо в большинстве органических растворителей.

Определена величина острой токсичности для мышей LD₅₀, согласно которой полученное соединение относится к нетоксичным (IV класс) веществам, а также выявлена высокая антиоксидантная активность.

Список литературы

1. Просенко А.Е. Полифункциональные серо-, азот-, фосфорсодержащие антиоксиданты на основе алкилированных фенолов: синтез, свойства, перспективы применения: дис. ... д-ра хим. наук: 02.00.03. - Новосибирск, 2010. – 525 с.
2. Нестерович С.Л. Коробицина Е.В., Просенко А.Е. Сульфиды бензильного типа на основе многоатомных фенолов. Синтез и антиоксидантная активность // Свободные радикалы и антиоксиданты в химии, биологии и медицине. – 2013. – Ч. 2. – С. 54-55.

КИНЕТИКА АУТООКИСЛЕНИЯ АДРЕНАЛИНА В ПРИСУТСТВИИ ХЛОРОГЕНОВОЙ КИСЛОТЫ

*Малютин И.Г.¹ Волков В.А.², Мисин В.М.², Лапина Г.П.¹, Лихуща П.С.^а,
Петухова Л.В.¹*

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования Тверской государственный университет;

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук

Email: vl.volkov@mail.ru

Система, основанная на аутоокислении адреналина в щелочной среде, предлагается рядом исследователей в качестве доступного метода исследования активности биологически активных веществ в отношении супероксидного анион-радикала [1]. Однако, детальные кинетические исследования протекания данной реакции в присутствии индивидуальных соединений с известной активностью в отношении супероксидного анион-радикала отсутствуют. В качестве объекта исследования была выбрана хлорогеновая кислота, поскольку в исследованиях с помощью метода ЭПР была продемонстрирована её высокая акцепторная активность в отношении супероксидного анион-радикала [2].

Концентрацию хлорогеновой кислоты варьировали в диапазоне от 0 до 3.75 мкмоль/л. рН бикарбонатного буфера подбирался таким образом, чтобы скорость прироста оптической плотности на линейном участке кинетической кривой неингибированного аутоокисления адреналина составляла $0.095 \pm 10\%$ единицы оптической плотности в минуту. В контрольных опытах в буфер добавляли соответствующее количество хлорогеновой кислоты, но без адреналина, после чего производили вычитание кинетических кривых для выделения чистого вклада продуктов образования адреналина в рост оптической плотности на длине волны 347 нм. Изменение оптической плотности фиксировали при временах экспозиции 3, 5 и 10 минут.

Снижение прироста оптической плотности означает торможение образования продуктов аутоокисления адреналина и проявление образцом антиоксидантных свойств. Как следует из кривых на рисунке, хлорогеновая кислота проявляет антиоксидантные свойства в диапазоне концентраций до 10 мкмоль/л. При дальнейшем ее росте эффект сменяется на прооксидантный, что хорошо согласуется с теоретическими представлениями.

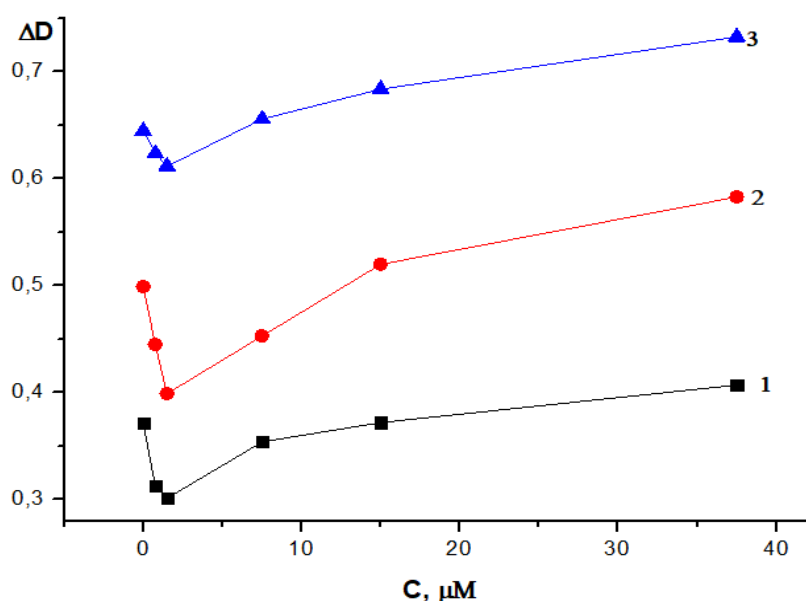


Рис 1. Зависимость приращения оптической плотности от концентрации хлорогеновой кислоты в реакционной системе при длине волны 347 нм. 1 - 3 минуты, 2 – 5 минут, 3 – 10 минут.

В качестве критерия активности в отношении супероксидного анион-радикала может быть предложена величина максимального снижения прироста оптической плотности по сравнению с неингибированным окислением адреналина, отнесенная к концентрации антиоксиданта, соответствующей этому максимальному снижению: $(\Delta D_{\text{адр+АО}} - \Delta D_{\text{адр}})_{\text{max}} / C_{\text{АО}}$. Проведенные исследования продемонстрировали, что для корректного сравнения ингибирующей активности различных объектов необходимо проводить исследования в широком диапазоне концентраций. Предлагаемая некоторыми авторами оценка антиоксидантных свойств с помощью данной системы по периоду индукции не обоснована, поскольку периода индукции изучаемый процесс не имеет.

Список литературы

1. Рябина Е.И., Зотова Е.Е., Ветрова Е.Н., Пономарева Н.И., Илюшина Т.Н. // Химия растительного сырья. – 2011. – № 3. – С. 117-121.
2. Yoshimi S., Masashi H., Misa I., Keiko M., Erisa K., Yusaki H., Masakazu K., Keishi O. // Clin Biochem Nutrition, 2014, vol. 54, №2, pp. 67-7.

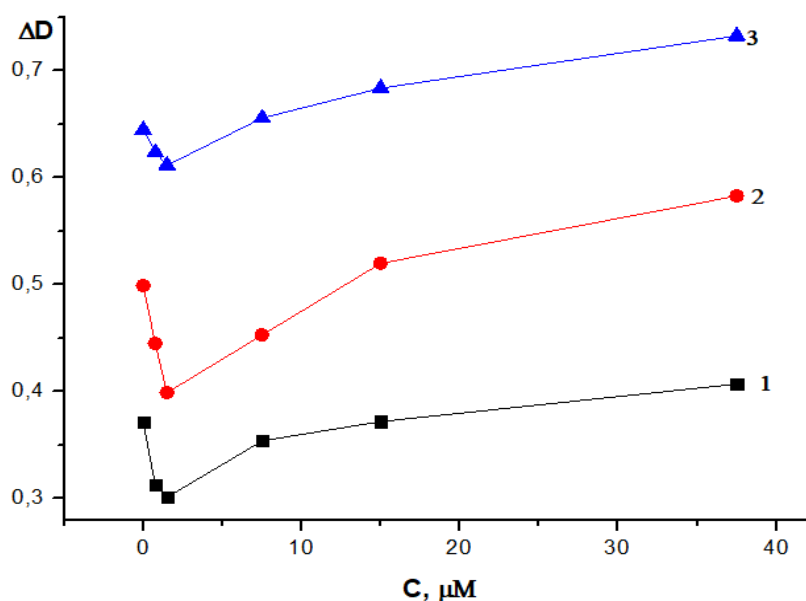


Рис 1. Зависимость приращения оптической плотности от концентрации хлорогеновой кислоты в реакционной системе при длине волны 347 нм. 1 - 3 минуты, 2 – 5 минут, 3 – 10 минут.

В качестве критерия активности в отношении супероксидного анион-радикала может быть предложена величина максимального снижения прироста оптической плотности по сравнению с неингибированным окислением адреналина, отнесенная к концентрации антиоксиданта, соответствующей этому максимальному снижению: $(\Delta D_{\text{адр}+\text{АО}} - \Delta D_{\text{адр}})_{\text{max}}/C_{\text{АО}}$. Проведенные исследования продемонстрировали, что для корректного сравнения ингибирующей активности различных объектов необходимо проводить исследования в широком диапазоне концентраций. Предлагаемая некоторыми авторами оценка антиоксидантных свойств с помощью данной системы по периоду индукции не обоснована, поскольку периода индукции изучаемый процесс не имеет.

Список литературы

1. Рябина Е.И., Зотова Е.Е., Ветрова Е.Н., Пономарева Н.И., Илюшина Т.Н. //Химия растительного сырья. – 2011. – № 3. – С. 117-121.
2. Yoshimi S., Masashi H., Misa I., Keiko M., Erisa K., Yusaki H., Masakazu K., Keishi O. // Clin Biochem Nutrition, 2014, vol. 54, №2, pp. 67-74.

ВЗАИМОСВЯЗЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ И РАЗМЕРОВ НАНОЧАСТИЦ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНА C₆₀ С РОСТОСТИМУЛИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ

М.В. Воронков¹, О.А. Ямскова², В.С. Романова², Д.В. Курилов³,
Н.Е. Павловская⁴, И.В. Горькова⁴, А.В. Лушников⁴, В.М. Мисин¹,
В.А. Волков¹

¹ ФГБУН Институт биохимической физики
им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва
E.mail: vl.volkov@mail.ru

² ФГБУН Институт элементоорганических соединений
им. А.Н. Несмеянова РАН, г. Москва

³ ФГБУН Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, г. Москва

⁴ ФГБОУ ВО Орловский государственный университет
им. И.С. Тургенева, г. Орел

Известно, что фуллерены и их производные обладают антиоксидантной активностью. Имеются данные о влиянии фуллереновых производных на развитие растений, их стрессоустойчивость. Так, в частности, было показано, что добавление в питательный раствор водорастворимых производных фуллерена C₆₀ с аминокислотами, такими как *L*-лизин, *L*-треонин, *L*-аргинин и *L*-гидроксипролин, способствовало увеличению растительной сухой массы яровой пшеницы [1].

Актуальной задачей является поиск взаимосвязи между строением производных фуллерена C₆₀ и их биологической активностью.

Объекты настоящего исследования представляли собой солевые формы моноаддуктов фуллерена C₆₀ с аминокислотами (АПФ) – *L*- и *D*-аланином, *L*- и *D*-валином, β-аланином, а также *L*- и *D*-аспарагиновой, γ-аминомасляной и ε-аминокапроновой.

Выявлена тесная отрицательная корреляционная связь ($R^2 = 0.977$) между относительной антиоксидантной активностью (ОАА) и размером (*d*, нм) наночастиц, образуемыми АПФ в водном растворе (рис.1) [2].

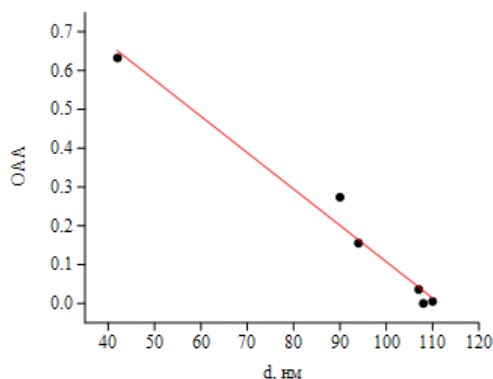


Рис. 1. Диаграмма корреляционной связи между величиной ОАА и размером наночастиц АПФ.

Выявленный эффект, возможно, обусловлен стерическим фактором: при увеличении размеров наночастиц уменьшается величина отношения площади поверхности наночастицы к её объёму на единицу объёма раствора. Молекулы, заключённые внутри этого объёма, оказываются труднодоступными для взаимодействия со свободными радикалами, и соответствующее АПФ показывает меньшие значения величины ОАА.

В настоящей работе осуществлено исследование по выявлению взаимосвязи между строением АПФ, величиной ОАА и тем влиянием, которое оказывают упомянутые факторы на ростовую активность сельскохозяйственных культур (на примере гороха сорта «Фараон»).

Контролировали такие физиологические параметры, как энергия прорастания (процент проросших семян в определенный срок), всхожесть (количество нормально проросших семян, выраженное в процентах к пробе, взятой для анализа), длина корешка и стебля проростка, а также процент наклюнувшихся семян (процент семян, у которых появился росток).

Показатели контролируемых физиологических параметров оказались чувствительными к размеру наночастиц, образующимся в водных растворах солевых форм АПФ. При этом найдено, что параметры всхожести и энергии прорастания показывают положительную корреляционную связь с величиной ОАА, тогда как с величиной размеров наночастиц прослеживается отрицательная корреляционная связь (рис.2).

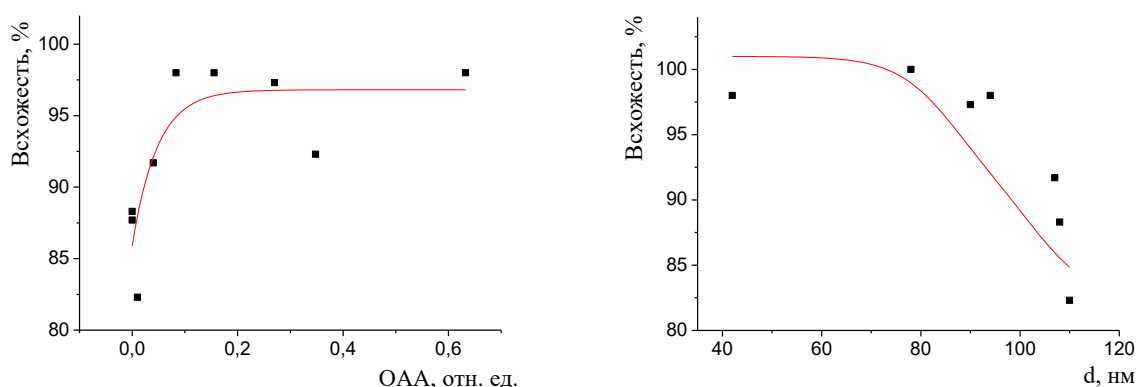


Рис. 2 Диаграммы корреляционной связи между величинами ОАА (слева), размером наночастиц в растворе (справа) и всхожестью гороха сорта «Фараон».

Следует также отметить, что в отношении зависимости физиологических параметров длин корешков и стеблей от величины размера

наночастиц АПФ в растворе продемонстрирована положительная корреляционная связь.

Аналогичные корреляции наблюдались и в сериях экспериментов по про-ращиванию семян яровой пшеницы сортов «Лада» и «Заря», что подтверждает устойчивость выявленных эффектов.

На основании полученных результатов сделано заключение о том, что исследованные АПФ могут представлять интерес в качестве препаратов для обработки семенного материала и/или вегетативных органов растений с целью увеличения урожайности сельскохозяйственных культур и улучшения адаптационных характеристик растений к погодным и климатическим условиям.

Список литературы

1. Панова Г.Г., Канаш Е.В., Семёнов К.Н., Чарыков Н.А., Хомяков Ю.В., Аникина Л.М., Артемьева А.М., Корнюхин Д.Л., Вертебный В.Е., Синявина Н.Г., Удалова О.Р., Куленова Н.А., Блохина С.Ю. // С.-х. биол. – 2018. – Т. 53, № 1. – С. 38 - 49.
2. Волков В.А., Ямскова О.В., Шепель Н.Э., Романова В.С., Курилов Д.В., Трегубов А.В., Вышиванная О.В., Воронков М.В., Ямсков И.А., Мисин В.М., Зубарева Н.Д., Кустов Л.М. // Журн. физ. химии. – 2019. – Т. 93, № 11. – С. 1674 - 1680.

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ Cu^{2+} И ТИОФОСФАТА НАТРИЯ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛЕЦИТИНА В ВОДНОЙ СРЕДЕ

Повх А.Ю., Плящина И.Г., Швыдкий В.О., Шишкина Л.Н.

*ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН,
г. Москва, e-mail: alice.povkh@yandex.ru*

Рост антропогенной нагрузки на биосферу, ввиду способности многих соединений мигрировать на значительное расстояние от очагов загрязнения, а также интегрального повреждающего эффекта, оказываемого совокупностью токсикантов на биологические объекты, обуславливает важность поиска адекватных модельных систем для оценки биологической активности загрязняющих соединений различной природы. Показано, что биологическая активность любых веществ неразрывно связана со способностью данных соединений воздействовать на структуру клеточных мембран организмов за счет взаимодействия с фосфолипидами мембран и на систему регуляции перекисного окисления липидов (ПОЛ) [1].

Целью данной работы являлось изучение возможности применения модели спонтанного окисления лецитина при низких температурах для оценки способности компонентов среды влиять на регуляцию окислительных процессов. Способность лецитина к самоагрегации в полярных и неполярных средах позволяет рассматривать его как модель биологических мембран.

Известно, что ионы Cu^{2+} обладают токсическими свойствами и часто присутствуют в природных водоемах. Соединения же восстановленной серы, к которым относится тиофосфат натрия, присутствуют в отходах целлюлозно-бумажного производства [2]. Помимо восстановительных свойств, тиофосфат натрия обладает способностью к комплексообразованию с ионами переходных металлов [3].

Спонтанное окисление лецитина в дистиллированной воде изучали по накоплению продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-

АП), при 20°C. Качественный и количественный состав фосфолипидов лецитина определяли методом ТСХ по Шталю. Способность препаратов лецитина к агрегации в воде исследовали методом динамического светорассеяния на приборе Zeta Sizer Nano (Malvern Instruments, UK). Измерения проводились в диапазоне концентраций лецитина от 30 до 31 мкг/мл при эквимольном количестве Cu^{2+} и тиофосфата натрия. Повторность измерений составляла 5 раз для каждой пробы. Экспериментальные данные обрабатывали стандартными методами вариационной статистики с использованием пакетов программ МО Excel и KINS [4].

Исследованные партии лецитина отличались как по соотношению фракций фосфолипидов, так и по исходному содержанию ТБК-АП в пробах. Так, начальная концентрация продуктов окисления в использованных препаратах составляла 1,4; 2,6 и 2,85 нмоль/мг лецитина. При этом более высокая начальная концентрация ТБК-АП обуславливала и большую скорость окисления лецитина, так как процесс окисления фосфолипидов в диффузионной области является автоускоренным.

Присутствие эквимольной концентрации ионов Cu^{2+} оказывало максимальное влияние на интенсивность окисления наименее окисленной партии лецитина. Так, с увеличением начальной степени окисленности лецитина зафиксирован рост концентрации продуктов окисления в 10,3 раза, 4,0 и 2,5 раза соответственно.

