

Рыбаченко В.И., Илькевич Н.С. (ИнФОУ НАНУ), **Шредер Г.** (Chemical Department of Adam Mickiewicz University), **Дмитрук А.Ф.** (ДонНУЭТ), **Чотий К.Ю.** (ИнФОУ НАНУ), **Боровик В.А.** (Институт земледелия южного региона Украинской академии аграрных наук)

ИЗУЧЕНИЕ РЕАКЦИИ ГОССИПОЛА С 2,2-ДИФЕНИЛ-1-ПИКРИЛГИДРАЗИЛОМ

Методом УФ спектроскопии исследовано взаимодействие растительного полифенола госсипола со стабильным свободным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (ДФПГ) в этаноле. Показано, что госсипол является эффективным антиоксидантом, а его активность в реакции с ДФПГ оценена с использованием EC_{50} , ECR_{50} и $\log Z$ параметров.

В настоящее время эпидемиологические, биологические и клинические исследования показали ведущую роль вызванного свободными радикалами окисления клеточных мембран в развитии атеросклероза, катаракты и некоторых форм рака. Такие природные антиоксиданты как витамины С, Е и β -каротин играют значительную роль в профилактике подобных заболеваний. Биологическая активность многих растительных полифенолов нередко определяется их антиоксидантной активностью.

Госсипол-1,1',6,6',7,7'-гексагидрокси-5,5'-диизопропил-3,3'-диметил-2,2'-бинафтален-8,8'-дикарбоксоальдегид — желтый пигмент хлопка — интенсивно изучается с момента его открытия. Этот природный полифенол обладает широким спектром биологической активности [1]. Свою антиоксидантную активность госсипол может проявлять с помощью различных механизмов: захватывая радикалы, инициирующие окисление липидов; связывая ионы металлов [2], а также ингибируя энзиматические системы, ответственные за генерацию радикалов [1].

В настоящей работе проведена количественная оценка антиоксидантной активности госсипола в реакции со стабильным свободным радикалом ДФПГ. В ходе реакции происходит перенос атома водорода от фенола к ДФПГ с образованием дифенилпикрилгидразина и феноксильного радикала. Реакция сопровождается постепенным изменением окраски раствора с фиолетовой на желтую, и расход ДФПГ легко определяется по уменьшению интенсивности поглощения при $\lambda=518\text{nm}$.

В работе использован ДФПГ фирмы Aldrich без дополнительной очистки. Госсипол получен экстракцией из семян хлопка и очищен по методике Адамса [3]. УФ спектры регистрировали на спектрофотометре Helios γ .

Известно, что госсипол в растворе существует в виде 3 таутомерных форм (рис. 1), равновесие между которыми определяется, главным образом, полярностью растворителя [4]. В используемом нами для реакции этаноле существует равновесие между альдегидной и лактольной формами. Эксперимент проводился в интервале концентраций госсипола 10^{-6} – 10^{-5} и ДФПГ — 10^{-5} – 10^{-4} моль/л.

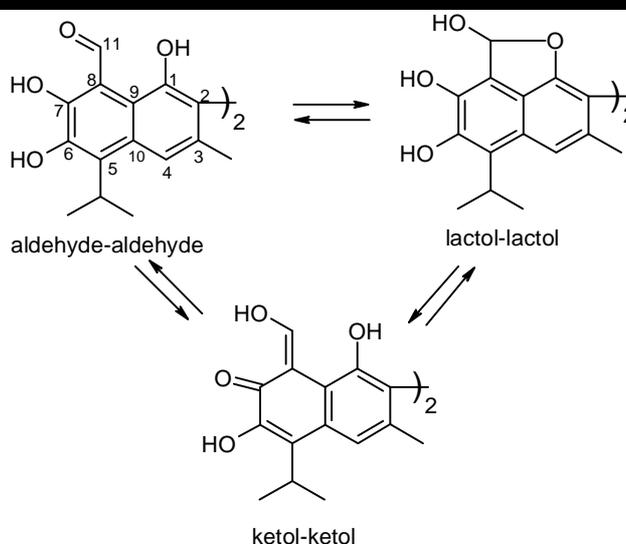


Рис. 1. Структура и таутомерные формы молекулы госсипола.

На рис. 2 представлены кинетические кривые, отражающие изменение концентрации свободных радикалов при различных соотношениях концентраций госсипола и ДФПГ.

