

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 547.943.7/541.127/128.24/577.161.6 .

© Коллектив авторов

ВЗАИМОСВЯЗЬ ХИМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ И ИНГИБИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ СТЕРИЧЕСКИ ЗАТРУДНЕННЫХ ФЕНОЛОВ ГРУППЫ ИХФАНов

М.Г. Перевозкина¹, Н.М. Сторожок¹, Г.А. Никифоров²

¹Тюменская государственная медицинская академия, 625023 Тюмень, ул.
Одесская, 52; факс: (3452) 20-62-00, эл. почта: biochem@tgma.info

²Институт биохимической физики РАН, Москва, 119991, ГСП-1, ул. Косыгина, 4;
факс: (095) 137-41-01

Изучены особенности ингибирующего действия пространственно затрудненных фенольных антиоксидантов (АО) (группы ИХФАНов), являющихся производными фенозана, дополнительно включающими остаток этаноламина, замещенного в свою очередь у атома азота N-алкильными заместителями R₃ с длиной цепи от 2 до 16 углеродных атомов. Действие АО исследовано в процессе инициированного окисления гомогенных растворов метилолеата (МО) в хлорбензоле, а также в водно-эмульсионной среде в присутствии поверхностно-активного вещества (ПАВ) - додецилсульфата натрия. Показано, что ИХФАНЫ в процессе окисления действуют по двум механизмам: реагируют с пероксильными радикалами с константой скорости реакции, равной $k_7 = (0.59 - 1.06) \times 10^4 \text{ (M} \times \text{s)}^{-1}$, и разрушают гидропероксиды с образованием молекулярных продуктов. Установлено, что действие ИХФАНов как АО существенно зависит от их химической структуры и условий окисления. В растворе липидов ИХФАНЫ эффективно тормозят окисление МО, превосходя в сравнимых концентрациях действие α -токоферола, дибунола, фенозана К и его эфира. Наиболее эффективен ИХФАН-10, имеющий наиболее короткий заместитель R₃ (CH₃). С удлинением R₃ ингибирующее действие АО существенно снижается. Особенности кинетики окисления объясняются формированием при участии АО микрогетерогенных систем, в которых OH - группы фенола ориентированы к ядру мицеллы, что ограничивает возможность их взаимодействия с радикалами RO₂•. В группе ИХФАНов, имеющих длину цепи R₃ от C₈H₁₇ до C₁₆H₃₃, периоды торможения увеличиваются пропорционально R₃. Указанная закономерность объясняется вовлечением таких АО в бислойные структуры с ориентацией внутри гидрофобных радикалов R₃, а к внешней и внутренней поверхности мицеллы фенольных OH-групп, что позволяет им эффективно уничтожать радикалы RO₂•. При окислении в водно-эмульсионной среде брутто-ингибирующее действие соответствующих ИХФАНов ниже, чем в гомогенном растворе, при этом различия в эффективности АО разного строения нивелируются. Указанный феномен обусловлен формированием и стабилизацией в присутствии ПАВ мицелл, в которых активные OH-группы расположены внутри надмолекулярной структуры.

Ключевые слова: антиоксиданты, α -токоферол, пероксидное окисление, антирадикальная активность, метилолеат, экранированные фенолы, ИХФАНЫ, мицеллы.

ВВЕДЕНИЕ. В медицине и биологии антиоксиданты (АО) рассматриваются в качестве средств дополнительной неспецифической коррекции патологических состояний, протекающих на фоне усиления окислительных процессов. К настоящему времени синтезировано и получило широкое применение

ВЗАИМОСВЯЗЬ “СТРУКТУРА-АКТИВНОСТЬ” В ГРУППЕ ИХФАНОВ

значительное количество антиоксидантов. Особые требования предъявляются к ингибиторам окисления, применяемым в медицине, фармации и пищевой промышленности. В связи с этим перечень нетоксичных, официально разрешенных к использованию АО невелик. Одним из перспективных направлений создания новых высокоэффективных антиоксидантов является синтез “гибридных молекул”, сочетающих в своей структуре несколько характеристических групп, взаимонезависимо или синергически воздействующих на процесс окисления субстратов в липидной или водной фазе.

В Институте биохимической физики (ИБХФ) им. Н.М. Эмануэля РАН на основе фенозана-1 (метилокса) (β -3,5-дитрет.бутил-4-гидроксибензилпропионовой кислоты) синтезирован ряд стерически затрудненных АО, дополнительно включающих в свою структуру остаток этаноламина, замещенного в свою очередь у кватернизированного (аммониевого) атома азота одним или несколькими N-алкильными заместителями с разной длиной цепи, включающей от одного до 16 углеродных атомов (табл. 1). Ингибиторы известны под названием ИХФАНЫ.