Эквимольная концентрация ионов Cu^{2+} практически не оказывала влияние на размер агрегатов лецитина (динамический диаметр основной фракции частиц составил 990 ± 80 нм для лецитина и 1050 ± 40 нм в присутствии Cu^{2+}). В то время как тиофосфат натрия и его комплекс с ионами Cu^{2+} уменьшал их диаметр до 740 ± 45 нм и 800 ± 70 соответственно.

Взаимодействие компонентов системы обуславливает изменение как интенсивности спонтанного окисления лецитина, так и характера УФ-спектров эквимольных смесей лецитина с Cu^{2+} , тиофосфатом натрия, а также растворов Cu^{2+} , тиофосфата натрия и лецитина. По снижению интенсивности окисления лецитина исследованные компоненты среды

располагаются в следующей последовательности: $\text{Cu}^{2+} > \text{комплекс } \text{Cu}^{2+} + \text{тиофосфат натрия} > \text{тиофосфат натрия}$.

В экспериментах по изучению влияния компонентов среды на спонтанное окисление лецитина с одновременной регистрацией УФ-спектров был использован препарат с начальной концентрацией продуктов окисления 2,85 нмоль/мг лецитина. Обработка УФ-спектров с использованием разложения по Гауссу выявила существенные изменения длины волны максимумов полос поглощения при добавлении к лецитину исследованных компонентов. Необходимо обратить внимание на совпадение как УФ-спектров, так и содержания продуктов окисления независимо от порядка добавления к лецитину компонентов комплекса.

Таким образом, совокупность полученных данных позволяет сделать следующие заключения. Эффект ионов Cu^{2+} в рассмотренных системах преимущественно обусловлен их способностью инициировать процессы ПОЛ. Отсутствие различий как в УФ-спектрах, так и в содержании продуктов окисления для систем $\text{Cu}^{2+} + \text{тиофосфат натрия} + \text{лецитин}$, образованных при разной очередности внесения реактивов, свидетельствует о наибольшей скорости элементарной реакции образования комплекса Cu^{2+} и тиофосфата натрия и его прочности. Образование комплекса вызывает снижение влияния Cu^{2+} и тиофосфата натрия на параметры водной среды. Спонтанное низкотемпературное окисление лецитина в водной среде может быть использовано в качестве модельной системы для оценки компонентов среды участвовать в регуляции окислительных процессов в биологических объектах.

Список литературы

1. Бурлакова Е.Б. // Химическая и биологическая кинетика. Новые горизонты. Т.2. Биологическая кинетика. М.: Химия, 2005. С. 10-45.
2. Shtamm E. V., Frog B. N., Skurlatov Yu. I., et al. Acta hydrochim. hydrobiol. 30 (2002) 5-6, 256-265.
3. Швыдкий В.О., Штамм Е.В., Байкова И.С., Скурлатов Ю.И. // Биоантиоксидант = Bioantioxidant : труды IX Международной конференции. Москва, 29 сентября – 2 октября 2015 г. – Москва : РУДН, 2015. – С. 66-76.
4. Брин Э.Ф., Травин С.О. // Хим. физика. 1991. Т. 10, №6. С. 830-837.

МЕЖФАЗНОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПРИ ВЫДЕЛЕНИИ ЛИПИДОВ ИЗ ЭКСТРАКТОВ РАСТЕНИЙ

А.Н.Смирнова, В.О. Швыдкий, В.А.Волков, Л.Н.Шишкина

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН; ул. Косыгина, д.4, г.
Москва, 119334 (Россия).
e-mail: shishkina@sky.chph.ras.ru

Флавоноиды, одни из самых распространённых фенольных соединений в растениях, обладают разными физико-химическими свойствами и неодинаковой растворимостью в различных растворителях. Целью данного исследования явилось сравнительное изучение межфазного распределения фенольных соединений 50-% водно-пропиленгликолевых (ВПГ) экстрактов некоторых лекарственных растений после выделения из них липидов.

В работе исследованы экстракты из листьев шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L.), цветков календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) и ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.) и плодов облепихи крушиновидной (*Hippophae rhamnoides* L.).

В процессе экстракции липидов из ВПГ растительных экстрактов по методу Фолча в модификации Кейтса в хлороформном растворе липидов, как известно, концентрируются другие гидрофобные низкомолекулярные соединения [1]. Более гидрофильные компоненты экстрактов остаются в тройной смеси дистиллированная вода/метанол/пропиленгликоль.

Хлороформные растворы при экстракции липидов оказались практически бесцветными, в то время как верхняя тройная смесь растворителей оказалась окрашенной в коричнево-жёлтый цвет разной интенсивности.

В работе распределение фенольных соединений в зависимости от полярности среды оценивали методом УФ-спектрометрии. В экстрактах изученных растительных объектов присутствуют флавоноиды с разной химической структурой. Доминирующими флавоноидами цветков ромашки являются апигенин и лютеолин (флавоны) [2], плодов облепихи изорамнетин

(флавонол) [2], цветков календулы изокверцетин (флавонол) [3], листьев шалфея гликозиды лютеолина и апигенина (флавоны) [4].

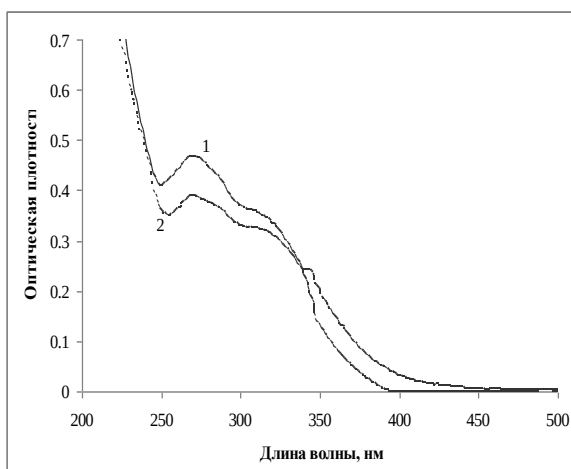


Рис. 1. УФ-спектры ВПГ экстракта цветков ромашки: 1 – общего ВПГ экстракта; 2 – слоя с тройной смесью растворителей

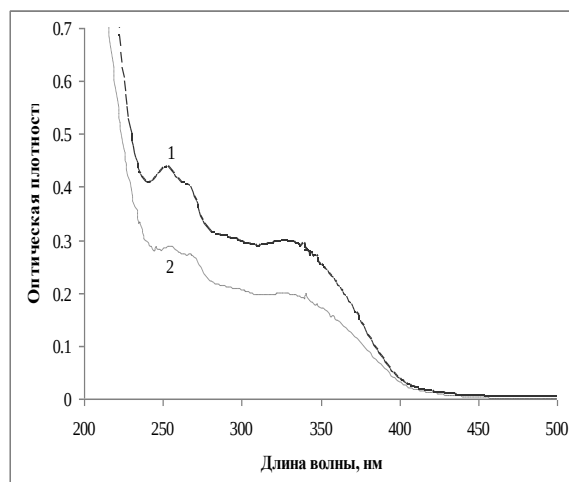


Рис. 2. УФ-спектры ВПГ экстракта цветков календулы: 1 – общего ВПГ экстракта; 2 – слоя с тройной смесью растворителей

Используемые растворители существенно различаются величинами дипольных моментов μ , характеризующими их полярность. По уменьшению μ они располагаются в следующей последовательности: пропиленгликоль (2,2 D) > дистиллированная вода (1,84 D) > метанол (1,7 D) > хлороформ (1,06 D). Столь существенное различие в полярности среды обуславливает и различие в распределении фенольных соединений. Для примера представлены УФ-спектры самих экстрактов и тройного слоя растворителей после извлечения липидов из экстрактов для цветков ромашки (рис.1) и календулы (рис.2). Сравнительный анализ представленных спектров показывает, что полярность растворителя влияет на межфазное распределение флавоноидов, в зависимости от их химической структуры. Видно, что происходит как определённое смещение максимумов поглощения полос II в обоих случаях, так и исчезновение полосы поглощения I в УФ-спектрах экстракта ромашки в тройной смеси растворителей. Кроме того, необходимо отметить изменение соотношения интенсивностей полос I и II всех опытных образцов в зависимости от полярности среды.

Математическая обработка УФ-спектров по Гауссу позволила подтвердить существенные различия в положении максимумов полос поглощения в УФ-спектрах самих экстрактов и тройной смеси растворителей после выделения из экстрактов липидов (табл. 1.). Это позволяет предположить, что более гидрофобные флавононы при экстракции липидов переходят в хлороформный раствор, а более гидрофильные флавонолы и свободные жирные кислоты, также присутствующие в составе растительных экстрактов, находятся в тройной смеси растворителей.

Таблица 1.

Максимумы гауссиан 50%-ного ВПГ экстрактов
цветков календулы лекарственной и ромашки аптечной

	λ_{max} , нм Полоса II ромашка	λ_{max} , нм Полоса I ромашка	λ_{max} , нм Полоса II календула	λ_{max} , нм Полоса I календула
ВПГ экстракт	273,7	310	267,5	341,5
Тройная смесь растворителей	277,7	325,3	259,4	339,5

Отсутствие полос поглощения при $\lambda > 400$ нм, в том числе при разложении УФ-спектров по Гауссу, позволяет предположить, что каротиноиды в ВПГ растительных экстрактах содержатся в следовых количествах. Следовательно, окраска слоя с тройной смесью растворителей, возможно, обусловлена наличием антоцианов, которые также присутствуют в данных растительных объектах.

Авторы выражают искреннюю благодарность к.х.н. Волкову В.А. за любезное предоставление ВПГ растительных экстрактов для исследований.

Литература

1. Кейтс М. Техника липидологии. М.: Мир, 1975. 322 с.
2. Тараховский Ю.С., Ким Ю.А., Абдралилов Б.С., Музафаров Е.Н. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. Пущино: Synchrobook, 2013. 310 с.
3. Шарова О.В., Куркин В.А. // Химия раст. сырья. 2007. № 1. С. 65-68.
4. Yinrong Lu, Yeap Foo L. // Phytochemistry. 2000. Vol. 55. P 263-267.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И УРОВНЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *SWS/NTE* У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

**А.Е. Комиссаров, П.А. Мелентьев, С.И. Тимошенко, Е.А. Иванова,
С.В. Саранцева**

*НИЦ «Курчатовский Институт» - ПИЯФ, Гатчина, Россия
tem3650@yandex.ru*

Ген нейротоксичной эстеразы (*NTE*) человека является эволюционно-консервативным, его ортологи есть у разных организмов: от бактерий до млекопитающих. У эукариота белок содержит домен сериновой эстеразы и, участок, выполняющий функции неканонической регуляторной субъединицы протеинкиназы А. Дисфункция белка у разных организмов, ведёт к развитию нейродегенерации. В частности, при нарушении функционирования белка *NTE* у человека наблюдается ряд синдромов, особенностью которых является гибель разных популяций нейронов. Так, например, при наследственной спастической параплегии гибнут нейроны преимущественно пирамидных трактов, а при синдромах Boucher-Neuhauser и Gordon Holmes наблюдается нейродегенерация в мозжечке. Ортологом гена *NTE* у дрозофилы является ген *sws*, при дисфункции которого развивается нейродегенерация, а также уменьшается продолжительность жизни.

Хорошо известно, что одна из характеристик нейродегенеративных заболеваний – это взаимосвязь окислительного стресса (ОС) и гибели нейронов. Под ОС понимают ответную реакцию клетки на высокую концентрацию активных форм кислорода (АФК). Они образуются как естественные побочные продукты нормальной клеточной активности и в норме участвуют в клеточной передаче сигналов. Однако, при избытке АФК окисляются белки, липиды и ДНК, что приводит к нарушению функционирования клетки и к ее дальнейшей гибели.

Целью данной работы было показать взаимосвязь уровня нейродегенерации и уровня АФК в мозге особей *Drosophila melanogaster* с подавлением экспрессии *sws* в нейронах и глиальных клетках, а также у линий с гиперэкспрессией *NTE* в нейронах и глиальных клетках. Для определения уровня активных форм кислорода был выбран распространённый зонд H2DCF-DA.

Мы показали увеличение уровня нейродегенерации с возрастом у мух с дисфункцией гена *sws* в нейронах и глиальных клетках, который коррелировал с изменением уровня АФК.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-34-00982

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИОКСИДАНТОВ «ТФ-15» И «ТФ-7» ПРИ ЛЕЧЕНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА

**В.И. Лошенко¹, А.Е. Просенко^{1,2}, Е.Н. Арбузова³, А.Д. Зонова¹,
А.В. Сахаров¹**

*¹Новосибирский государственный педагогический университет,
Россия, 630126, Новосибирск, ул. Вилюйская, 28,
8 (383) 244 02 97, E-mail: vitalina_loshenk@mail.ru*

*²Новосибирский институт антиоксидантов,
Россия, 630091, Новосибирск, ул. Красный проспект, 54а*

*³Омская гуманитарная академия, Россия,
644105, Омск, ул. 4-я Челюскинцев, 2а*

Высокая медико-социальная значимость сахарного диабета обусловлена ранней инвалидизацией людей трудоспособного возраста и смертностью населения [1]. В этой связи разработки методов профилактики и лечения сахарного диабета выступают в качестве ключевых приоритетов национальных систем здравоохранения всех стран мира [3].

Целью исследования являлась оценка эффективности применения антиоксидантов «ТФ-15» и «ТФ-7» при лечении сахарного диабета 2-го типа.

Экспериментальная часть работы выполнена на самцах мышей линии CD-1 средней массой тела $40,75 \pm 1,09$ г. Животные получены из лаборатории экспериментальных животных Института физиологии и фундаментальной медицины СО РАМН (г. Новосибирск). Животных до начала экспериментов адаптировали в течение 14-и суток, а затем разделили на 6-ь групп, которые содержались по 10 особей в одной клетке без ограничения доступа к воде при комнатной температуре воздуха (18–22 °С) и естественном освещении.

Животные интактной группы ($n=10$) не подвергались никаким манипуляциям. Мышам 1-й контрольной и 2-й контрольной групп в пищу вводили антиоксиданты «ТФ-15» и «ТФ-7» один раз в сутки, в дозах 60 мг/кг и 70 мг/кг соответственно. Антиоксидант «ТФ-15» вводили в составе масляного раствора, а «ТФ-7» – водного раствора. У животных 1-й, 2-й и 3-й опытных групп моделировали развитие сахарного диабета 2-го типа путем однократного подкожного введения в межлопаточную область свежеприготовленного 10% раствора аллоксана в объеме 0,037 мл/40 г массы тела [2]. С животными 1-й опытной группы ($n=10$) никаких манипуляций в дальнейшем не проводилось. Мышам 2-й ($n=10$) и 3-й ($n=10$) опытных групп в

состав корма вводили антиоксиданты «ТФ-15» и «ТФ-7», в дозах 60 мг/кг и 70 мг/кг соответственно. Поедаемость кормов учитывали индивидуально для каждого животного. Длительность острого эксперимента составила 7-ь суток. Животных всех групп подвергали взвешиванию до начала эксперимента и далее каждые 3-е суток. На 7-е сутки наблюдения мышей всех групп выводили из эксперимента путем кранио-цервикальной дислокации.

Объектом исследования являлась поджелудочная железа (ПЖ) мышей линии CD-1.

Предмет исследования – структурно-функциональные изменения в поджелудочной железе мышей при сахарном диабете.

Для определения содержания глюкозы и лактата в крови, а также гликогена в мышцах и печени использовали спектрофотокolorиметрический метод анализа. Концентрацию глюкозы рассчитывали по стандартной кривой. Концентрацию гликогена определяется по калибровочной кривой, построенной по стандартным отведениям глюкозы, и пересчитываются в мг/100 г сырой ткани.

Для морфофункционального изучения у мыши извлекли ПЖ и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Образцы ткани подвергали обезвоживанию и просветляли согласно протоколу проводки тканей в изопропиловом спирте. Серийные срезы толщиной 4-5 мкм изготавливали на ротационном полуавтоматическом микротоме SLEE CUT 5062 (Германия).

Окрашивание обзорных препаратов гематоксилином Бемера и эозином осуществляли по стандартной методике. Кислые гликозаминогликаны (ГАГ) выявляли реакцией по методу Сидмена. Гистологические препараты ПЖ изучали в проходящем свете с помощью микроскопа Axio Imager. M2 с программным обеспечением для анализа изображений Axio Vision Z2 M2 (Carl Zeiss, Германия).

Обработку морфометрических данных по островкам Лангерганса проводили с использованием специальной программы Zen (Carl Zeiss, Германия) для автоматического подсчета заданного параметра на обзорных препаратах при увеличении объектива 5х. Статистическую обработку данных проводили используя программы Microsoft Excel 2010 и Statistica v9.0. Достоверность, полученных данных оценивали используя *t*-критерий Стьюдента.

Результаты проведенного исследования показали, что использование антиоксиданта «ТФ-15» при моделировании сахарного диабета 2-го типа у мышей приводит к снижению массы тела на 9,30%, глюкозы в крови на 57,98% и повышению содержания гликогена в мышцах на 8,95%, печени – 9,12% по сравнению с образцами мышей 1-й опытной группы.

Применение антиоксиданта «ТФ-7» для оптимизации углеводного обмена при моделировании сахарного диабета 2-го типа у мышей позволяет снизить массу тела на 15,01%, содержание глюкозы в крови на 62,81% и повысить содержания гликогена в мышцах на 17,62%, печени – 4,95% по сравнению с образцами мышей 1-й опытной группы.

В условиях аллоксановой модели сахарного диабета 2-го типа антиоксидант «ТФ-7» имеет преимущества по сравнению с «ТФ-15» в отношении коррекции структурно-функциональных нарушений поджелудочной железы и углеводного обмена.

Список литературы

1. Айзман Р.И., Гайдарова А.П., Корощенко Г.А., Сахаров А.В. Влияние порошка корневища *Cirsium longa* на морфофункциональные показатели почек крыс с экспериментальной моделью сахарного диабета // Вестник Тюменского государственного университета. Экология и природопользование, 2015. Т. 1. № 2. С. 166-172.
2. Рябова А.В., Лошенко В.И. Эффективность применения антиоксидантов нового поколения при лечении сахарного диабета II типа // Экология Южной Сибири и сопредельных территорий : материалы XXII Международной научной школы-конференции студентов и молодых ученых. Абакан : ХГУ им. Н. Ф. Катанова, 2018. Т. С. 136-137.
3. Рябова А.В., Лошенко В.И., Зонова А.Д. Изучение возможности коррекции углеводного обмена у мышей при моделировании сахарного диабета // Молодежь XXI века: образование, наука, инновации : материалы VII Всероссийской студенческой научно-практической конференции с международным участием. В 3-х частях. Новосибирск : НГПУ, 2018. Ч. 1. С. 68-70.