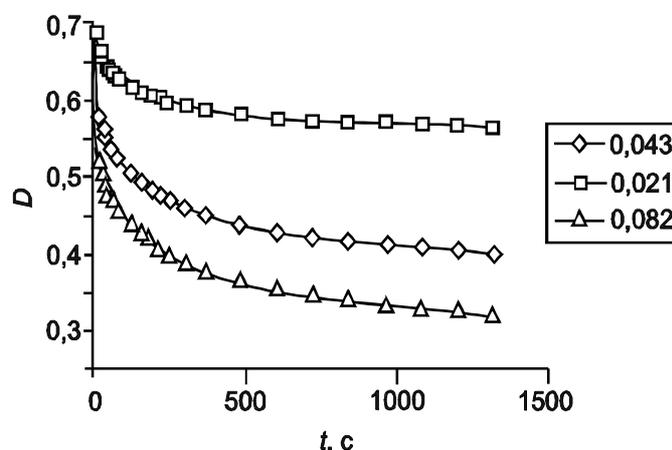


Рис.2. Изменение оптической плотности раствора ДФПГ в этаноле при различном соотношении концентраций госсипол/ДФПГ.

Видно, что госсипол вначале быстро реагирует с ДФПГ — это первый этап реакции (до 300 с), во время которого происходит перенос наиболее активных атомов водорода от антиоксиданта к ДФПГ. Второй этап реакции характеризуется гораздо более медленной скоростью расходования радикалов вследствие меньшей антирадикальной активности продуктов окисления госсипола. Остаточное содержание ДФПГ (%ДФПГ) в реакционной смеси оценивалось по формуле:

$$\%ДФПГ = (D_t/D_0) \cdot 100,$$

где D_0 — оптическая плотность раствора при $t = 0$, D_t — оптическая плотность в некоторый момент времени.

На рис. 3 (а) представлен график зависимости %ДФПГ от количества мг госсипола, приходящихся на 1 грамм ДФПГ.

Анализ рис. 3а позволяет определить величину «эффективного содержания» госсипола $EC_{50} = 65$ мг/г, которая необходима для уменьшения количества свободных радикалов в 2 раза. Чем меньше величина EC_{50} , тем выше антиоксидантная активность вещества. В частности, по литературным данным EC_{50} аскорбиновой кислоты составляет 50 мг/г [5], метилового эфира галловой кислоты 47 мг/г, α -токоферола 203,4 мг/г, а известного синтетического антиоксиданта бутилированного гидроксианизола (БГА) — 237,3 мг/г [6].

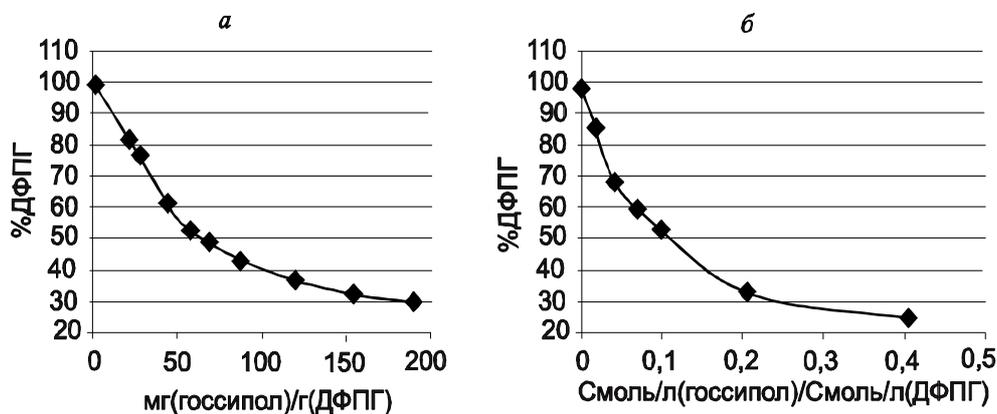


Рис. 3. Зависимость остаточного содержания ДФПГ от количества мг госсипола, приходящихся на 1 грамм ДФПГ (а), от соотношения концентраций госсипола и ДФПГ (б).

Наряду с EC_{50} , для характеристики антиоксидантной активности используют также «эффективное соотношение концентраций», ECR_{50} . По определению ECR_{50} равно отношению концентраций антиоксиданта и ДФПГ, которое обеспечивает снижение концентрации окислителя в 2 раза в течение 5 минут. Из рис. 3б следует, что для госсипола $ECR_{50}=0.12$. В случае кверцетина величина ECR_{50} равна 0.43 [7], а для синтетического антиоксиданта бутилированного гидрокситолуола (БГТ) — 12,56.

Традиционные параметры EC_{50} и ECR_{50} служат для оценки активности соединения в реакции с ДФПГ, однако не дают информации о механизме реакции. Более того, вещества с абсолютно разной реакционной способностью могут иметь близкие ECR_{50} и отличаться только по времени, необходимому для завершения реакции (достижения состояния равновесия). Именно поэтому вводят новый параметр ($\log Z$), который, в отличие от EC_{50} и ECR_{50} описывает кинетику начальной стадии реакции [7]. Для определения величины $\log Z$ нами измерены начальные скорости реакций (получены из графика зависимости

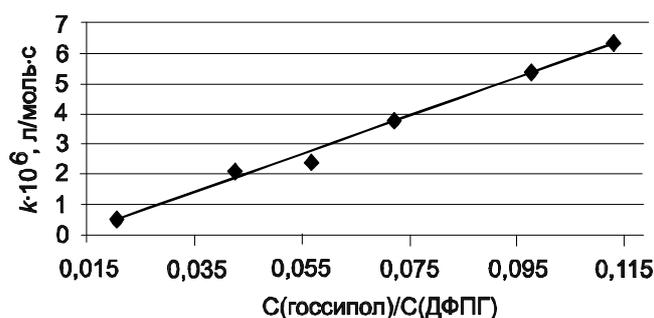


Рис. 4. Зависимость констант скорости второго порядка от соотношения концентраций госсипола и ДФПГ.