Таблица 1 Кинетические характеристики антиоксидантов

№ п/п	Название АО	Заместители в структуре АО				$K_7 \times 10^4$, $M^{-1} \times c^{-1}$	f^* (ХЛ)	Период индукции (τ), мин, $C_{AO} =$ $1 \times 10^{-3} M$	АОА $\frac{\tau_{AO} - \tau_{MO}}{\tau_{MO}}$
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄				
I	ФЕНОЗАН К	K ⁺	-	-	-	2,20±0,08	2,0±0,1	920±10	35,4
II	МЭФ	-CH ₃	-	-	-	2,30±0,06	2,0±0,1	1050±12	40,4
III	ИХФАН-9	-	-CH ₃	-	-CH ₃	0,79±0,04	1,9±0,1	1025±6	39,4
IV	ИХФАН-10	-	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	0,59±0,01	2,0±0,1	1125±7	43,3
V	ИХФАН-10-С-8	-	-CH ₃	-C ₈ H ₁₇	-CH ₃	1,06±0,03	2,8±0,2	350±5	13,5
VI	ИХФАН-10-С-10	-	-CH ₃	-C ₁₀ H ₂₁	-CH ₃	0,98±0,02	2,6±0,1	500±7	19,2
VII	ИХФАН-10-С-12	-	-CH ₃	-C ₁₂ H ₂₅	-CH ₃	0,97±0,03	2,4±0,1	425±5	16,3
VIII	ИХФАН-10-С-16	-	-CH ₃	-C ₁₆ H ₃₃	-CH ₃	0,94±0,02	2,2±0,1	1075±9	41,5
IX	ДИБУНОЛ					1,40±0,03	2,0±0,1	950±6	36,5
X	α -ТОКО- ФЕРОЛ					360,00±0,09	2,0±0,1	600±4	23,1

Примечание: $p \leq 0,05$; f^* (ХЛ) - фактор ингибирования, полученный из кинетики ХЛ этилбензола.

Из анализа химических структур (табл. 1) можно предполагать, что одни соединения (фенозан К и его метиловый эфир) по своей природе липофильны, образуют с липидами гомогенные растворы, другие АО, имеющие в структуре полярный фрагмент (кватернизированный атом азота), могут самопроизвольно формировать мицеллы, в которых за счет ориентации полярных и неполярных групп фенольный гидроксил может оказаться скрытым внутри микрореактора. В связи с этим в настоящей работе ставили целью изучить особенности ингибирования указанными соединениями процесса окисления липидов в гомогенном и мицеллярном растворах, показать взаимосвязь эффективности и строения ингибиторов, механизм их действия. Антиоксидантное действие ИХФАНов сравнивали с активностью известных реперных АО – дибунла и α -токоферола (α -ТФ).

МЕТОДИКА. Антирадикальную активность АО тестировали в системе инициированного окисления этилбензола хемилюминесцентным (ХЛ) методом [1]. Кинетику окисления изучали методом поглощения кислорода в манометрических установках типа Варбурга при окислении модельного субстрата – метилолеата (МО) в присутствии инертного растворителя хлорбензола и водно-эмульсионной среде в присутствии додецилсульфата натрия (ПАВ) при соотношении водной и липидной фазы 1:1. Процесс инициировали за счет термического разложения при 60°C азо-бис-изобутиронитрила, скорость инициирования в условиях экспериментов составляла $4,2 \times 10^{-8} \text{ М} \times \text{с}^{-1}$. Действие ингибиторов оценивали величиной антиоксидантной активности (АОА), количественно определяемой по формуле $\text{АОА} = \tau_i / \tau_{\text{реп}}$, а также отношением периодов индукции (τ_i / τ_s), где (τ_s) и (τ_i) – периоды индукции окисления субстрата в отсутствие и в присутствии исследуемого АО соответственно, $\tau_{\text{реп}}$ – период индукции ингибитора, принятого за стандарт. Кинетику накопления гидропероксидов изучали методом обратной йодометрии при аутоокислении метилолеата при 60°C в среде хлорбензола.

Мицеллообразование изучали методом рефрактометрии [2] и методом Ребиндера [3].