ВЛИЯНИЕ АНТИОКСИДАНТА «ТФ-15» НА УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ОКСИДА АЗОТА В ПЕРЕДНЕМ МОЗГЕ СИБИРСКОГО ОСЕТРА ПРИ ПОВЫШЕННОМ СОДЕРЖАНИИ ИОНОВ ЖЕЛЕЗА В СРЕДЕ ОБИТАНИЯ

В.И. Лошенко¹, А.Е. Просенко^{1,2}, А.Д. Зонова¹, А.В. Сахаров¹

*¹Новосибирский государственный педагогический университет,
Россия, 630126, Новосибирск, ул. Виллюйская, 28,
8 (383) 244 02 97, E-mail: vitalina_loshenk@mail.ru*

*²Новосибирский институт антиоксидантов,
Россия, 630091, Новосибирск, ул. Красный проспект, 54а*

Особенности синтеза оксида азота (NO) клетками нервной ткани головного мозга рыб в условиях адаптации к изменяющимся параметрам среды их обитания остаются недостаточно изученным [1].

Целью работы являлось изучение влияния антиоксиданта «ТФ-15» на уровень экспрессии клетками нервной ткани NO в переднем мозге сибирского осетра в норме и при повышенном содержании ионов железа в среде обитания.

Экспериментальные исследования проводились на базе специализированного рыбоводного предприятия «Волгореченскрыбхоз». Головной мозг молоди осетра забирали для проведения морфологических исследований в течение всего года с разграничением временных границ стабильного и нестабильного гидрохимического режима поступающей из подземных скважин воды в бассейны для рыборазведения [3]. Нестабильный гидрохимический режим обусловлен природными явлениями и характеризуется сезонным увеличением содержания ионов железа в водной среде от 0,09 мг/дм³ до 4,86 мг/дм³.

В ходе исследования изучалось влияние антиоксиданта «ТФ-15» на уровень экспрессии NO клетками нервной ткани переднего мозга осетров в период стабильного гидрохимического режима. Осетры контрольной группы ($n=20$) получали стандартный корм для осетров. Особям 1-ой опытной группы ($n=20$) в корм вводили антиоксидант «ТФ-15» в дозе 60 мг/кг.

В период нестабильного гидрохимического режима рыбы 2-ой и 3-ей опытных групп ($n=20$) находились в воде с концентрацией ионов железа $3,72 \pm 1,14$ мг/дм³ (ПДК_{Fe} для вод водоемов рыбохозяйственного значения=0,1 мг/дм³). Осетров 2-ой опытной группы кормили стандартным кормом для

осетров без добавок. Рыбам 3-ей опытной группы в корм вводили антиоксидант «ТФ-15» в дозе 60 мг/кг.

На 30-е сутки наблюдения рыб всех групп выводили из эксперимента путем декапитации. Полученные образцы головного мозга фиксировали в 10% формалине и проводили по стандартной методике [2]. Производили серийные срезы толщиной 5-6 мкм. Их монтировали на предметные стёкла с поли-L-лизинном для проведения иммуногистохимической реакции. Изучение полученных препаратов проводилось в проходящем свете на микроскопе Axio Imager.M2 Carl Zeiss(Германия).

При изучении иммуногистохимической реакции на iNOS установлено, что как в контроле, так и в 1-ой опытной группе положительная реакция обнаруживается исключительно в эпителии сосудистого сплетения и не имеет достоверных различий. В исследуемых образцах мозга рыб 2-ой опытной группы регистрируется наиболее высокий уровень экспрессии данного белка. С нашей точки зрения, экспонирование организма осетра в течение 30 суток катионами железа приводит к повышению активности клеток эпителия сосудистого сплетения в отношении синтеза iNOS. Использование антиоксиданта «ТФ-15» у осетров 3-ей опытной группы приводит исследуемый показатель к значениям рыб контрольной группы и дает все основания считать, что его действие ограничивает развитие свободнорадикального повреждения клеток нервной ткани переднего мозга.

Список литературы

1. Лошенко В.И., Зинченко Н.Д. Особенности экспрессии NO-синтазы в клетках переднего мозга сибирского осетра // Молодежь XXI века: образование, наука, инновации : материалы VI Всероссийской студенческой научно-практической конференции с международным участием. (Новосибирск, 22-24 ноября 2017 г.) : в 3 ч. – Новосибирск : НГПУ, 2017. Ч. 1. С. 43-45.

2. Лошенко В.И., Сахаров А.В., Просенко А.Е., Сивохина Л.Н. Адаптационная пластичность нейронов головного мозга сибирского осетра в условиях колебаний температурного режима среды обитания // Вестник Чувашского государственного педагогического университета им. И. Я. Яковлева. 2016. № 2 (90). С.17-25.

3. Лошенко В.И., Сахаров А.В., Рябчикова Е.И., Просенко А.Е. Синаптическая пластичность головного мозга сибирского осетра при изменении параметров информационной среды // Вестник Новосибирского государственного педагогического университета. 2016. № 3. С. 154-166. DOI: <http://dx.doi.org/10.15293/2226-3365.1603.14>.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ КАСТОРЕУМА И АНТИОКСИДАНТА «ТФ-15» ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТОРОГО ПРОСТАТИТА У МЫШЕЙ

**А.Е. Просенко^{1,2}, В.И. Лошенко¹, Е.Н. Арбузова³, А.В. Беляев¹,
А.В. Сахаров¹**

*¹Новосибирский государственный педагогический университет,
Россия, 630126, Новосибирск, ул. Виллюйская, 28,
8 (383) 244 02 97, E-mail: vitalina_loshenk@mail.ru*

*²Новосибирский институт антиоксидантов,
Россия, 630091, Новосибирск, ул. Красный проспект, 54а*

*³Омская гуманитарная академия, Россия,
644105, Омск, ул. 4-я Челюскинцев, 2а*

Воспаление простаты является одними из самых распространенных заболеваний в урологической практике. Среди мужского населения различных возрастных групп простатит диагностируется от 13,2% до 65,2% [3]. В настоящее время установлена связь между простатитом и развитием злокачественной опухоли предстательной железы. У мужчин данная патология по частоте встречаемости занимает второе место после рака легких. Учитывая, что воспалительное заболевание предстательной железы достаточно широко распространено среди мужчин репродуктивного возраста, простатит часто является одной из причин мужского бесплодия. Данная ситуация представляет угрозу репродуктивному здоровью нации и определяет высокую актуальность исследований, направленных на решение проблем в лечении заболеваний мужской половой системы [1].

Целью исследования являлось изучение эффективности применения комплексного соединения на основе кастореума и антиоксиданта «ТФ-15» при лечении воспаления предстательной железы у мышей.

Исследование проводили на мышах линии CD-1 массой $40,96 \pm 1,18$ г. Все животные были разделены на семь групп по 10 особей в каждой – интактную и шесть групп сравнения. Мышам интактной группы ежедневно в

течение 7-и суток к стандартному корму добавляли мясной фарш в объеме 5% от общей массы корма. В дальнейшем никаких дополнительных манипуляций с ними не проводилось. Мышам 1-й группы сравнения в корм вводили антиоксидант «ТФ-15» в дозе 60 мг/кг один раз в сутки в составе мясных болюсов. Животным 2-й группы сравнения в мясной фарш добавляли кастореум в дозе 0,12 г в сутки. У мышей 3-7 групп сравнения моделировали развитие простатита путем локального переохлаждения предстательной железы. Самцов высаживали на лед и подвергали однократной 15-и минутной экспозиции на холоде. Срок моделирования – 7-ь суток. С самцами мышей 3-й группы никаких манипуляций не производили. Особям 4-й опытной группы дополнительно к стандартному корму добавляли 5% от общего объема корма мясной фарш в виде болюсов; животным 5-й группы в фарш вводили кастореум в дозе 0,12 г; мышам 6-й группы в фарш добавляли антиоксидант «ТФ-15» в количестве 60 мг/кг, самцам 7-й группы в фарш добавляли кастореум в дозе 0,12 г совместно с антиоксидантом «ТФ-15» в дозе 60 мг/кг. Мясными болюсами кормили 1-н раз в сутки в течение 7-и суток. Поедаемость корма учитывалась индивидуально путем пересаживания животных в персональные клетки. Животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом на 8-е сутки наблюдения.

Объектом исследования являлась предстательная железа мышей. Исследуемые образцы фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина и далее проводили по стандартной методике. Гистологические срезы толщиной 5-7 мкм изготавливали на микротоме SLEE CUT 5062 (Германия). Обзорные препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Распределение коллагена выявляли в реакции Маллори [2]. Препараты изучали с использованием комплекса оптико-структурного анализа Axio Imager. M2 с программным обеспечением для анализа изображений Axio Vision Z2 M2 (Carl Zeiss, Германия).

На обзорных препаратах железы мышей, которым воспроизводили

модель воспаления предстательной железы, наблюдается типичная картина простатита. Секрет железы скудный. Клетки эпителия теряют характерную для нормы полярность строения. В цитоплазме снижается содержание вакуолей, типичных для нормы. В структуре слизистой оболочки определяются многочисленные сегментоядерные нейтрофилы, что указывает на развитие острого воспаления. Полученные результаты дают все основания считать, что в ходе исследования была разработана и морфологически верифицирована модель острого воспаления предстательной железы у мышей.

Установлено, что введение в организм мышей кастореума в условиях отсутствия холодовой нагрузки показывает морфологическую картину повышения функциональной активности клеток простаты.

Применение антиоксиданта «ТФ-15» приводит к повышению активности белок-синтетического аппарата в клетках эпителия предстательной железы у самцов 1-й группы сравнения и достоверно снижает уровень воспаления в простате мышей 6-группы при ее переохлаждении.

Действие комплексного соединения на основе кастореума и антиоксиданта «ТФ-15» при лечении воспаления предстательной железы у мышей блокирует процессы воспаления и приводит к норме структурно-функциональные характеристики простаты.

Список литературы

1. Зуева Т.В., Богданов Ю.А., Карпунина Т.И. Эпидемиологическая оценка заболеваемости болезнями предстательной железы на территории г. Перми // Медицинский альманах. 2013. №2 (26). С. 120-122.
2. Луканина С.Н., Сахаров А.В., Просенко А.Е., Жучаев К.В. Особенности гидро- и ионоуретической функций почек крыс при окислительном стрессе // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Биология и экология. 2017. № 1. С. 18-27.
3. Lummus W.F., Thompson I. Prostatitis // Emergency Medicine Clinics of North America. 2001. Vol. 19. № 3. P. 691-707.

БИОПОЛИМЕРЫ (СВОБОДНЫЕ ЛЕГКИЕ ЦЕПИ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ) СЫВОРОТКИ КРОВИ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ПРИ ПРОГНОЗИРОВАНИИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

**Когарко И.Н.¹, Когарко Б.С.¹, Ганеев И.И.¹, Голенков А.К.²,
Марьина С.А.³**

- 1 ФГБУН Институт химической физики им. Н.Н.Семенова РАН*
- 2 ФГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский институт им. М.Ф.Владимирского*
- 3 ФГБУ Национальный медицинский исследовательский гематологический центр МЗ РФ*

Данное исследование является продолжением работ в ИХФ РАН по изучению физико-химических основ превращений различных биополимеров при воздействии на них физических, химических и прочих факторов.

Целью работы является определение прогностических признаков злокачественной трансформации лимфоцитов при хроническом лимфолейкозе (ХЛЛ) и изменения свободных легких цепей иммуноглобулинов (СЛЦ) сыворотки крови.

Материалы и методы. В исследовании были взяты 10 больных с впервые выявленным ХЛЛ. Медиана возраста составляла 55 лет (от 33 до 69 лет). Стадию болезни оценивали по критериям IWCLL 2008г. У 5 больных была 2-я стадия, остальные имели 4-ю стадию заболевания (по таблице Rai). Анализ СЛЦ основан на выявлении скрытых эпитопов цепей каппа и лямбда с помощью специфических антител. Тест позволяет определить концентрацию только СЛЦ, не связанных с тяжелыми цепями Ig. Определение легких цепей имеет целый ряд преимуществ, в частности, более высокую чувствительность по сравнению с определением уровня полноразмерных Ig. Чувствительность теста (предельно низкая концентрация антигена) составляет 0,1 мг/л, если СЛЦ определяются в моче, и примерно 0,5 мг/ л, если они определяются в

сыворотке крови. Важное преимущество состоит в том, что период полувыведения СЛЦ значительно меньше, чем у полноразмерных Ig – 2–4 ч у цепи каппа и 3–6 ч у цепи лямбда (для сравнения, период полувыведения IgG составляет 21 день). Благодаря этому определение СЛЦ позволяет очень рано оценивать эффективность лечения и выявлять начало рецидива заболевания, а также уменьшает необходимость в повторных биопсиях костного мозга.

Результаты. Цитогенетические нарушения в лимфоцитах при ХЛЛ встречаются обычно у 80% больных. Прогностически значимыми отклонениями в клетках интерфазы являются трисомия 12-ой хромосомы (наблюдалась у 3-х больных), делеция длинного плеча 11-ой хромосомы (3 пациента). делеция короткого плеча 17-ой хромосомы (наблюдалась у 4-х чел.) и делеция длинного плеча 13-ой хромосомы. Аберрации в 11-ой и 17-ой хромосомах указывают на быстрое прогрессивное течение болезни, резистентность к химиотерапии, нарушение репарации ДНК и блокирование апоптоза. Изменение мутационного статуса генов тяжелой цепи иммуноглобулинов (выявлено у 8 больных) также может являться прогностическим фактором при ХЛЛ. Без мутационных изменений таких генов заболевание протекает более агрессивно и наблюдается худший ответ на проведенную химиотерапию и более низкая выживаемость. При анализе результатов по аномальному соотношению СЛЦ каппа и лямбда в сыворотке крови (менее 0,26 и более 1,65) обнаружено, что у всех больных наблюдалось увеличение секреции IgM и IgG. В связи с тем, что у пациентов, которым впервые был поставлен диагноз ХЛЛ, обнаружены аномальные значения соотношения цепей иммуноглобулинов каппа к лямбда, можно полагать, что этот результат может быть признаком «злокачественности» при развитии ХЛЛ. В добавление, полученная иммунофенотипическая картина характерна для перестройки генома клеток.

Выводы. Внедрение современных физико-химических, молекулярно-генетических и цитогенетических методов исследования позволяют

исследовать нормальные и злокачественные клетки в интерфазе, что способствует выявлению более глубоких нарушений в молекулярной структуре генома. На основании полученных данных прогностическими признаками течения заболевания являются цитогенетические отклонения, мутационный статус и изменения соотношения СЛЦ иммуноглобулинов сыворотки крови. Сравнительный анализ вышеперечисленных факторов, повышение их количественных значений дает возможность прогнозировать течение болезни и корректировать ее лечение.

СПЕКТРАЛЬНО-КИНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОМПЛЕКСА БИСКАРБОЦИАНИНОВОГО КРАСИТЕЛЯ С СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ

Костюков А.А.¹, Местергази М.Г.^{1,2}, Шмыкова А.М.², Кривелева А.С.²,
Подругина Т.А.², Радченко Е.В.², Палюлин В.А.², Кузьмин В.А.¹

¹ Россия, Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН,

² Россия, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова

Оптическая инфракрасная медицинская визуализация является одним из перспективных методов медицинской диагностики. Предъявляемые требования к создаваемым агентам требуют выполнения следующих условий: накопление в клетках, работа в ближнем ИК, комплексообразование с белками крови [1]. Среди цианиновых красителей (ЦК) бискарбоцианиновые красители (БКЦ), содержащие две хромофорные системы в структуре молекулы, являются наименее изученными. Основным достоинством БКЦ является при сохранении высокой фотостабильности обладать характеристиками длинноцепочечных ЦК за счет эффекта Давыдовского расщепления и туннелирования электрона через центральный гетероцикл.

В настоящей работе изучены оптические спектрально-кинетические свойства красителя (структура представлена на Схеме 1) представляющего собой параметилпиридиновый фрагмент, связанный поливиниленовыми фрагментами с двумя бензоиндолениновыми.

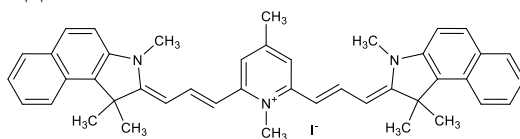


Схема 1. Структура БКЦ

Методом импульсного фотолиза в органическом растворителе установлено образование фотоизомеров. Методом лазерного импульсного фотолиза раствора комплекса краситель-белок в фосфатно-солевом буфере установлена константа скорости деградации образующихся под действием красного света интермедиатов. При помощи времяз разрешенной флуориметрии показано, что при изменении концентрации белка происходит изменение состава комплекса краситель-белок и смещение полосы флуоресценции в ближний ИК-диапазон. Полученные данные коррелируют с результатами полужесткого докинга и молекулярной динамики. Измерением внутриклеточного накопления красителя было показано, что исследуемое соединение эффективно входит в раковые клетки НСТ116 и накапливается в них.

«Исследования выполнены с использованием оборудования ЦКП «Новые материалы и технологии» ИБХФ РАН» при поддержке гранта РФФИ, проект 18-33-01112.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Проскурнина М.В., Подругина Т.А., Кузьмин В.А., Некипелова Т.Д., Зефирова Н.С. Флуорофоры с индолениновым скаффолдом и их применение в биомедицинских целях. Уфа: Гилем, Башк. энцикл., 2016.

ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ БИСКАРБОЦИАНИНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ НА ИХ СПОСОБНОСТЬ К НАКОПЛЕНИЮ В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ НСТ116 И ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА

Климович М.А.¹, Костюков А.А.¹, Радченко А.Ш.¹, Шибаета А.В.¹,
Местергази М.Г.^{1,2}, Кривелева А.С.², Шмыкова А.М.², Маркова А.А.³,
Штиль А.А.⁴, Подругина Т.А.², Кузьмин В.А.¹

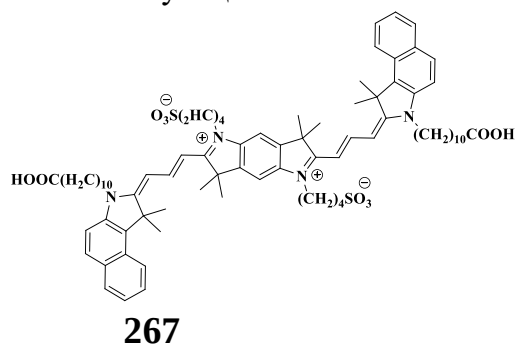
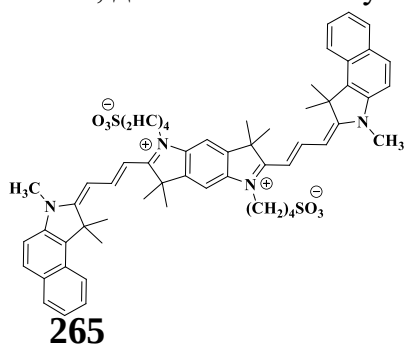
¹ Россия, Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН,

² Россия, Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,

³ Россия, Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова
РАН,

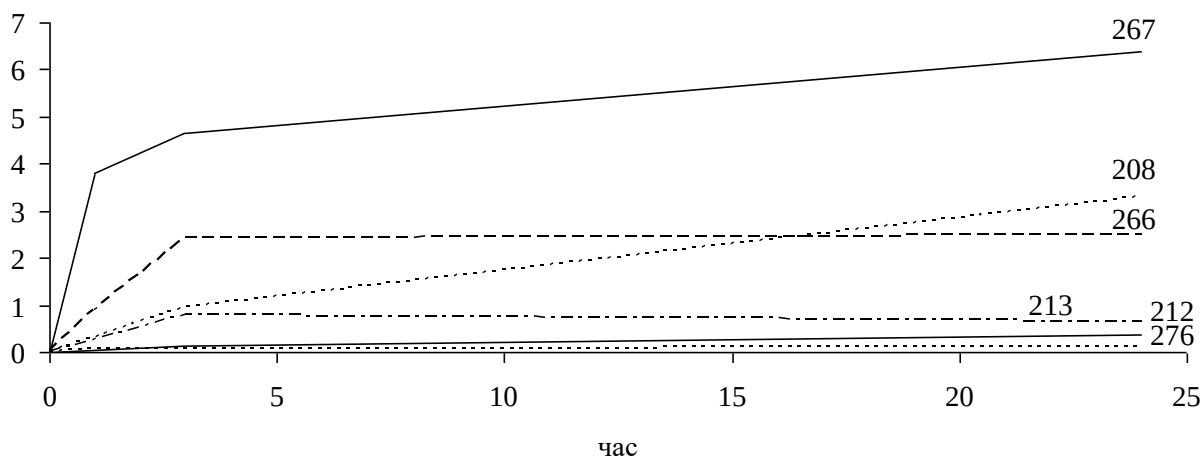
⁴ Россия, Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им.
Н.Н. Блохина Минздрава РФ

Целью данной работы являлось исследование ряда бискарбоцианиновых красителей в качестве потенциальных препаратов фотодинамической терапии злокачественных новообразований. Накопление в человеческих клетках рака прямой кишки линии НСТ 116 бискарбоцианиновых красителей регистрировали на спектрофлуориметре Флюорат-02 панорама. Красители **220**, **241**, **ZPK2** и **ZPK4** практически не накапливались в клетках. Краситель **265** лучше всех накапливался в клетках, достигая максимума при 24 часовой инкубации.

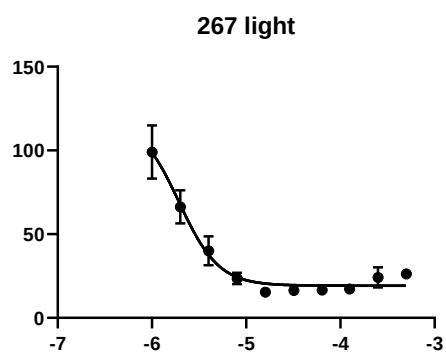
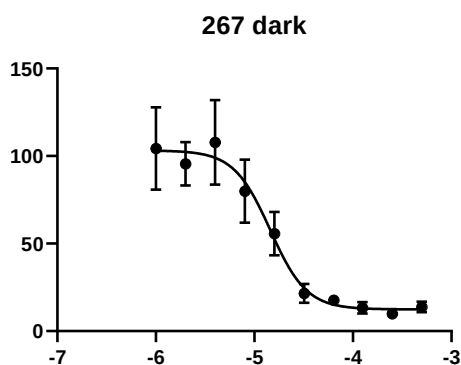


Сродство красителей к альбумину определяло их накопление в клетках.

МТТ тест, по которому был сделан вывод фотодинамической цитотоксичности красителей *in vitro*, проводили в 2 вариантах: темновой и световой. Общее время инкубации с красителями составляло 72 часа. В световом варианте эксперимента через 24 часа инкубации клеток с красителями облучали в течение 30 минут лазером с $\lambda=533$ нм мощностью 200мВт, далее инкубация продолжалась ещё 48 часов. Лучшими фотосенсибилизирующими свойствами обладал краситель **267**.



ИС 50 некоторых красителей		
краситель	световой вариант	темновой вариант
208a	-4,3 ÷ -3,6	в широких пределах
265	-5 ÷ -4,6	в широких пределах
267	-6,1 ÷ -5,6	-4,95 ÷ -4,73
276	-4,2 ÷ -3,7	-3,9 ÷ -2,6
241	-3,5 ÷ -3,95	-3,7



Выводы. Сродство красителей к альбумину определяло их накопление в клетках. Поставленным задачам из изученной линейки бискабоцианиновых красителей соответствовал **267**, у которого отсутствовала темновая цитотоксичность и имел лучшее соотношение световой и темновой активностей. Стоит отметить **265**, обладавший световой активностью, но в тестах без облучения был цитотоксичным. Применение красителя **212** затруднено ввиду малого «терапевтического окна».

Спектроскопические измерения проведены на базе ЦКП «Новые материалы и технологии» ИБХФ РАН. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда по проекту № 18-13-00463 «Механизмы фотохимических процессов в комплексах полиметиновых красителей с двумя сопряженными хромофорами и белков».

СИНТЕЗ И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ (ДОДЕЦИЛТИО)МЕТИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГИДРОХИНОНА, ТРЕТ-БУТИЛГИДРОХИНОНА И 2-ТРЕТ-БУТИЛ-4- МЕТОКСИФЕНОЛА

И. А. Емельянова¹, Е.В. Вологодина¹, А.Е. Просенко^{1,2}

¹Новосибирский государственный педагогический университет,
Россия, 630126 Новосибирск, ул. Виллюйская, 28
E-mail: airinaemelyanova@gmail.com

²Новосибирский институт антиоксидантов,
Россия, 630091 Новосибирск, ул. Красный проспект, 54а.

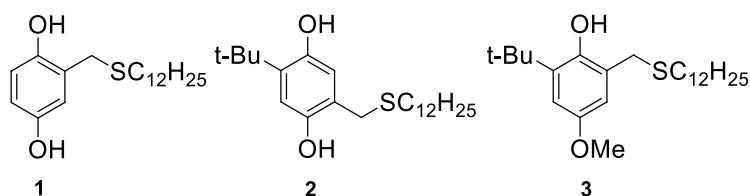
К числу актуальных направлений поиска высокоэффективных антиоксидантов относится разработка полифункциональных соединений, способных комплексно ингибировать окисление, на основе монофункциональных прототипов. Представителями такого типа соединений являются серосодержащие промышленные антиоксиданты (ирганоксы 1520 и 1726) и биоантиоксиданты (тиофан и тиофан-М). Высокое ингибирующее действие тиопроизводных фенолов реализуется посредством синергического сочетания антирадикальной активности фенольных фрагментов с противопероксидной активностью серосодержащих групп [1,2].

По нашему мнению, гидрохинон и его алкилированные производные (*трет*-бутилгидрохинон, *2-трет*-бутил-4-метоксифенол) могут являться перспективными фенолами для дизайна полифункциональных производных. Ранее в НИИ химии антиоксидантов НГПУ был разработан простой и эффективный способ модификации алкилфенолов [3] додецилтиометильными группами, основанный на реакции этих фенолов с (N,N-диэтиламинометил)додецилсульфидом. Однако данный подход не был апробирован для получения алкилтиометильных производных гидрохинона.

В этой связи, целью работы являлись оценка возможности использования (N,N-диэтиламинометил)додецилсульфида для синтеза (додецилтио)метильных производных на основе гидрохинона, *трет*-бутилгидрохинона, *2-трет*-бутил-4-метоксифенола, их наработка и сравнительное исследование антиоксидантной активности синтезированных соединений.

Взаимодействие гидрохинона, *трет*-бутилгидрохинона и *2-трет*-бутил-4-метоксифенола с (N,N-диэтиламинометил)додецилсульфидом позволило получить функционализированные серосодержащим фрагментом соединения 1-3.

Схема 1



Исследование антиоксидантной активности синтезированных соединений проводили с использованием двух модельных систем. Антирадикальная активность соединений **1-3** исследована в модельной реакции AIBN-инициированного окисления стирола (37 °С), что позволило определить константы скорости k_7 и стехиометрические коэффициенты ингибирования f . Оценку суммарной антиокислительной активности проводили в модельной реакции термического автоокисления растительного масла (60 °С). Установлено, что синтезированные соединения превосходят по ингибирующей активности, как исходные монофункциональные антиоксиданты, так и серосодержащие аналоги на основе одноатомных фенолов.

Список литературы

1. Meier H., Kuenzi H., Knobloch G., Rist G., Szelagiewicz M. Reactions of Sulfur Containing Phenolic Antioxidants for Elastomers // Phosphorus, Sulfur and Silicon 1999. –Vol. 153-154. –p. 275-300.
2. Просенко А. Е. Полуфункциональные серо-, азот-, фосфоросодержащие антиоксиданты на основе алкилированных фенолов: синтез, свойства, перспективы применения. дис. ... д-ра. хим. наук : (02.00.03). Новосибирск, 2010. 451 с.
3. Бугаев И.М., Просенко А.Е. Новый метод алкилтиометилирования фенолов // Изв. АН, Сер. хим. 2010. N 4. С. 843.

Т.Г. Денисова

*Российская академия наук, Институт проблем химической физики,
Черноголовка Московской обл., просп. Акад. Семенова, 1
E-mail: denisova@icp.ac.ru*

Свободу в научных исследованиях я ценил очень высоко
Е.Т. Денисов

Евгений Тимофеевич Денисов. Заслуженный деятель науки Российской Федерации, за особые достижения в области химической и биохимической физики награжден медалью "100 лет академику Н.М. Эмануэлю" (2015 г.). За заслуги в научной деятельности, развитии образования, подготовке квалифицированных специалистов и многолетнюю добросовестную работу награжден медалью Ордена «За заслуги перед Отечеством» II степени (2017 г.). Доктор химических наук, профессор, Почетный доктор Башкирского Государственного Университета (2009), академик Академии Творчества (с 1992 года), академик Международной Академии наук (с 1994 года), член и председатель комиссий ИЮПАК (1979 – 1991 гг.), работал членом экспертного совета ВАК СССР, председатель Диссертационного совета Д 002.082.02 в ИПХФ РАН (1978–2014 гг.). Евгений Тимофеевич прожил счастливую жизнь – сказала мне недавно его аспирантка. Действительно: Е.Т. Денисов создал Лабораторию, Кафедру, у него Ученики, Дом, Дети, Внуки и Правнуки. Он занимался любимым Делом – Наукой и написал об этом об этом 28 Книг и более 540 Статей.

ВСЕ МЫ РОДОМ ИЗ ДЕТСТВА

Антуан де Сент-Экзюпери

ЖЕНЯ ДЕНИСОВ

Евгений Тимофеевич Денисов родился 19 июня 1930 г. в г. Калуге, что на высоком берегу Оки – реки с быстрым течением, в семье строителя и учительницы. В детстве Женя читал книги о путешествиях – Жюль Верна, Майна Рида. Любимым фильмом был и оставался «Дети капитана Гранта». В жизни Женя был очень разносторонним человеком. Школьником и студентом он обошел все леса и сосновые боры вокруг Калуги за реками Окой и Яченкой, собирал коллекции и гербарии, исследовал огромный Березуйский овраг в городе, в юности покорял горы Кавказа! В молодости путешествовал на автомобилях. В зрелости сплавлился по рекам Башкирии.

И, конечно, путешествия по странам и континентам, связанные с участием во всесоюзных и зарубежных конференциях.

Женя рано научился плавать. Он любил плавать – в озере, реке, море, океане. Плаванием он наслаждался и использовал для этого любую возможность. Его не пугали течения, волны, скалы, расстояния. Он умел отдыхать в воде и возвращаться. Женя плавал в реках России, озерах Карелии, Черном, Балтийском, Японском, Красном, Средиземном морях, близ Владивостока и Сахалина, у берегов Австралии, Англии, Америки – везде, где была вода. Любил лыжи, ходил на большие расстояния.

В его родной город Калугу мы ездили ежегодно, часто с братом Колей и его женой Людой. На юбилеи школы, где учились братья – обязательно. Позже, сын Олег непременно дарил поездки в Калугу к юбилеям и полуюбилеям отца.

ОККУПАЦИЯ КАЛУГИ

В детстве, 11-летним мальчиком, Женя пережил 3-х месячную оккупацию. Немцы вошли в Калугу 11 октября 1941. Женя насмотрелся на бесчинства немцев. Обстрелы города и бомбежки. Повешенные в центре города с табличками «Партизан», женщины у которых немцы отбирали воду, вытащенную по крутому склону из источника на дне Березуйского оврага, мародерство. После одного из таких визитов немцев младший брат Жени Коля стал заикаться. Женя с отцом едва не погибли под пушечным обстрелом полуторки, застрявшей на Каменном мосту, в которой они находились вместе с советскими солдатами. Калуга была обесточена и обезвожена. В городе не было еды. Женя часто вспоминал, как темными холодными вечерами, под бомбежками, мама брала гитару и пела. От бомбежек не прятались (было негде); уповали, что дом старинный, со сводчатыми потолками и толстыми стенами спасет. А бомбы падали рядом. Покидая город, немцы взорвали театр. В доме, где жила семья Денисовых, среди зимы, вылетели все стекла. Описанные события происходили в центре города, рядом с их домом по адресу г. Калуга, ул. Плеханова, д. 73. Немцев Женя не любил. Его, как известного ученого, многократно приглашали в Германию, а он не мог забыть и преодолеть увиденное. Принял приглашения немецких коллег (W. Pritzkov, W. Habiher, K. Schwetlick и др.) значительно позже.

Пережитое заставляло Женю сторониться «военных» направлений, идти на конфликты с начальством и заниматься только «мирной наукой».

Немецкие ученые хотели и стремились сотрудничать. Они были настойчивы. Им нужны были знания Е.Т. Денисова. Женя *впервые* посетил ГДР в 1983 г. – принял приглашение профессора В. Притцкова и прочел курс лекций в Высшей технической школе им. К. Шорлеммера в Мерзебурге. По приглашению профессора К. Шветлика из Дрезденского технического университета он читал лекции по химической кинетике в 1986 г. Для него были организованы встречи с известными химиками ГДР, посещения химических предприятий, достигнута договоренность об участии Е.Т. Денисова и, по его рекомендации, других советских ученых в Симпозиуме по химической кинетике. Перед падением Берлинской стены, в 1989 г. он, как приглашенный лектор, участвовал в 9-ой конференции по Химической кинетике в Лейпциге.

Для работы в 36 Генеральной Ассамблее IUPAC Женя посетил ФРГ в августе 1991. Гамбург, где проходила Ассамблея, из-за ночных разборок с выстрелами, ему категорически не понравился.

Последняя поездка Е.Т. Денисова в Дрезденский технический университет состоялась 23–29 ноября 1997 года уже после падения Берлинской стены по приглашению Вольфа Хабишера для чтения лекций и консультаций. Женя был рад встрече с коллегами. Объединение Германии катком прошло по судьбам крупных ученых и замечательных людей из ГДР. Многие вынуждены были из страны уехать. Профессор Денисов Е.Т. очень им сочувствовал.

И все же нам довелось еще раз побывать в Германии. Это был подарок детей – недельная поездка в Мюнхен. И мы полетели. Пешком исходили Мюнхен вдоль и поперек. Посетили многие прекрасные музеи. Был апрель 2012 г. Цвели деревья. Как во всякой поездке возникали проблемы, которые помогали решать встретившиеся немцы, наши соотечественники и счастливый случай. В этой поездке Женя был очень-очень счастлив! Он так мало позволял себе отдыхать.

ЖЕНЯ – ЧЕЛОВЕК ДОЛГА

Женя, как старший сын, помогал отцу обеспечивать семью едой, заработком. На зиму «на выживание» из деревни брали в семью племянников папы из многодетной семьи тети Ньюши. В помощь маме Женя колол дрова, топил в доме печи.

Чувство справедливости – было развито у Жени с детства. Однажды он, будучи 11-летним мальчиком катался на санках возле своего дома. Немец, вышедший из соседнего дома, дал команду военнопленному отобрать у Жени санки для перевозки груза. Женя последовал за ними и в темноте вернулся домой с *санками*. Родителям о «приключении» ничего не сказал.

Смелость. Когда немцы выбрасывали книги школьной библиотеки и жгли их на костре, Женя, с риском для жизни, спасал тлеющие тома И.С. Тургенева, Л.Н. Толстого, М.Е. Салтыкова и сохранил их в своей библиотеке.

ПУТЕШЕСТВИЯ И ОТДЫХ

В 1964 г на «Запорожце» совершил грандиозное путешествие по Прибалтике. Год 1966 – поездка на Азовское море. В 1967 и 1979гг. – путешествия по Золотому кольцу. В 1969 поездка на машине по городам вдоль западной границы от Бреста до Одессы.

Женя очень гордился автомобильной «Кругосветкой» на «Жигулях», которую он задумал и осуществил в августе 1984: Черноголовка, Калуга, Калиновка, Чернигов, Киев, Львов, Калуш, Яремче, Черновцы, Хотин, Каменец-Подольский, Одесса, Алтестово, Антонюки, Умань, Киев, Черноголовка.

Позже он знакомил нас с Парижем, его окрестностями и замками долины Луары.