величины обратной концентрации ДФПГ от времени). Параметр Z (л/моль·с) равен тангенсу угла наклона графика зависимости констант скорости реакции от соотношения концентраций госсипола и ДФПГ (рис. 4). Полученное нами значение $\log Z = 7,8$ значительно превосходит таковые для кверцетина и БГТ (2,76 и 0,75 соответственно [7]).

Таким образом, в проведенной работе впервые определены различные количественные характеристики антирадикальной активности госсипола в реакции с 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом в этаноле. Сравнение полученных результатов с литературными данными показывает, что госсипол по своей реакционной способности значительно превосходит типичные природные и синтетические антиоксиданты.

Литература

1. Dodou K. // Expert Opin. Investig. Drugs, 2005. — V. 14(11). — P. 1419–1434.
2. Przybylski P., Wojciechowski G., Brzezinski B., Kozubek H., Marciniak B., Paszyc S. // J. Mol. Struct., 2001. — V. 569. — P. 147–155.
3. Campbell K.N., Morris R.S., Adams R. // J. Amer. Chem. Soc., 1937. — V. 59. — P. 1723–1728.
4. Brzezinski B., Olejnik J., Paszyc S., Aripov T.F. // J. Mol. Struct., 1990. — V. 220. — P. 261–268.
5. Qian H., Nihorimbere V. // J. Zhejiang Univ. SCI, 2004. — V. 5(6). — P. 676–683.
6. Han S.S., Lo C.L., Kim J.H., Baek S.H. // Bull. Korean Chem. Soc., 2004. — V. 25(3). — P. 389–391.
7. Lebeau J., Furman C., Bernier D.-L., Duriez P., Teissier E., Cotellet N. // Free Radical Biology & Medicine, 2000. — V. 29(9). — P. 900–912.

О Рыбаченко В.И., Илькевич Н.С., Шредер Г.,
Дмитрук А.Ф., Чотий К.Ю., Боровик В.А., 2007

УДК 546.733-386

Шаповалов В.В., Фурман Е.В., Паладе Д.М. (ДонНТУ)

ИССЛЕДОВАНИЕ РАВНОВЕСИЯ ПРОЦЕССА АКВАТАЦИИ В СИСТЕМЕ
[CoPhen₂H₂OBr]²⁺-H₂O

Исследовано равновесие процесса акватации в системе [CoPhen₂H₂OBr]²⁺-H₂O при 25°C и ионной силе 0,1 (0,1M KNO₃). Предложена схема равновесий процесса акватации катиона [CoPhen₂H₂OBr]²⁺, составлена математическая модель процесса, рассчитаны индивидуальные константы равновесия всех стадий процесса и получены кривые распределения концентраций отдельных форм бромоаквадифенантролинового комплекса кобальта(III) в зависимости от pH раствора.

В водных растворах катионов комплексов кобальта(III) типа ацидо-[CoA₅X]²⁺, диацидо-[CoA₄X₂]⁺ и ацидоаква-[CoA₄H₂OX]²⁺ (где А — незаряженные лиганды типа аммиака или аминов; X — ацидолиганд) существует сложное акваэтакционное и кислотнo-основное равновесие. В связи с этим обычно при исследовании реакций кислотного гидролиза (замещения ацидолиганда на молекулу воды), для подавления других возможных реакций эксперимент ведут в кислой среде, а при исследовании реакций щелочного гидролиза (замещения внутрисферного ацидолиганда на гидроксил-ион) — в щелочной среде.[1] Используя возможности вычислительной техники и математического моделирования химических процессов, можно видоизменить методику исследования процессов внутрисферного замещения. При этом исследования можно проводить в широком интервале pH. Согласно октаэдрической модели для комплексов кобальта(III) типа [CoA₄H₂OX]²⁺, [CoA₄X₂]⁺ возможны два геометрических изомера: цис- и транс-. Для бисэтилендиаминовых комплексов известны как цис-, так и транс-изомеры. Для многих из них в водных растворах возможны процессы взаимного превращения. [2] Исследуемый дифенантролиновый комплекс кобальта(III) согласно данным спектроскопических исследований [3,4] и геометрического анализа [5,6] в водных растворах изомеризации не подвергается. Следовательно, при