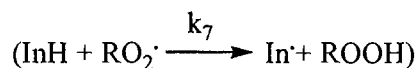
В работе были использованы α -ТФ (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметил-2-фитилхроман) (Serva, Германия), дибунл (1-гидрокси-2,6-дитрет.бутил-4-метилбензол) (Serva, Германия), ИХФАН-9 (N,N-диметиламиноэтиловый эфир β' -(3,5-дитрет.бутил-4-гидрокси-фенил) пропановой кислоты) сукцинат, ИХФАН-10 (N,N,N-триметиламиноэтиловый эфир β' -(3,5-дитрет.бутил-4-гидрокси-фенил) пропановой кислоты) йодид, ИХФАН-10-С-8 (N,N-диметил-N-октиламиноэтиловый эфир β' -(3,5-дитрет.бутил-4-гидрокси-фенил) пропановой кислоты) бромид, ИХФАН-10-С-10 (N,N-диметил-N-дециламиноэтиловый эфир β' -(3,5-дитрет.бутил-4-гидрокси-фенил) пропановой кислоты) бромид, ИХФАН-10-С-12 (N,N-диметил-N-додецил-аминоэтиловый эфир β' -(3,5-дитрет.бутил-4-гидрокси-фенил) пропановой кислоты) бромид, ИХФАН-10-С-16 (N,N-диметил-N-гексадецил-аминоэтиловый эфир β' -(3,5-дитрет.бутил-4-гидрокси-фенил) пропановой кислоты) бромид.

ИХФАНы синтезированы в ИБХФ РАН. Фенозан К (калиевая соль 3,5-дитрет.бутил-4-гидрокси-фенил-пропановой кислоты) и метиловый эфир фенозана (метиловый эфир 3,5-дитрет.бутил-4-гидрокси-фенил пропановой кислоты), синтезированы в Институте органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН. Для синтеза производных фенозана был выбран промышленно доступный метиловый эфир фенозана, подвергающийся переэтерификации и кватернизации полученного диметиламиноэтилового эфира. Чистоту полученных антиоксидантов исследовали высокоэффективной жидкостной хроматографией на хроматографе Милихром А-02, имеющем спектрофотометрический детектор - двухлучевой УФ-спектрофотометр и колонку Nucleosil 100-5. При регистрации хроматограмм использовали режим градиентного элюирования с использованием воды, метанола и ацетонитрила. Скорость подачи: 100 мкл/мин. Объем кюветы 1,2 мкл.

Содержание основного антиоксиданта составляло не менее 99,9 %.

Статистическую обработку результатов проводили с определением достоверности различий по критерию Стьюдента с использованием компьютерной программы Statgraf (количество экспериментов по каждой позиции равно 8-10). Из кинетических кривых графически определяли период индукции при помощи компьютерной программы, написанной на языке Qbasic.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. В группе исследуемых АО методом хемилюминесценции оценена величина константы скорости реакции АО с пероксильными радикалами (реакция 7, согласно общепринятой схемы [4,5]):



В разных условиях окисления определяли фактор ингибирования f , показывающий количество свободных радикалов, реагирующих с молекулой ингибитора. Антирадикальную активность (k_7) ИХФАНов сравнивали с дибунолом и α -ТФ. Показано, что значения k_7 для фенозана К, его метилового эфира близки между собой (табл. 1) и сравнимы с константой скорости реакции 7 для дибунола ($1,40 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \times \text{с}^{-1}$). Антирадикальная активность ИХФАНа-9 и ИХФАНа-10 по сравнению с ними ниже в 1,5-2 раза (табл. 1). Уменьшение k_7 ИХФАНов по сравнению с дибунолом обусловлено влиянием электроноакцепторных заместителей, снижающих, как известно, антирадикальную активность АО [6]. ИХФАНЫ в реакции с RO_2^{\cdot} значительно уступают α -ТФ ($k_7 = 3,6 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \times \text{с}^{-1}$). Стехиометрический коэффициент ингибирования как и для большинства известных АО близок или равняется 2 (табл. 1). Таким образом, приведенные данные показывают, что механизм действия исследуемых АО обусловлен антирадикальной активностью в отношении пероксильных радикалов RO_2^{\cdot} , ведущих процесс окисления; на одной молекуле ингибитора погибает в среднем два свободных радикала.