Женя очень рационально распределял свое время. При этом он много читал и перечитывал произведения русской и зарубежной литературы. Предпочтения отдавал русской. Его любимые поэты и писатели: Пушкин, Лермонтов, Тургенев, Толстой, Салтыков-Щедрин, Бунин, Чехов, Гоголь, Пастернак, Куприн, Платонов, Солженицын. Увлекался философией. Перечитывал Монтеня. Читал мировую классику: Гюго, Бальзака, Стендаля, Мериме, Франса, Роллана, Сервантеса, Диккенса, избранное из «Библиотеки всемирной литературы». Мы посетили многие музеи писателей в России и за

рубежом. В Париже, в домике-музее О. Бальзака он держал в руках рукописи великого писателя с его правкой и не мог от них оторваться. На площади Вогезов мы познакомились с прекрасным Музеем-квартирой В. Гюго, а Женя снова туда возвращался. Он знал и восхищался живописью Босха, Брейгеля и Кранаха Старших, Боттичелли, Леонардо да Винчи, Рафаэля, Беллини, Тициана, Тинторетто, Веронезе, Эль Греко, Рембрандта, Веласкеса, Гойи, Энгра, Дюрера, Дега, Ван Гога, Тулуз-Лотрека, Климта, Дали и, конечно, Моне и Ренуара. Картины этих художников мы смотрели в лучших музеях мира. Для меня Женя был самым лучшим гидом, так много он знал и охотно этим делился. Восхищался гением Микеланджело в соборе Петра в Риме, музеях Ватикана и Флоренции, мозаиками Равены. В Англии он оценил творчество Прерафаэлитов. Позже и меня приобщил к их творчеству в Ливерпуле. Среди русских художников высоко ценил творчество Репина, Брюллова, Коровина, Врубеля, Серова, Поленова, В. Васнецова, Ф. Васильева, К. Васильева. В юности Женя посещал лекции в Третьяковской галерее и после сам проводил экскурсии для наших гостей – зарубежных ученых. Он смотрел, слушал, помнил весь репертуар Большого театра с великой Г.С. Улановой и выдающимися певцами.

Любимые фильмы Жени – Агония, Андрей Рублев, Калина красная, Белое солнце пустыни, Великолепная семерка, Земля Санникова, Холодное лето 53-го, А зори здесь тихие, Обыкновенный фашизм и, безусловно, Бондиана. Фильмы о Джеймсе Бонде любил смотреть с внучкой Танечкой. Они были единомышленниками. Это был их праздник! Последнее время Женя любил смотреть Исторический канал.

НАУКА – ГЛАВНЫЙ ПРИОРИТЕТ Е.Т. ДЕНИСОВА

Женя не просто работал, он творил, получая огромное удовольствие от своего труда. От постановки задачи и до ее решения. Его мозг непрерывно работал. Он штурмовал вершины. Я уже писала, что Евгений Тимофеевич любил плавать в открытой воде. Снова вспомнила об этом, когда работала с его архивом в поисках необходимых кинетических данных для коллеги – так широк как море был круг его научных интересов. И я поняла, что эти две

стихии в его жизни, неслучайны. В плавании он ощущал и реализовывал ту же свободу и наслаждение, что и в Науке, Работе, Жизни.

Мы все в Семье знали, что на первом месте у Жени всегда была Наука и его Работа. Это стало и нашим приоритетом. Так много, как он работал, мне кажется, не работал никто. Ведь наследие огромное. 28 монографий, справочников, учебников, лекций, база кинетических данных, более 540 статей на русском и английском языках.

ДИПЛОМ, КАНДИДАТСКАЯ и ДОКТОРСКАЯ ДИССЕРТАЦИИ

В Книге «Кинетика бытия и научных исканий длиною в 80 лет» Е.Т. Денисов пишет: «На дипломную работу я попал к *Илье Васильевичу Березину*. Мы дружно вели эксперимент по окислению циклогексана в автоклаве под давлением. Тема дипломной работы оказалась удачной. В 50-х бурно развивается в мире *нефтехимическая технология* на базе дешевого углеводородного сырья. *Окисление циклогексана не было изучено*, но оказалось востребованным мировой химической технологией. Теория цепных вырожденно-разветвленных реакций Н.Н. Семенова *научная основа раскрытия механизма этих реакций*».

На Ученом Совете химфака МГУ Е.Т. Денисов защитил диссертацию к.х.н. на тему: «Кинетика катализированного окисления циклогексана с точки зрения цепной теории вырожденных разветвлений», 1957 г.

Результаты по окислению циклогексана были уникальными. Публикаций по этой теме в литературе практически не было. Авторы свели их вместе в виде книги: ОКИСЛЕНИЕ ЦИКЛОГЕКСАНА, *И.В. Березин, Е.Т. Денисов, Н.М. Эмануэль*, которая вышла в свет, МГУ, 1962 г. Вскоре она была издана в Англии, как **The Oxidation of Cyclohexane**, Pergamon Press, 1965 г.

В 1962 г. сдан корпус химической кинетики (2/1) в ОИХФ в Черноголовке, где с 1958 г. живет и с 1960 г. работает Е.Т. Денисов. В 1962 г. его группа переезжает в корпус 2/1.

Евгений Тимофеевич вспоминает: «Защита докторской состоялась 16 октября 1964 года в Северной аудитории химфака МГУ. Она прошла успешно, серьезных критических замечаний по диссертации не было.

Помню, как после защиты ко мне подошел Лев Горохов, с которым мы учились на одном курсе и жили в одной комнате в общежитии на Стормынке. Он поздравил меня и сказал: “*Женя, обращает на себя внимание “мономолекулярность” твоих статей в диссертационном списке работ*”. Сам я ранее не обратил внимания на эту “мономолекулярность”, но, просмотрев список литературы, в своем автореферате увидел, что, действительно, из 31 работы 20 опубликованы с одним моим авторством» (Е.Т. Денисов). **Это была первая защита докторской диссертации в Черноголовке.**

СОЗДАНИЕ ЛАБОРАТОРИИ

Создание лаборатории продвинула инициатива Н.М. Эмануэля. 22 августа 1967 года был подписан приказ о создании **Лаборатории окисления и стабилизации полимеров**. Ученый совет ФИХФ утвердил Е.Т. Денисова ее заведующим. Позже тематика лаборатории была преобразована и как **Лаборатория кинетики радикальных жидкофазных реакций** она вошла в состав Отдела кинетики и катализа. В 2000 году Е.Т. Денисов перешагнул возрастной рубеж в 70 лет и рекомендовал сохранить лабораторию, а ее заведующим назначить д.х.н. *Владимира Трофимовича Варламова*.

ОРГАНИЗАЦИЯ КАФЕДРЫ ХИМИЧЕСКОЙ КИНЕТИКИ В БГУ (УФА)

«Лаборатория была создана и укомплектована, работа пошла полным ходом. Сотрудники хорошо освоили кинетические приемы исследования, могли планировать и проводить нужные серии опытов. Для результативной работы лаборатории были нужны помощники. Прекрасным подспорьем была бы кафедра в одном из ВУЗов как источник дипломников и аспирантов. Депутатом от Башкирии в Верховный Совет СССР был предложен академик Н.Н. Семенов. Он охотно согласился выступить с инициативой об организации **Кафедры химической кинетики** в Башкирском государственном университете в Уфе» (Е.Т. Денисов). В январе 1969 г. состоялась встреча Н.Н. Семенова, Н.М. Эмануэля, **Е.Т. Денисова** с ректором БГУ Ш.Х. Чанбарисовым. Вопрос об организации кафедры в Башгосуниверситете под руководством Е.Т. Денисова был решен.

ГЛАВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ В ОКИСЛЕНИИ УГЛЕВОДОРОДОВ

В 50-х годах 20 века в мире разворачивалась наука о жидкофазном окислении углеводородов. Зарубежные исследователи изучали реакции $\text{RO}_2^\bullet + \text{RH}$, $\text{RO}_2^\bullet + \text{RO}_2^\bullet$, $\text{RO}_2^\bullet + \text{CH}=\text{CHR}$.

В ИХФ и ФИХФ АН СССР, под влиянием теории вырожденных разветвлений Н.Н. Семенова, исследовались процессы генерирования радикалов в окисляющихся системах: *реакции зарождения и вырожденного разветвления цепей*. Большой вклад в изучение этих реакций внесла Лаборатория Денисова Е.Т.

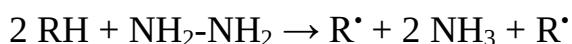
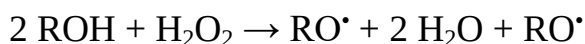
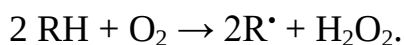
ИДЕИ И РЕЗУЛЬТАТЫ

Тримолекулярная реакция зарождения цепей (1959 – 1963)

В 50-х гг. предполагалось $\text{RH} + \text{O}_2 \rightarrow \text{R}^\bullet + \text{HO}_2^\bullet$;

но в ряде случаев $v_{i0}(\text{эксперимент}) \gg v_{i0}(\text{расчет})$

Денисов Е.Т. предложил новую *тримолекулярную реакцию* для соединений со слабой R–H-связью



Полная сводка данных по этой реакции приведена в книге: *Denisov E. T., Afanas'ev I. B., Oxidation and Antioxidants in Chemistry and Biology. Taylor and Francis, Boca Raton, 2005.*

Механизмы распада ROOH (1964 – 1969)

Окисление углеводородов как в газовой, так и в жидкой фазе протекает с автоускорением. Для объяснения этого факта Н.Н. Семенов сформулировал теорию цепных реакций с вырожденным разветвлением цепей. Он писал: “В качестве первичного продукта образуется гидроперекись, в которой связь О–О сравнительно слабая ~ 40 ккал/моль. Поэтому гидроперекись способна

медленно разлагаться на свободные радикалы по реакции $\text{ROOH} \rightarrow \text{RO}^\bullet + \text{HO}^\bullet$

Но в растворе протекают более быстрые реакции:

$\text{ROOH} + \text{ROOH} \rightarrow \text{RO}^\bullet + \text{H}_2\text{O} + \text{RO}_2^\bullet$; L. Bateman, H. Hughes, A. Moris, Disc. Faraday Soc., **14**, 190, 1953.

$\text{ROOH} + \text{RH} \rightarrow \text{RO}^\bullet + \text{H}_2\text{O} + \text{R}^\bullet$; З.К.Майзус, И.П. Скибида, Н.М. Эмануэль, Доклады АН СССР, **131**, 880, 1960.

$\text{RON} + \text{ROOH} \rightarrow \text{св. радикалы}$, Е.Т. Денисов, ЖФХ, **38**, 2085, 1964.

Свой вклад в изучение этих реакций внесли также Л.П. Привалова, В.А. Антоновский, Л.В. Солнцева, В.М. Соляников; позже аспиранты А.Е. Семенченко, Т.Г. Дегтярева.

Из 8 открытых механизмов распада ROOH на радикалы 6 были открыты в лаборатории Е.Т. Денисова.

Успех этих исследований

1. Удачно выбранное направление работы: изучение кинетики и механизма окисления спиртов и кетонов. 2. Метод ингибиторов, который был апробирован при изучении зарождения цепей в окислении. 3. Творческий союз с В.Л. Антоновским в Новокуйбышевске. 4. Энергичный темп работы.

Циклический механизм обрыва цепей на антиоксидантах (1963 – 1996)

На эту тему в лаборатории Евгения Тимофеевича были опубликованы более 70 статей; 5 человек (А.Л. Александров, Р.Л. Варданян, Н.Г. Зубарева, Г.А. Ковтун, Ю.Б. Шилов) защитили кандидатские диссертации. А.Л. Александров, Г.А. Ковтун защитили докторские диссертации. Количественную теорию этого уникального явления Е.Т. Денисову удалось построить позднее, в 90х годах, на базе модели радикальной реакции как результата пересечения двух потенциальных параболических кривых (МПП). Денисов Е.Т. // Реакционная способность связей С–Н и О–Н в реакциях с аминильными и нитроксильными радикалами и циклические механизмы обрыва цепей в окисляющихся спиртах и олефинах. Изв. АН Сер. хим., 1996, № 8, 1972.

Разнообразная химия циклического обрыва цепей

Денисов Е.Т., Харитонов В.В. Изв. АН СССР, Сер. хим. 1963, № 12, 2222-2225.

Харитонов В.В., Денисов Е.Т. Изв. АН СССР, Сер. хим. 1967, № 12, 2764-2766 (механизм регенерации α -нафтиламина).

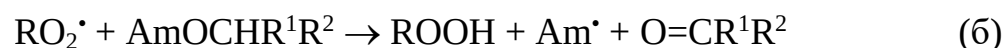
Александров А.Л., Денисов Е.Т., Изв. АН СССР, Сер. хим. 1968. 8. 1652 (Cu^{2+} тормозит окисление циклогексанола).

Шилов Ю.Б., Денисов Е.Т. Высокомогл. соедин. 1974. Т. 16А. № 10. 2313-1657 (Регенерация $>\text{NO}^\bullet$ + в окисляющемся ПП).

Гольденберг В.И., Денисов Е.Т., Ермакова Н.А., Изв. АН СССР, Сер. хим. 1990. № 4. 738-743 (циклический обрыв цепей на $>\text{NO}^\bullet$, катализированный кислотой).

Новая кинетическая схема циклического обрыва цепей

Недавно на примере реакций $\text{RO}_2^\bullet$ с вторичными гидропероксидами и карбоновыми кислотами был обоснован новый механизм радикальных реакций отрыва с согласованной фрагментацией: В этих реакциях отрыв атома Н сочетается с одновременным разрывом и образованием других связей. Причина таких реакций – их высокая экзотермичность.



Автокатализ нитроксильным радикалом

в циклическом механизме обрыва цепей при окислении полимеров

Высокая эффективность стерически затрудненных пиперидинов (HALS) как светостабилизаторов полимеров обусловлена тем, что образующиеся из них нитроксильные радикалы ($\text{AmO}^\bullet$) многократно участвуют в обрыве цепей. Это вызвано тем, что с их участием реализуется уникальный циклический механизм обрыва цепей.

В окисляющихся полимерах и углеводородах реализуются три циклических механизма обрыва кинетических цепей:

Во-первых, цикл с последовательным участием в обрыве цепей радикалов $R^\bullet$ и $RO_2^\bullet$;

Во-вторых, цикл с участием $R^\bullet$ и $AmO^\bullet$. Особенность такого цикла – автокатализ $AmO^\bullet$ в собственной регенерации из $AmOR$;

В-третьих, цикл с участием $HO_2^\bullet$.

В первых двух циклах решающую роль в регенерации $AmO^\bullet$ из $AmOR$ играют высокоэкзотермические реакции отрыва с фрагментацией с участием N-алкоксиамина. В цикле с участием радикала $HO_2^\bullet$ главную роль играет двойственная реакционная способность радикала, который выступает в реакции с $AmO^\bullet$ как донор атома водорода, а в реакции с $AmOH$ как его акцептор.

В 90-е годы Денисов Е.Т. принял участие в трех конференциях по стабилизации полимеров, посетил лаборатории фирмы CIBA-GEIGY в Базеле и Нью-Йорке. Он узнал, что фирма начала выпускать эффективные светостабилизаторы на основе замещенных пиперидинов (HALS – стерически затрудненные амины), из которых в процессе фотоокисления образуются *стабильные нитроксильные радикалы*. Последние как раз являются *ингибиторами циклического действия*. Это и обеспечивает высокую эффективность HALS, как светостабилизаторов. В его основе лежит открытый в лаборатории Денисова Е.Т. цикл регенерации нитроксильных радикалов в окисляющихся полимерах, который был назван фирмой CIBA-GEIGY “*Denisov cycle*”.

Денисов Е.Т. // Автокатализ нитроксильным радикалом в циклическом механизме обрыва цепей при окислении полимеров. Кинетика и катализ. 2016. Т. 57. № 6. С. 759.

КОНЦЕПЦИЯ «ЖЕСТКОЙ КЛЕТКИ» (1976 – 1994)

Концепция “*жесткой клетки*” в полимерной матрице - результат сравнения кинетики радикальных реакций в полимерной матрице и жидкой фазе (Е.Т. Денисов).

Денисов Е.Т., Грива А.П. Модель анизотропной статистической клетки в приложении к бимолекулярным реакциям в полимере. Журн. физ. химии. 1979. Т. 53. № 10. 2417.

Денисов Е.Т., Денисова Л.Н., Грива А.П. Молекулярное движение среды и клеточный эффект при термическом распаде пероксида лаурила. Журн. физ. химии. 1984. Т. 58. № 3. 577.

Грива А.П., Денисова Л.Н., Шилов Ю.Б., Денисов Е.Т. Влияние сегментальной подвижности на клеточный эффект при распаде гидропероксида полипропилена. Высокомолекул. соедин. 1986. Т. 28. Б. № 9. 658.

Грива А.П., Денисова Л.Н., Денисов Е.Т. Влияние полимерной матрицы на протекание реакции нитроксильного радикала с ароматическими аминами. Журн. физ. химии. 1989. Т. 63. № 10. 2601.

МАЛЯРИЯ

Тропический пояс (зона риска) охватывает территорию, где проживает более 2 млрд. человек. По данным WHO в 2008 малярией болело 213 млн. человек. Скончалось в 2008 от малярии 863 000. Среди них 88% дети. Экономический ущерб от малярии только в Африке оценивается в 12 млрд. долларов/год.

Работу по изучению радикальной химии Артемизинина Е.Т. Денисов начал в 2005 г. в ответ на приглашение *Fyaz Ismail* из Университета Ливерпуля, UK. Для этих исследований он планировал использовать МПП. Опубликована первая статья. На эту тему к нему в аспирантуру поступила Солодова С.Л. Работа пошла успешно. Эксперимент планировали проводить в Университетах Ливерпуля и Рединга. Вскоре случившийся теракт в Лондоне помешал осуществлению этих планов.

«For me, Evgeny was synonymous with "The greatest theoretician of free radicals" and always think of him as a true, humble and generous friend, who will be sadly missed» (*Fyaz Ismail*, UK).

«Евгений Тимофеевич всегда был, есть и будет для меня Лучшим примером, Лучшим научным руководителем и просто замечательным, добрым и отзывчивым Человеком (с большой буквы)» (*Света Солодова*). Под руководством Е.Т. Денисова Светлана защитила диссертацию кандидата химических наук на тему: «РАДИКАЛЬНАЯ ХИМИЯ АРТЕМИЗИНИНА». ИПХФ. Черноголовка, 2009.

«Если бы Нобелевский комитет ознакомился с работами Е.Т. Денисова по артемизинину, в мировой печати не было бы сожалений об отсутствии фундаментальности в работах, отмеченных Нобелевской премией по медицине в 2015г.» *Касаикина О.Т.*

Далее мы с Евгением Тимофеевичем продолжили работу по исследованию радикальной химии аналогов Артемизинина методом МПП.
Денисов Е.Т., Солодова С.Л., Денисова Т.Г. Радикальная химия артемизинина.
// Успехи химии, 2010, Т.79, № 11, 1065-1088.

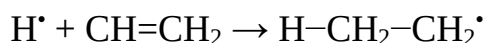
МОДЕЛЬ ПЕРЕСЕКАЮЩИХСЯ ПАРАБОЛ – МПП (1990 – 2009)

«В результате длительной и систематической работы к 1995 году была создана База кинетических данных более чем на 30 000 констант скорости радикальных реакций. Когда возникла и стала пополняться База кинетических данных по радикальным реакциям, мне пришла в голову мысль: ведь этот массив кинетических данных представляет собой солидный эмпирический фундамент для построения полуэмпирической *теории реакционной способности* в радикальных реакциях. Необходимо только найти ключ для извлечения таких данных из эксперимента. Несколько лет я перебирал разные подходы, существовавшие в научной литературе, и пришел к следующему выводу. В каждой индивидуальной реакции важное место занимает ее энтальпия. Чтобы найти роль и вклад других факторов, следует исключить энтальпию и перейти к анализу кинетических характеристик термонеutralных реакций. Сделать это корректно на базе линейных корреляций, как я убедился, нельзя. Нужны простые *нелинейные модели радикальных реакций*. Я перепробовал несколько таких моделей и остановился на простой модели бимолекулярной радикальной реакции как результата пересечения двух *параболических потенциальных кривых*, где каждая парабола характеризует потенциальную энергию валентного колебания атомов реагирующей связи [*Денисов Е.Т.*, Нелинейные корреляции в кинетике радикальных реакций, Препринт ОИХФ, Черноголовка, 1990, С. 1-18; Кинетика и катализ, 1991, Т. 32, № 2, С. 461; *Denisov E.T., Mendeleev Communication*, 1992, N 1, P.1.]. Эта модель в приложении к экспериментальным данным реакций радикального отрыва дала прекрасные

результаты. 1. Все реакции радикального отрыва удалось разделить на *классы*. 2. Для каждого класса получить полный набор *кинетических параметров* и оценить энергию активации *термонеutralной реакции*. Последняя позволяет исключить влияние такого важного фактора, как энтальпия реакции. Как оказалось, именно E_{e0} содержит в себе ценную информацию о реакционной способности реагентов в реакциях выбранного класса. Опираясь на E_{e0} , я путем сравнения идентифицировал все факторы (их оказалось 10), которые и определяют реакционную способность каждой пары реагентов в реакциях радикального отрыва. 3. В ходе анализа радикальных реакций, мы столкнулись с острой нехваткой данных по *энергиям диссоциации связей* в молекулах. Пришлось разработать метод их оценки по кинетическим данным и создать массив данных по энергиям диссоциации связей, согласующийся с экспериментальными измерениями. 4. Вычисленный по экспериментальным данным набор параметров позволяет вычислять с хорошей точностью энергии активации и константы скорости многих (более миллиона) радикальных реакций отрыва. 5. Мне хотелось сделать эту модель пригодной и для вычисления межатомных расстояний в переходном состоянии радикальных реакций. В решении этой задачи очень помог *Александр Федорович Шестаков*, прекрасный специалист в области квантовой химии. Он рассчитал по GAUSSIAN'у 98 *геометрию переходного состояния* для серии радикальных реакций. Корреляция этих расстояний, вычисленных по параболической модели и квантово-химически, дала ключ к созданию простого алгоритма расчета геометрии переходного состояния радикальных реакций по экспериментальным данным (энтальпии и энергии активации реакции).

После реакций отрыва пришла очередь других радикальных реакций: присоединения, изомеризации, циклизации, дециклизации, распада, вытеснения. Создание *модели реакций радикального присоединения* шло не так гладко. Сначала я рассматривал такую реакцию как результат пересечения только двух потенциальных кривых: одна характеризовала энергию валентного колебания атакуемой кратной связи, другая — образующейся связи [Е.Т. Денисов, Кинетика и катализ, 1992, Т. 33, 1, С. 66-73.]. Казалось, что такая модель хорошо описывает кинетические

закономерности реакций присоединения. Однако, по мере использования модели накапливались различные нестыковки и появились сомнения. В результате постоянных размышлений над моделью я пришел к новому варианту модели, представляющей собой суперпозицию не двух, а *трех потенциальных кривых*. Дело в том, что в реакции присоединения перестраиваются три связи. Например, в реакции присоединения атома водорода к этилену



двойная связь C=C преобразуется в ординарную C–C-связь и образуется новая C–H-связь. Поэтому переходное состояние правильнее представить как суперпозицию трех реагирующих связей. Новая модель сняла противоречия первой модели и прекрасно описала экспериментальные данные по реакциям присоединения [Е.Т. Денисов, Кинетика и катализ, 2008, Т. 49, 2, С. 333 – 343]. Параболическая модель везде прекрасно работала! Мы широко ее использовали при создании наших справочников. Разнообразие охваченных проблем и полученных результатов за 56 лет исследовательской работы отражает список книг 1954 – 2010г. приведенный в разделе: МОНОГРАФИИ, УЧЕБНИКИ, СПРАВОЧНИКИ. Средняя продуктивность наших научных публикаций за последние полстолетия составляет 10.5 публикаций в год – более 540 статей в российских и зарубежных журналах. Кандидатские диссертации, выполненные под моим руководством – 46, Докторские диссертации, выполненные в сотрудничестве – 12» Денисов Е.Т.

РАДИКАЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ ОТРЫВА С СОГЛАСОВАННОЙ ФРАГМЕНТАЦИЕЙ

«Наиболее впечатляющими были найденные Евгением Тимофеевичем радикальные реакции отрыва с одновременной фрагментацией молекул, которые могли играть роль своеобразных химических усилителей, превращая малоактивные радикалы в мощный ОН радикал. Появлялись все новые горизонты, и бесконечно жаль, что безжалостное время не позволило нам с Евгением Тимофеевичем заглянуть за них.» Шестаков А.Ф.

Денисов Е.Т., Шестаков А.Ф. Радикальный отрыв атома Н от пероксидов с согласованной диссоциацией связи О—О. Изв. АН СССР, Сер. хим. 2012. № 1. 17.

Денисов Е.Т., Шестаков А.Ф. Радикальное декарбоксилирование карбоновых кислот как реакция согласованного отрыва и фрагментации. Кинетика и катализ. 2013. Т. 54. № 1. С. 22.

Денисов Е.Т., Шестаков А.Ф. Реакция радикалов с N-алкоксиаминами как согласованный отрыв с фрагментацией. Журн. физ. химии. 2015. Т. 89. № 8. С. 1217.

Денисов Е.Т., Шестаков А.Ф., Емельянова Н.С. Радикальные реакции отрыва с согласованной фрагментацией и образованием NO. Кинетика и катализ. 2016. Т. 57. № 3. С. 297.

Денисов Е.Т., Шестаков А.Ф. Роль радикальных реакций отрыва с согласованной фрагментацией в цепном распаде алкилнитратов. Кинетика и катализ. 2017. Т. 58. № 5. С. 695.

НАУЧНОЕ СОТРУДНИЧЕСТВО в СССР

- В течение своей 60-летней научной деятельности Е.Т. Денисов активно сотрудничал с научно-исследовательскими центрами:
- ВНИИСК, Ленинград, БГУ Уфа; ИОХ Уфа,
- ИФОХ Бел. АН, Минск, ИХП Аз. АН, Баку,
- ЛПИ, Львов; НИИХИМПОЛИМЕР, Тамбов,
- ПЛАСТПОЛИМЕР, Ленинград, ТОИ, Владивосток и другие.
- ФНИИСС, Новокуйбышевск, ЦИАМ, Москва,
- ЯПИ, Ярославль и др.

НАУЧНОЕ СОТРУДНИЧЕСТВО ЗА РУБЕЖОМ

- ALCATEL, USA, ATOFINA, France,
- Ciba-Geigy в Базеле (Швейцария) и Нью-Йорке (США),
- Exxon - New Jersey, USA; Oxford, UK; Ford Institute, Детройт, USA,
- General Electric Silicones, USA, Колумбийский Университет, USA,

- Вьетнамский Институт химии, Сайгон,
- Институт органического синтеза и фотохимии в Болонье (Италия),
- Лаборатория координационных соединений Национального центра научных исследований, France, Toulouse (Проект ИНТАС),
- Ливерпульский университет, UK, Университет Дрездена, ГДР
- и др.

ПРЕДСЕДАТЕЛЬ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА

27 марта 1978 г. Евгений Тимофеевич Денисов был назначен председателем Диссертационного совета Д 002.26.03 по защитам кандидатских и докторских диссертаций в ФИХФ (ИПХФ РАН). Как председатель, Евгений Тимофеевич был на высоте: умный, строгий и доброжелательный одновременно! Он очень ответственно и творчески подходил к порученному делу. Совет работал ритмично. Защищались сотрудники и аспиранты нашего Института. Совет был открыт для лучших ученых СССР. Евгений Тимофеевич приглашал на «свой» Совет ученых из других городов и республик, если считал, что человек этого достоин. Я была свидетелем таких приглашений. Если Евгений Тимофеевич считал, что ученый уже «перезрел» то поддерживал, вселял уверенность, в итоге соискатель выходил на защиту, прекрасно защищался и становился кандидатом или доктором химических наук. Я присутствовала на защитах. Если работа и защита были на высоте, то я именвала это Научным Праздником! В этот день у нас было *приподнятое настроение*! Евгений Тимофеевич уверенно руководил Советом более 35 лет. В настоящее время, по рекомендации Е. Т. Денисова, Совет возглавляет и на высоком уровне ведет заседания диссертационного совета Д 002.082.02 при ИПХФ РАН профессор А. Ф. Шестаков.

БАНК КИНЕТИЧЕСКИХ КОНСТАНТ

В 1983 г. в секции химической кинетики Научного совета по химической кинетике и строению АН СССР была создана рабочая группа химиков-кинетиков, работающих в области жидкофазных радикальных реакций. Задача группы – создание Всесоюзного банка кинетических

констант жидкофазных радикальных реакций (БАНКИРР) на базе ОИХФ АН СССР им. Н.Н. Семенова (руководитель, профессор Е.Т. Денисов). Мы изучили мировой и Всесоюзный опыт создания баз данных и в 1985 г. приступили к созданию Базы данных кинетических констант. Пользуясь случаем, я выражаю сердечную благодарность всем, кто участвовал, помогал и поддерживал эту работу: академику В.А. Пальму, профессору А.Н. Пономареву, докторам и кандидатам наук из дружественных лабораторий и кафедр Ю.А. Александрову, А.Л. Александрову, Г.В. Бутовской, В.Т. Варламову, А.Ф. Додонову, О.Т. Касаикиной, Н.А. Кравчук, С.А. Крашакову, В.С. Мартемьянову, В.А. Надточенко, А.М. Назарову, И.А. Опейде, Н.И. Перегудову, Е.М. Плиссу, Т.С. Покидовой, В.В. Разникову, В.А. Рогинскому, А.В. Соколову, А.И. Станиловскому, В.И. Тимохину, И.В. Худякову, З.Ф. Шарафутдиновой, В.М. Шекуновой, М.И. Шилиной, И.К. Якущенко, программистам А. Яллас, В.Е. Туманову, инженерам К.Э. Гладунову, Т.М. Мартемьяновой, Л.Н. Пилипецкой, сотрудникам БНЦ.

Попытки издать наш Банк в США были неоднократно блокированы. И тогда, как об этом пишет Евгений Тимофеевич в Книге бытия ... стр. 112: «Метод пересекающихся парабол и полученные с его помощью формулы, параметры и прочности связей я решил использовать для создания компьютерной программы автоматизированного расчета энтальпий, энергий активации и констант скорости реакций радикального отрыва. С участием Сергея Владимировича Трепалина такая программа была создана. Она позволяет получить на компьютере эти величины для любой из 250 000 элементарных реакций. База была издана как приложение к нашей монографии с И.Б. Афанасьевым: *Denisov E.T., Afanas'ev I.B., Oxidation and Antioxidants in Chemistry and Biology*. Taylor and Francis, Boca Raton, 2005, P.P. 1-981. Так мы продолжили важное дело, начатое еще Виктором Николаевичем Кондратьевым, и обеспечили химиков, работающих в области физической химии радикальных реакций, обширным справочным материалом. Создание справочника – большой кропотливый труд. Но для меня такая работа оказалась очень полезной, т. к. расширяла научный горизонт, помогала сосредоточиться на неизученных проблемах и предоставляла материал для новых обобщений. (E.T. Denisov, T.G. Denisova,

S.V. Trepalin, T.I. Drozdova, Database of Oxidation and Antioxidants in Organic Chemistry. Taylor and Francis, Boca Raton, 2005)».

Евгений Тимофеевич деликатно не пишет о том, что условием для издания **Database** было написание упомянутой монографии и он, не раздумывая принял это предложение, т. к. от работы никогда не уклонялся. Следует также отметить, что он сам несколько раз переписывал структуры всех соединений **Database** под то или иное программное обеспечение.

15 МОНОГРАФИЙ, 6 УЧЕБНИКОВ, 7 СПРАВОЧНИКОВ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Денисов Е.Т.

Наверное, каждый исследователь размышлял и не раз о том, что необходимо для успешной исследовательской работы. Ряд важных пунктов сформулировал *Д.И. Менделеев* в своих Основах химии. Я также не раз размышлял на эту тему. Так что же здесь важно?

Попытаюсь сформулировать то, что вытекает из моего опыта исследователя.

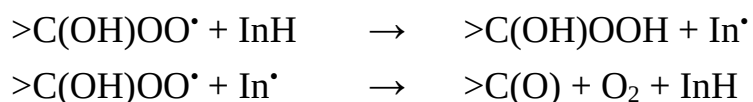
1. Важен выбор *области и объектов изучения*, т. е. “*направление главного удара*” исследования. Для этого необходимо предварительное изучение выбранной области, выяснение того, что здесь известно, установлено, доказано, а что сомнительно или остается в виде белых пятен. Т.е. для себя следует решить: все в этой области известно и ясно, или здесь есть” *terra incognita* для дальнейшего исследования?

2. Важен выбор *метода исследования и способов контроля за процессом*, который изучается. С такой задачей мы столкнулись при изучении механизма зарождения цепей при окислении углеводов и спиртов. Эти реакции ($RH + O_2$ и $2 RH + O_2$) очень медленные. Образующийся гидропероксид скоро становится главным источником радикалов, “заслоняя” медленную реакцию RH с кислородом. Как ее изучать? Помогли антиоксиданты.

3. Очень важен *выбор реагента*, если изучается химическая реакция. Сравнительное изучение радикальных реакций в полимере и растворе мы начали на примере реакции стабильного феноксильного радикала (2,4,6-три-

трет.-бутилфеноксила) с ROOH. Но с этим реагентом дальше измерения констант скорости в твердом полимере и в жидком хлорбензоле не продвинулись. Затем мы поменяли феноксил на стабильный нитроксильный радикал (2,2,6,6-тетраметил-4-бензоилпиперидин-N-оксил), и эта замена реагента оказалась очень удачной. По ЭПР-спектру нитроксила нам удалось измерить не только кинетику процесса, но и вычислить скорость вращения этого радикала (его молекулярную подвижность) и скорость его диффузии в полимере и жидкости. Все эти совокупные сведения о кинетике и физическом поведении реагента оказались очень ценными при создании теории бимолекулярных реакций в твердом полимере (см. раздел *Жесткая клетка* в главе ИДЕИ и РЕЗУЛЬТАТЫ).

4. Важна и удача. Так было с открытием *циклического механизма обрыва цепей* в реакциях окисления. Начиная эти опыты, я хотел всего-навсего сравнить ингибирующее действие фенола (α -нафтола) и амина (α -нафтиламина) в окисляющихся спирте и углеводороде. Неожиданным оказалось то, что в окисляющемся спирте амин, хорошо тормозя окисление, расходуется в 16 раз медленнее, чем фенол. Почему? Три года я не мог разгадать эту загадку. Наконец, предположил, что это результат цикла:



Действительно, *внимание к новым неожиданным результатам* очень важно!

Науку делают люди. Поэтому важны индивидуальные качества, способности, черты характера исследователя. Назову некоторые, на мой взгляд, очень важные.

А. Глубинный *интерес к загадкам природы*, к неизвестному, еще не изученному. Такой глубинный интерес я рассмотрел в Основах химии Д.И. Менделеева, в монографиях Н.Н. Семенова и В.И. Кондратьева. Я присутствовал на заседаниях Кафедры химической кинетики и заседаниях дирекции ИХФ, когда их вел Н.Н. Семенов. Его мощный интеллект фонтанировал идеями, новыми задачами, планами. Слушать его и следить за его мыслью было увлекательно. В.Н. Кондратьев умел внимательно слушать

и обдумывать сказанное, его короткие реплики и вопросы обнаруживали вдумчивое отношение к рассказу. *Spiritus moveus* – ученого его активная творческая любознательность.

В. Очень важное качество исследователя *упорство* и тщательность в подготовке и проведении опытов, их обработке, поиску закономерностей, их теоретическому описанию. На его пути всегда много “*подводных рифов*”. Первый, с которым встречается каждый экспериментатор – невоспроизводимость результатов. Для достижения воспроизводимости нужна тщательная очистка растворителя и реагентов, чистые, каталитически неактивные стенки реактора, надежные методы аналитического контроля за протеканием реакции и многое другое. В системах, где один реагент находится в жидкой, а другой – в газовой фазе, необходимо следить за диффузией газа в жидкость, чтобы не упустить переход системы из кинетического режима в диффузионный. Для достижения надежного результата приходится “*бороться и искать, найти и не сдаваться*”. Волевые качества очень важны.

С. При интерпретации результатов важно сохранять баланс между *уверенностью и сомнением*. С одной стороны, исследователь должен опираться на надежные факты и твердо установленные законы природы, а с другой рассматривать несколько вариантов объяснения новых фактов и искать дополнительные подтверждения для новых гипотез. Не следует цепляться за первое предположение, которое приходит в голову, а полезно подумать и найти альтернативу.

Д. Важны для исследователя и *бойцовские качества*. Это я усвоил еще студентом, присутствуя и наблюдая за дискуссией: Семенов – Акулов.

Много интересных примеров можно найти в истории науки. Для меня исключительно полезной и интересной оказалась книга К. Лейдлера “*Energy and the Unexpected*”, Oxford Univers, 2002. В этой книге он талантливо описал переплетение личной жизни и творческих исканий великих физико-химиков.

Все полезное для науки в характере человека перечислить, видимо, невозможно. Видимо, важны не только отдельные качества, но также их сочетание. Каждый исследователь, наверное, должен сам определиться, что ему нужно проявить в той или иной ситуации.

ПРИЗНАНИЯ ДРУЗЕЙ И УЧЕНИКОВ

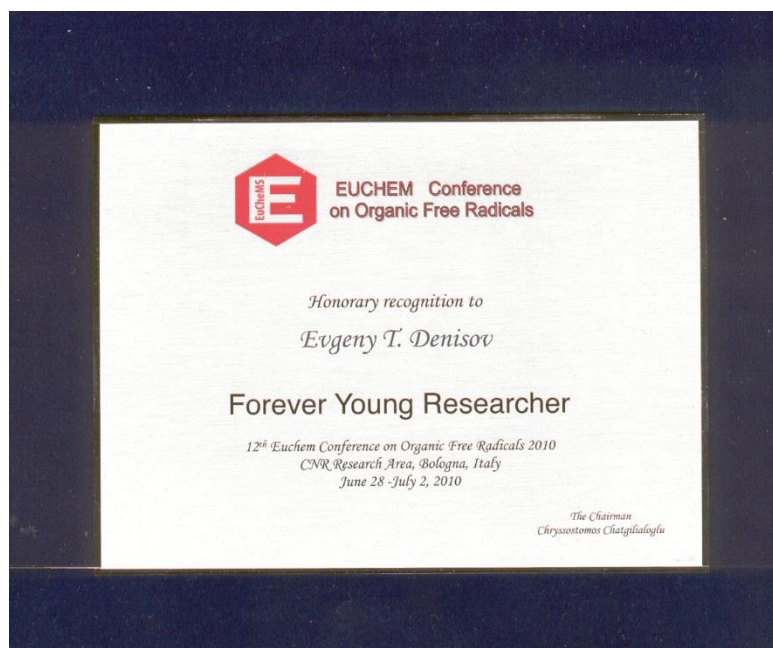
Агабеков В.Е.

- *Учитель, таинство твое*
- *Я понял лишь сейчас:*
- *Ты не ушел в небытие,*
- *Ты растворился в нас.*

Алексей Сисакян

Борисов И.М.

Евгений Тимофеевич всегда был для меня примером служения химической кинетике. Я горжусь тем, что являюсь одним из его многочисленных учеников, принадлежащих к созданной им в Башкирии научной школы по химической кинетике.



Варданын Р.Л.

Евгений Тимофеевич всегда проявлял готовность помочь не только мне, но и всем, кто с ним работал (дипломники, аспиранты, стажеры, сотрудники). В связи с этим Имя Евгения Тимофеевича Денисова, как Ученого, Учителя и Наставника, навсегда останется в наших сердцах.

Васнецова О.А.

Доброжелательность и щедрость, отзывчивость и житейская мудрость, необыкновенная трудоспособность и самоотдача в работе – эти качества

Евгения Тимофеевича привлекали к нему всех. И мне очень повезло, что я была знакома с ним, общалась с этим замечательным человеком.

Герчиков А.Я.

Думаю, не только я, но многие мои коллеги восприняли образ действий при организации больших дел, который был характерен для выдающегося химика-кинетика, заслуженного деятеля науки Российской Федерации, доктора химических наук, профессора Евгения Тимофеевича Денисова и который приводил к успеху. Свидетельством тому является то, что химическая кинетика, как фундаментальная наука о механизме химических реакций, уже более 50 лет приносит свои плоды в области исследования сложных химических реакций в большом химическом регионе России – Республике Башкортостан.

Гладышев Г.П.

Евгений Тимофеевич Денисов – великий русский химик наш ближайший и любимый друг. Его выдающийся вклад в науку, прежде всего в химическую кинетику, навсегда сохранится в умах нашего и будущих поколений ученых. Удивительные человеческие качества Евгения Тимофеевича – обаяние, скромность, нескончаемая доброжелательность, широта видения мира всегда привлекала наши души и души его друзей и коллег. Мы имели счастье многому учиться у Евгения Тимофеевича, ощущая теплоту его сердца.

Иванчев С.С.

Евгений Тимофеевич был лидером и основателем созданной им научной школы (46 кандидатов и 12 докторов химических наук). Кроме того, он много усилий потратил на создание научной школы по кинетике радикальных реакций в Башкирии.

Научная школа Е.Т. Денисова оказалась признанной во всех научных центрах не только в России, но и в ведущих мировых центрах. Этому способствовали опубликованные более пяти сотен публикаций, 15 монографий, 13 учебников и справочников.

Касаикина О.Т.

В лекции Артемизинин и его производные как уникальные инициаторы гидроксильных радикалов Е.Т. Денисов суммировал полученные им результаты анализа необычного механизма генерирования радикалов при участии артемизинина – природного эндопероксида, используемого в противомаларийных препаратах. Если бы Нобелевский комитет ознакомился с работами Е.Т. Денисова по артемизинину, в мировой печати бы не было сожалений об отсутствии фундаментальности в работах, отмеченных Нобелевской премией по медицине в 2015 г. А для нас – это свидетельство Нобелевского масштаба Евгения Тимофеевича Денисова в мировой науке.

Покидова Т.С.

Воспоминания о Евгении Тимофеевиче Денисове - это светлое и щемящее чувство внутри, горечь утраты и в то же время гордость, что довелось знать его, многие годы работать вместе с ним, слушать и слышать его, учиться у него. Что поистине восхищало и удивляло в нем, так это его отношение к работе и науке вообще. Он любил науку и любил работать. Его широчайшая эрудиция и энциклопедический ум никогда не запирались на замок за семью печатями. Если ты увлечен и хочешь работать, он всегда с большой радостью делился своими знаниями и помогал двигаться вперед.

Солодова С.Л.

Евгений Тимофеевич всегда был, есть и будет для меня Лучшим примером, Лучшим научным руководителем и просто замечательным, добрым и отзывчивым Человеком (с большой буквы). Я горжусь тем, что училась у него!

Фарзалиев В.М.

В нашем 45-летнем сотрудничестве я бы хотел выделить добрые, вежливые и искренние человеческие отношения, которые ни разу не были омрачены обоими сторонами. Евгений Тимофеевич, наряду с другими характеристиками его высокой культуры, в плане интернациональности обладал высокой степенью культуры. Память, связанная с Евгением Тимофеевичем записана у меня в сердце и до конца моей жизни она будет там.

Харлампиди Х.Э.

Е.Т. Денисов пользовался большим уважением в коллективе всего Казанского химико-технологического института. Это был Человек с большой буквы. Он всегда говорил с собеседником на равных, и возникало ощущение, что он как бы советуется с тобой, осторожно излагая свою точку зрения без каких-либо намеков на то, что ты недостаточно разбираешься в данном вопросе. Это очень редкое качество мудрого человека – учителя, наставника, доброго советника.

Шестаков А.Ф.

Только сейчас приходит осознание того, насколько мне повезло в жизни сблизиться с Евгением Тимофеевичем. Глыба в науке, образец неутомимого трудолюбия, блестящий эрудит, обаятельный интеллигент, человек щедрой души! Все дальше уходят незабываемые мгновения общения с Евгением Тимофеевичем Денисовым, наполненные его неспешным, очень основательным и глубоким подходом к любому делу, но обаяние его личности продолжает оставаться с нами.

K. U. Ingold, CANADA

Evgeny was a wonderful man, a real gentleman. Kind and thoughtful. A brilliant chemist who never lost his enthusiasm for chemistry. I am going to miss him also, as will the many friends he made all around the world. Keith

Fyaz Ismail, UK

For me, he was synonymous with "The greatest theoretician of free radicals" and always think of him as a true, humble and generous friend, who will be sadly missed.

Jan and Graeme George, Australia

Evgeny will be missed by all of the scientific community who know of his seminal work as well. His name will live on through all of his wonderful contributions. He will always be with us in our memories.

G.J. Kontoghiorghes, Cyprus

When I met with Professor Eugene T. Denisov, I had the feeling that I was in a library- very quiet, with hundreds of books in his eyes staring at me, asking me to use his knowledge and despite all odds and conditions, to produce valuable information for the progress of humanity. This is the purpose of academic

scientists and Eugene was a prime example as evidenced by the academic work he produced during his lifetime.

Тимохин В.И., USA

Все мы, кто знал его, будем всегда помнить Евгения Тимофеевича как выдающегося ученого и прекрасного человека. Together with my friends from Italy (Chrysostomos Chatgililoglu and Carla Ferreri) and France (Yannick Landais) we submitted our review “30 Years of (TMS)₃SiH: A milestone in radical-based synthetic chemistry” in the *Chemical Reviews* 2018 (American Chemical Society). Мы посвятили этот обзор памяти нашего незабываемого друга – Евгения Тимофеевича Денисова за его оригинальные исследования и публикации в области кинетики и механизма радикальных процессов.

Денисова Т.Г.

Сердечно благодарю профессора Е.Т. Денисова за удовольствие учебы у него на дипломной работе (1964-1965), в аспирантуре ОИХФ, Черноголовка (1969-1972), преподавания на кафедре химической кинетики в Башгосуниверситете Уфы (1973-1981), за радость каждого дня, прожитого с ним вместе.

Я счастлива, что Евгений Тимофеевич Денисов нашел в Жизни Взаимопонимание, Поддержку, Восхищение и Любовь!



Евгений Тимофеевич Денисов, Таиса Григорьевна Денисова, Черноголовка,
2015

Литература:

Денисов Е.Т. Кинетика бытия и научных исканий длиною в 80 лет
ООО «Цифровичок», Москва. 2010. С. 1-223

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр
	·
Денисов Евгений Тимофеевич	3
Бурлакова Елена Борисовна	4
Пелевина Ирина Ивановна	5
ЛЕКЦИИ	6
<i>Варламов В.Т.</i>	6
НОВЫЕ ДАННЫЕ О КИНЕТИКЕ И МЕХАНИЗМЕ ЦЕПНЫХ РЕАКЦИЙ ТИОЛОВ С ХИНОИДНЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ	
<i>Касаикина О.Т., Березин М.П., Потапова Н.В., Круговов Д.А.</i>	16
ГЕТЕРОГЕННОЕ ИНИЦИИРОВАНИЕ РАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ ОКИСЛЕНИЯ И ПОЛИМЕРИЗАЦИИ ПРИ УЧАСТИИ КАТИОННЫХ ПАВ	
<i>Хурсан С.Л.</i>	26
ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭНЕРГЕТИКИ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВЫЧИСЛИТЕЛЬНЫХ МЕТОДОЛОГИЙ	
<i>Сторожок Н.М., Тимохина Т. Х., Паромова Я. И.</i>	47
ФОТОДИНАМИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ. КИНЕТИКА ГИБЕЛИ РЯДА МУЗЕЙНЫХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ И КРАСНОГО СВЕТА	
<i>Пальмина Н.П., Сажина Н.Н., Богданова Н.Г., Плащина И.Г., Каспаров В.В., Бинюков В.И., Антипова А.С., Семёнова М.Г.</i>	60
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛИПОСОМ\МИЦЕЛЛ ИЗ СОЕВЫХ ФОСФОЛИПИДОВ. ВЛИЯНИЕ НУТРИЦЕВТИКОВ И ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ	
<i>Иванова А.В.</i>	63
ПОТЕНЦИОМЕТРИЯ В ИССЛЕДОВАНИИ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ ВЕЩЕСТВ	
<i>Кандалинцева Н. В., Ягунов С. Е., Хольшин С. В., Олейник А. С., Просенко А. Е.</i>	105
ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ПОИСКА	

ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БИОАНТИОКСИДАНТОВ:
НЕ ЗАМЕНИТЬ ЛИ СЕРУ НА СЕЛЕН...

Харлампиди Х.Э., Мирошкин Н.П., Гайфуллин А.А. 130
ПРОМЫШЛЕННЫЕ МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ОКСИДА
ПРОПИЛЕНА

Плисс Е.М. 141
КИНЕТИКА И МЕХАНИЗМ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ
АЛИФАТИЧЕСКИХ НИТРОКСИЛЬНЫХ И
ГИДРОПЕРОКСИЛЬНЫХ РАДИКАЛОВ

Волков В. А. 159
АНТИОКСИДАНТЫ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ:
СОДЕРЖАНИЕ, СТРУКТУРА, АКТИВНОСТЬ

Тихонов И.В., Бородин Л.И., Рябкова В.А. 183
МЕХАНИЗМ АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ
ПОЛИФЕНОЛОВ ПРИ ОКИСЛЕНИИ МЕТИЛЛИНОЛЕАТА В
МИЦЕЛЛАХ

Петров Л.В., Психа Б.Л., Соляников В.М. 185
ОКИСЛЕНИЕ ТРОЙНОЙ СИСТЕМЫ ЭПОКСИД СТИРОЛА –
ХЛОРИД МЕДИ (II) – α -НАФТОЛ В СПИРТОВОЙ И ВОДНО-
СПИРТОВОЙ СРЕДАХ

Покидова Т.С. 186
ПАРАБОЛИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ РЕАКЦИЙ ЗАМЕЩЕНИЯ ПО
О–О–СВЯЗИ ГИДРОПЕРОКСИДОВ

Зинатуллина К.М., Касаикина О.Т., Храмева Н.П. 188
ВЛИЯНИЕ ИОННОГО СОСТАВА СРЕДЫ НА РЕАКЦИЮ
ГЛУТАТИОНА С ПЕРОКСИДОМ ВОДОРОДА

ТЕЗИСЫ УСТНЫХ И СТЕНДОВЫХ ДОКЛАДОВ 191

Москаленко И.В. 191
КИНЕТИЧЕСКИЙ ИЗОТОПНЫЙ ЭФФЕКТ ПРИ ОКИСЛЕНИИ
ЭФИРОВ ЛИНОЛЕОВОЙ КИСЛОТЫ В МИЦЕЛЛАХ

Молодочкина С.В., Лошадкин Д.В. 193
ВЛИЯНИЕ 2,2,6,6-ТЕТРАМЕТИЛПИПЕРИДИН-1-ОКСИЛА НА
ОКИСЛЕНИЕ КОМПОНЕТОВ СИСТЕМЫ МЕТИЛЛИНОЛЕАТ –
TRITON X-100

<i>Усманова Ю.Х., Денисова М.Н., Нуруллина Н.М., Харлампиди Х.Э.</i>	195
ОКИСЛЕНИЕ АЛКИЛАРЕНОВ СОЕДИНЕНИЯМИ НЕПЕРЕХОДНЫХ МЕТАЛЛОВ	
<i>Мотякин М.В., Ионова И.С., Потапов Е.Э.</i>	197
ТОМОГРАФИЯ ТЕРМООКИСЛЕНИЯ ЭТИЛЕНПРОПИЛЕНОВЫХ КАУЧУКОВ	
<i>Лотош Н.Ю., Селищева А.А., Стрельцов Д. Р., Кулебякина А. И.</i>	201
МЕХАНИЗМЫ АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ А- ЛИПОЕВОЙ КИСЛОТЫ В МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМАХ	
<i>Петров Л.В., Психа Б.Л., Тыщенко В.А., Шейкина Н.А.</i>	204
ОЦЕНКА ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ СТАБИЛЬНОСТИ НОВЫХ ГИДРАВЛИЧЕСКИХ МАСЕЛ	
<i>Психа Б.Л., Нешев Н.И., Соколова Е.М., Санина Н.А.</i>	207
КИНЕТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ДОНОРОВ ОКСИДА АЗОТА С ЭРИТРОЦИТАМИ	
<i>Неуен Тхи Тху, Гибадуллина Э.М., Бурилов А.Р.</i>	210
2,6-ДИАМИНОПИРИДИНЫ, СОДЕРЖАЩИЕ В ЯДРЕ ПРОСТРАНСТВЕННО-ЗАТРУДНЕННЫЙ БЕНЗИЛФОСФОНАТНЫЙ ФРАГМЕНТ-В КАЧЕСТВЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ АНТИОКСИДАНТНЫХ И ПРОТИВОРАКОВЫХ АГЕНТОВ	
<i>Щелконогов В.А., Шипелова А. В., Синеврюхова А.М., Дарнотук Е.С., Шастина Н.С., Баранова О.А., Чеканов А.В., Казаринов К.Д., Селищева А.А., Соловьева Э.Ю., Федин А.И.</i>	212
ВЛИЯНИЕ НАНОЭМУЛЬСИЙ А-ЛИПОЕВОЙ КИСЛОТЫ НА АГРЕГАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ И НА НАКОПЛЕНИЕ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ	
<i>Хольшин С.В., Ягунов С.Е., Кандалинцева Н.В., Просенко А.Е.</i>	215
СИНТЕЗ СЕЛЕН- И ТЕЛЛУРСОДЕРЖАЩИХ АНАЛОГОВ ФЕНОЗАН-КИСЛОТЫ	
<i>Ягунов С. Е., Хольшин С. В., Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е.</i>	216
ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ АНАЛОГИ ТОКОФЕРОЛОВ НА ОСНОВЕ 5-ГИДРОКСИ-2,3-ДИГИДРОБЕНЗОФУРАНА	
<i>Багавиева Т.К., Вологодина Е.В., Просенко А.Е.</i>	219
СИНТЕЗ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА (ДОДЕЦИЛСУЛЬФАНИЛ)МЕТИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ КВЕРЦЕТИНА	
<i>Веригина А.А., Пинко П.И., Вологодина Е.В., Просенко А.Е.</i>	221
СИНТЕЗ ДОДЕЦИЛТИОМЕТИЛИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ТИРОЗОЛА И ПАРА-ДИГИДРОКУМАРО-ВОГО СПИРТА И ИХ АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА	

<i>Куликова И.С., Пожидаев В.М., Камаев А.В.</i>	224
ПРОДУКТЫ ОКИСЛЕНИЯ ЖИРОВ – БИОМАРКЕРЫ ОРГАНИЧЕСКИХ ОСТАТКОВ НА АРХЕОЛОГИЧЕСКОЙ КЕРАМИКЕ	
<i>Дарюхина Е.Н., Сторожок Н. М., Цымбал И.Н.</i>	227
ХАРАКТЕР ВЛИЯНИЯ КАЛИКСАРЕНОВ НА ПРОЦЕССЫ ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ	
<i>Луканина С.Н., Сахаров А.В., Просенко А.Е.</i>	230
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС ПРИ СТЕРОИДНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ	
<i>Клименко К.А., Нестерович С.Л., Просенко А.Е.</i>	233
НОВЫЙ СПОСОБ СИНТЕЗА 1,2-ДИГИДРОКСИ-4- (ДОДЕЦИЛТИОМЕТИЛ) БЕНЗОЛА ИЗ ВАНИЛИНА	
<i>Рыжов Ю. Р., Фокина Е. А., Зорина И. И.</i>	236
ВЛИЯНИЕ РЕПЕРФУЗИИ РАЗЛИЧНОЙ ДЛИТЕЛЬНОСТИ НА СОДЕРЖАНИЕ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В КОРЕ МОЗГА СТАРЫХ КРЫС ПОСЛЕ ДВУХСОСУДИСТОЙ ИШЕМИИ ПЕРЕДНЕГО МОЗГА	
<i>Брезгина А.С., Никитин В.Н., Просенко О.И., Просенко А.Е.</i>	239
НОВЫЙ СЕРОСОДЕРЖАЩИЙ ВОДОРАСТВОРИМЫЙ АНТИОКСИДАНТ НА ОСНОВЕ ГИДРОХИНОНА	
<i>Малютина И.Г., Волков В.А., Мисин В.М., Лапина Г.П., Лихуща П.С., Петухова Л.В.</i>	241
КИНЕТИКА АУТООКИСЛЕНИЯ АДРЕНАЛИНА В ПРИСУТСТВИИ ХЛОРОГЕНОВОЙ КИСЛОТЫ	
<i>М.В. Воронков¹, О.А. Ямскова², В.С. Романова², Д.В. Курилов³, Н.Е. Павловская⁴, И.В. Горькова⁴, А.В.Лушников⁴, В.М. Мисин¹, В.А. Волков</i>	244
ВЗАИМОСВЯЗЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ И РАЗМЕРОВ НАНОЧАСТИЦ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНА C ₆₀ С РОСТО- СТИМУЛИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ	
<i>Повх А.Ю., Плащина И.Г., Швыдкий В.О., Шишкина Л.Н.</i>	247
ВЛИЯНИЕ ИОНОВ Cu ²⁺ И ТИОФОСФАТА НАТРИЯ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛЕЦИТИНА В ВОДНОЙ СРЕДЕ	
<i>Смирнова А.Н., Швыдкий В.О., Волков В.А., Шишкина Л.Н.</i>	250
МЕЖФАЗНОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПРИ ВЫДЕЛЕНИИ ЛИПИДОВ ИЗ ЭКСТРАКТОВ РАСТЕНИЙ	
<i>Комиссаров А.Е., Мелентьев П.А., Тимошенко С.И., Иванова Е.А.,</i>	253

<i>Саранцева С.В.</i>	
ВЗАИМОСВЯЗЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И УРОВНЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА <i>sws/NTE у Drosophila melanogaster</i>	
<i>Лошенко В.И., Просенко А.Е., Арбузова Е.Н., Зонова А.Д., Сахаров А.В.</i>	254
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИОКСИДАНТОВ «ТФ-15» И «ТФ-7» ПРИ ЛЕЧЕНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА	
<i>Лошенко В.И., Просенко А.Е., Зонова А.Д., Сахаров А.В.</i>	257
ВЛИЯНИЕ АНТИОКСИДАНТА «ТФ-15» НА УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ОКСИДА АЗОТА В ПЕРЕДНЕМ МОЗГЕ СИБИРСКОГО ОСЕТРА ПРИ ПОВЫШЕННОМ СОДЕРЖАНИИ ИОНОВ ЖЕЛЕЗА В СРЕДЕ ОБИТАНИЯ	
<i>Просенко А.Е., Лошенко В.И., Арбузова Е.Н., Беляев А.В., Сахаров А.В.</i>	259
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ КАСТОРЕУМА И АНТИОКСИДАНТА «ТФ-15» ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТОРОГО ПРОСТАТИТА У МЫШЕЙ	
<i>Когарко И.Н., Когарко Б.С., Ганеев И.И., Голенков А.К., Марьина С.А</i>	262
БИОПОЛИМЕРЫ (СВОБОДНЫЕ ЛЕГКИЕ ЦЕПИ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ) СЫВОРОТКИ КРОВИ И МОЛЕКУЛЯРНО- ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ПРИ ПРОГНОЗИРОВАНИИ ЗАБОЛЕВАНИЯ	
<i>Костюков А.А., Местергази М.Г., Шмыкова А.М., Кривелева А.С., Подругина Т.А., Радченко Е.В., Палюлин В.А., Кузьмин В.А.</i>	265
СПЕКТРАЛЬНО-КИНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОМПЛЕКСА БИСКАРБОЦИАНИНОВОГО КРАСИТЕЛЯ С СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ	
<i>Климович М.А., Костюков А.А., Радченко А.Ш., Шибаева А.В., Местергази М.Г., Кривелева А.С., Шмыкова А.М., Маркова А.А., Штиль А.А., Подругина Т.А., Кузьмин В.А.</i>	266
ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ БИСКАРБОЦИАНИНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ НА ИХ СПОСОБНОСТЬ К НАКОПЛЕНИЮ В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ НСТ116 И ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА	
<i>И. А. Емельянова, Е.В. Вологодина, А.Е. Просенко</i>	268
СИНТЕЗ И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ (ДОДЕЦИЛТИО)МЕТИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГИДРОХИНОНА, ТРЕТ-БУТИЛГИДРОХИНОНА И 2-ТРЕТ-БУТИЛ-4- МЕТОКСИФЕНОЛА	
<i>Денисова Т.Г.</i>	270
ДЕНИСОВ ЕВГЕНИЙ ТИМОФЕЕВИЧ В НАУКЕ И ЖИЗНИ	
СОДЕРЖАНИЕ	297
CONTENT	302

CONTENT

Denisov Evgeny Timofeevich	3
Burlakova Elena Borisovna	4
Pelevina Irina Ivanovna	5
Lectures	6
Varlamov V. T. NEW DATA ON THE KINETICS AND MECHANISM OF CHAIN REACTIONS OF THIOLS WITH QUINOID COMPOUNDS	6
Kasaikina O. T., Berezin M. P., Potapova N. V., Krugovov D. A. HETEROGENEOUS INITIATION OF RADICAL PROCESSES OF OXIDATION AND POLYMERIZATION WITH THE PARTICIPATION OF CATIONIC SURFACTANTS	16
Khursan S. L. INVESTIGATION OF MOLECULAR ENERGY OF ORGANIC COMPOUNDS USING COMPUTATIONAL METHODOLOGIES	26
Storozhok N. M., Timokhina T. H., Feromova Ya.I. PHOTODYNAMIC EFFECT. KINETICS OF DEATH OF A NUMBER OF MUSEUM STRAINS OF MICROORGANISMS UNDER THE ACTION OF PHOTSENSITIZERS AND RED LIGHT	47
Palmina N. P., Sazhina N. N., Bogdanova N. G., Plashchina I. G., Kasparov V. V., Birukov V. I., Antipova A.S., Semenova M. G. PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF LIPOSOMES\MICELLES FROM SOY PHOSPHOLIPIDS. EFFECT OF NUTRACEUTICALS AND LIPID PEROXIDATION	60
Ivanova A.V. POTENTIOMETRY IN THE STUDY OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF SUBSTANCES	63
Kandalintseva N. V., Yagunov S. E., Kholshin S. V., Oleynik A. S., Prosenko A. E. PROMISING DIRECTIONS FOR THE POLYFUNCTIONAL ANTIOXIDANTS SEARCH: WHAT IF WE SUBSTITUTE SULFUR	105

FOR SELENIUM...	
Kharlampidi H. E., Miroshkin N. P., Gaifullin A. A.	130
INDUSTRIAL METHODS FOR OBTAINING PROPYLENE OXIDE	
Pliss E. M.	141
KINETICS AND MECHANISM OF INTERACTION OF	
ALIPHATIC NITROXYL AND HYDROPEROXYL RADICALS	
Volkov V. A.	159
ANTIOXIDANTS OF PLANT ORIGIN: CONTENT, STRUCTURE,	
ACTIVITY	
Tikhonov I. V., Borodin L. I., Ryabkova V. A.	183
MECHANISM OF ANTIOXIDANT ACTION OF POLYPHENOLS	
DURING THE OXIDATION OF METHYLLINOLEATE IN	
MICELLES	
Petrov L. V., Psycha B. L., Solyanikov V. M.	185
OXIDATION OF TRIPLE SYSTEM STYRENE EPOXIDE-COPPER	
(II) CHLORIDE-A-NAPHTHOL IN ALCOHOL AND WATER–	
ALCOHOL MEDIA	
Pokidova T.S.	186
PARABOLIC MODEL OF SUBSTITUTION REACTIONS ON	
HYDROPEROXIDES O-O BOND	
Zinatullina K. M., Kasaikina O. T., Khrameeva N. P.	188
INFLUENCE OF THE IONIC COMPOSITION OF THE MEDIUM	
ON THE REACTION OF GLUTATHIONE WITH HYDROGEN	
PEROXIDE	
Abstracts of oral and poster presentation	191
Moskalenko I. V.	191
KINETIC ISOTOPE EFFECT IN OXIDATION OF LINOLEIC ACID	
ESTERS IN MICELLES	
Molodochkina S.V., Loshadkin D.V.	193
EFFECT OF 2,2,6,6-TETRAMETHYLPYPERIDINE-1-OXYL ON	
OXIDATION OF SYSTEM COMPONENTS METHYL-	
LINOLEATE – TRITON X-100	
Usmanova Y. H., Denisova M. N., Nurullina N. M., Kharlampidi H. E.	195
OXIDATION OF ALKYLARENES BY COMPOUNDS OF	
INTRANSITIVE METALS	
Motyakin, M. V., Ionova, I. S., Potapov E. E.	197
TOMOGRAPHY OF THERMAL OXIDATION OF ETHYLENE-	

PROPYLENE RUBBERS	
Lotosh N. Yu., Selishcheva A. A., Strel'tsov, D. R., Kulebyakina A. I.	201
MECHANISMS OF ANTIOXIDANT ACTION OF A-LIPOIC ACID IN MODEL SYSTEMS	
Petrov L. V., Psycha B. L., Tyshchenko V. A., Sheikina N. A.	204
EVALUATION OF OXIDATIVE STABILITY OF NEW HYDRAULIC OILS	
Psycha B. L., Neshev N. I., Sokolova E. M., Sanina N. A.	207
KINETIC MODELING OF THE INTERACTION OF NITRIC OXIDE DONORS WITH ERYTHROCYTES	
Nguyen Thi Thu, Gibadullina E. M., Burilov A. R.	210
2,6-DIAMINOPYRIDINES CONTAINING A SPATIALLY HINDERED BENZYL PHOSPHANATE FRAGMENT IN THE NUCLEUS-AS POTENTIAL ANTIOXIDANT AND ANTICANCER AGENTS	
Shchelkonogov V. A., Shipelova A.V., Sinebriukhova A. M., Darnotuk E. S., Shastina N. S., Baranova O. A., Chekanov A.V., Kazarinov K. D., Selishcheva A. A., Solovieva E. Yu., Fedin A. I.	212
EFFECT OF A-LIPOIC ACID NANOEMULSIONS ON PLATELET AGGREGATION AND ACCUMULATION OF LIPID PEROXIDATION PRODUCTS IN BLOOD PLASMA	
Holsen S. V., Yagunov S. E., Kandalintseva N.V., Prosenko A. E.	215
SYNTHESIS OF SELENIUM AND TELLURIC ANALOGUES OF PHENOSAN ACID	
Yagunov S. E., Kholshin S. V., Kandalintseva N. V., Prosenko A. E.	216
MULTIFUNCTIONAL ANALOGUES OF TOCOPHEROLS BASED ON 5-HYDROXY-2,3-DIHYDROBENZOFURAN	
Bagaveeva T. K., E. V. Vologdina, Prosenko A. E.	219
SYNTHESIS AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF (DODECYLSULFONYL)METHYL DERIVATIVES OF QUERCETIN	
Verigina A. A., Pinko P. I., Vologda E. V., Prosenko A. E.	221
SYNTHESIS OF DODECYLTHIO METHYLATED DERIVATIVES OF THIAZOLE AND PARA-DIHYDRO COUMAR ALCOHOL AND THEIR ANTIOXIDANT PROPERTIES	
Kulikova I. S., Pozhidaev V. M., Kamaev A.V.	224
FAT OXIDATION PRODUCTS-BIOMARKERS OF ORGANIC RESIDUES ON ARCHAEOLOGICAL CERAMICS	
Daryukhina E. N., Storozhok N. M., Tsymbal, I. N.	227
CHARACTER OF CALIXARENES INFLUENCE ON LIPID OXIDATION PROCESSES	
Lukanina S. N., Sakharov A.V., Prosenko A. E.	230
USE OF ANTIOXIDANT COMPOUNDS FOR CORRECTION OF	

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL DISORDERS OF RAT PANCREAS IN STEROID DIABETES MELLITUS	
Klimenko K. A., Nesterovich S. L., Protsenko A. E.	233
A NEW METHOD FOR THE SYNTHESIS OF 1,2-DIHYDROXY-4 - (DODECYLTHIOMETHYL) BENZENE FROM VANILLIN	
Ryzhov Yu. R., Fokina E. A., Zorina I. I.	236
EFFECT OF REPERFUSION OF DIFFERENT DURATION ON THE CONTENT OF LIPID PEROXIDATION PRODUCTS IN THE CEREBRAL CORTEX OF OLD RATS AFTER FOREBRAIN BIPASCULAR ISCHEMIA	
Brezgina A. S., Nikitin V. N., Protsenko O. I., Prosenko A. E.	239
A NEW SULFUR-CONTAINING WATER-SOLUBLE ANTIOXIDANT BASED ON HYDROQUINONE	
Malyutina, I. G., Volkov V. A., Mishin V. M., Lapina G. P., Lichucha P. S., Petukhova L.V.	241
KINETICS OF EPINEPHRINE AUTO-OXIDATION IN THE PRESENCE OF CHLOROGENIC ACID	
Voronkov M.V., Zemskova O.A. , Romanova V. S., Kurilov D.V., Pavlovskaya N.E., Gorkova I.V., Lushnikov A.V., Misin V.M., Volkov V.A.	244
RELATIONSHIP OF ANTIOXIDANT PROPERTIES AND SIZES OF AMINO ACID DERIVATIVES OF FULLERENE C60 NANOPARTICLES WITH GROWTH-STIMULATING ACTIVITY	
Povkh, A., Blasina I. G., Shvydkyi O. V., Shishkina L. N.	247
INFLUENCE OF Cu ²⁺ IONS AND SODIUM THIOPHOSPHATE ON THE INTENSITY OF LECITHIN PEROXIDATION IN AQUEOUS MEDIUM	
Smirnova A. N., Shvydkiy V. O., Volkov V. A., Shishkina L. N.	250
INTERPHASE DISTRIBUTION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN THE ISOLATION OF LIPIDS FROM PLANT EXTRACTS	
Kommissarov A. E., Melent'ev, P. A., Timoshenko S. I., Ivanov E. A., Sarantseva S. V.	253
RELATIONSHIP BETWEEN OXIDATIVE STRESS AND NEURODEGENERATION LEVELS IN CHANGES IN SVS/NTE GENE EXPRESSION IN <i>sws/NTE</i> y <i>Drosophila melanogaster</i>	
Loshenko V. I., Prosenko A. E., Arbuzova E. N., Zonova A. D., Sakharov A. V.	254
COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE EFFECTIVENESS OF ANTIOXIDANTS "TF-15" AND "TF-7" IN THE TREATMENT OF TYPE 2 DIABETES	
Loshenko V. I., Prosenko A. E., Zonova A. D., Sakharov A.V.	257
INFLUENCE OF ANTIOXIDANT "TF-15" ON THE LEVEL OF NITRIC OXIDE EXPRESSION IN THE FOREBRAIN OF	

SIBERIAN STURGEON WITH INCREASED CONTENT OF IRON IONS IN THE ENVIRONMENT	
Prosenko A. E., Lyashenko V. I., Arbuzova E. N., Belyaev A.V., Sakharov A. V.	259
EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF CASTOREUM AND ANTIOXIDANT "TF-15" IN EXPERIMENTAL MODELING OF ACUTE PROSTATITIS IN MICE	
Kogarko I.N., Kogarko B.S., Ganeev I.I., Golenkov A.K., Marina S.A.	262
SERUM BIOPOLYMERS (FREE LIGHT CHAINS OF IMMUNOGLOBULINS) AND MOLECULAR GENETIC FACTORS IN DISEASE PROGNOSIS	
Kostyukov A.A., Mestergazi M.G., Shmykova A.M., Kriveleva A.S., Podrugina T.A., Radchenko E.V., Palyulin V.A., Kuzmin V.A.	265
SPECTRAL-KINETIC CHARACTERISTICS OF BISCARBOCYANINE DYE COMPLEX WITH SERUM ALBUMIN	
Mikhail A. Klimovich, Alexey A. Kostyukov, Alexandra Sh. Radchenko, Anna V. Shibaeva, Mikhail G. Mesteragzi, Anna S. Kriveleva, Anna M. Shmykova, Alina A. Markova, Alexander A. Shtil, Tatyana A. Podrugina, Vladimir A. Kuzmin	266
INFLUENCE OF STRUCTURE OF BISCARBOCYANINE DYES ON THEIR ABILITY TO ACCUMULATE IN TUMOR CELLS HCT116 AND PHOTSENSITIZING PROPERTIES	
I.A. Emelyanova, E.V. Vologdina, A.E. Prosenko	268
SYNTHESIS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY (DODECYLTIO) OF METHYL DERIVATIVES OF HYDROCHINON, 2-TRET-BUTYL-HYDROCHINONE AND 2-TRET-BUTYL-4-METHOXYPHENOL	
Denisova T. G.	270
DENISOV EVGENY TIMOFEEVICH IN SCIENCE AND LIFE	
CONTENT	297
CONTENT (Engl)	306

Научное издание

**ОКИСЛЕНИЕ,
ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС,
АНТИОКСИДАНТЫ**

Издание подготовлено в авторской редакции

Технический редактор Е.Н.Собанина

Компьютерная верстка Е.Н. Собанина

Дизайн обложки М.В.Рогова

Подписано в печать 15.10.2019 г. Формат 60х84/16
Бумага офсетная. Печать офсетная. Гарнитура Таймс.
Усл. Печ. Л.17,44. Тираж 120 экз. Заказ 1806.

Российский университет дружбы народов
115419, ГСП-1, г. Москва, ул. Орджоникидзе, д.3

Типография РУДН
115419, ГСП-1, г. Москва, ул. Орджоникидзе, д.3, тел. 952-04-41