При анализе химического строения исследуемых АО можно видеть, что в их структуре присутствуют либо замещенные аминогруппы, либо фрагменты четвертичного аммониевого основания. Известно, что эти классы соединений способны разрушать гидропероксиды (ROOH) [7]. Кинетически возможность нерадикального разрушения ROOH может проявляться в снижении начальной ($W_{\text{O}_{2\text{нач.}}}$) и максимальной ($W_{\text{O}_{2\text{мах.}}}$) скоростей окисления субстрата. В связи с этим проанализировали закономерность изменения этих кинетических параметров для серии опытов с равными концентрациями ИХФАНов (рис. 1). Из рисунка 1 видно, что введение ИХФАНов в систему окисления приводит не только к увеличению по сравнению с контролем периодов индукции, но и к уменьшению начальной ($W_{\text{O}_{2\text{нач.}}}$) и максимальной ($W_{\text{O}_{2\text{мах.}}}$) скоростей окисления в 2-3 раза. По всей вероятности, разрушение гидропероксидов является особенностью механизма действия исследуемых АО. Для подтверждения указанной рабочей гипотезы были проведены эксперименты по прямому тестированию кинетики накопления гидропероксидов после введения ИХФАНов в частично окисленный субстрат (МО) (рис. 2). Из рисунка 2 видно, что в течение первого часа происходило значительное снижение концентрации гидропероксидов, в дальнейшем их уровень весь период наблюдения (8 часов) оставался на низком уровне, тогда как в контроле пероксиды продолжали накапливаться. Наиболее эффективными разрушителями гидропероксидов являются ИХФАН-9, ИХФАН-10 и ИХФАН-10-С-16. Результаты двух независимых методов свидетельствуют об участии АО в разрушении первичных продуктов окисления. Распад гидропероксидов сопровождается, по всей вероятности, образованием молекулярных продуктов, поскольку вторичного инициирования окисления не происходило.

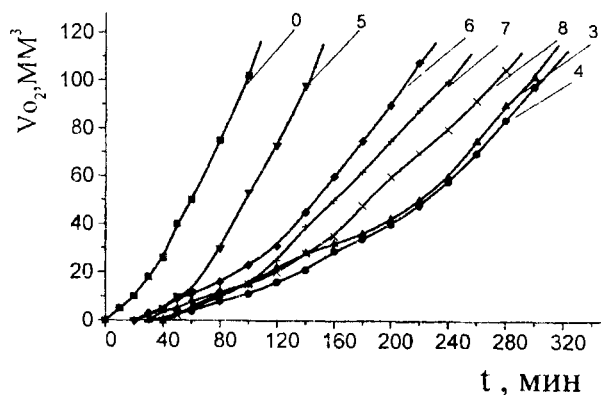


Рисунок 1.

Кинетические кривые поглощения кислорода при инициированном окислении метилолеата (МО) в присутствии равных концентраций АО: 0 - МО (контроль). Обозначение АО соответствуют табл. 1. МО : хлорбензол 1. 1. $CAO = 2 \times 10^{-4}$ M, $W_i = 4.2 \times 10^{-6}$ (M \times c) $^{-1}$.

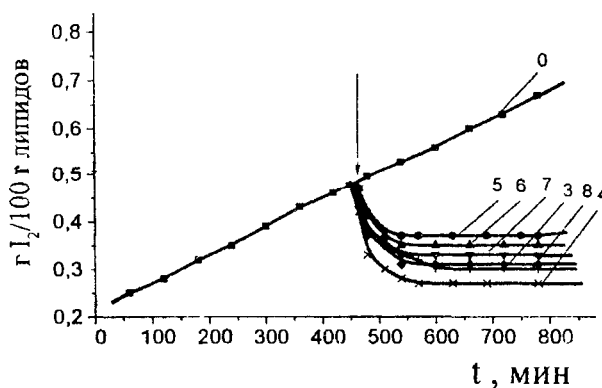


Рисунок 2.

Кинетические кривые накопления гидропероксидов при аутоокислении МО в присутствии равных концентраций АО. Стрелкой обозначен момент введения АО в реакцию смесь. 0 - МО (контроль). Обозначение АО соответствует рис. 1.

Таким образом, исследуемые АО способны эффективно обрывать цепи окисления при взаимодействии с пероксильными радикалами, а также предотвращать возможность вторичного инициирования процесса за счет разрушения гидропероксидов молекулярным путем.

Знание механизма действия веществ было необходимо для исследования закономерностей брутто-ингибирующего действия новых АО различного строения. В сравнении изучали действие ИХФАНов и известных АО - дибунола и α -ТФ. Кинетические кривые поглощения кислорода в присутствии сравнимых количеств ИХФАНов приведены на рисунке 1. Видно, что все изучаемые соединения тормозят процесс окисления МО (табл. 1). Были изучены зависимости изменения величины периодов индукции от концентрации АО в системе окисления (рис. 3 а, б). Показано, что, исходя из характера концентрационных кривых, ингибиторы можно разделить на две группы. Для фенозана К, метиловый эфир фенозана К, дибунола, ИХФАНа-9 и ИХФАНа-10 зависимость носит линейный характер (рис. 3 а). Следует отметить, что указанные ИХФАНЫ превосходят по своему ингибирующему действию α -ТФ (практически в 2 раза), дибунол, фенозан К и его метиловый эфир (на 30%) (рис. 3 а). Наибольшие периоды торможения во всем изученном диапазоне концентраций проявляются для ИХФАИа-10.

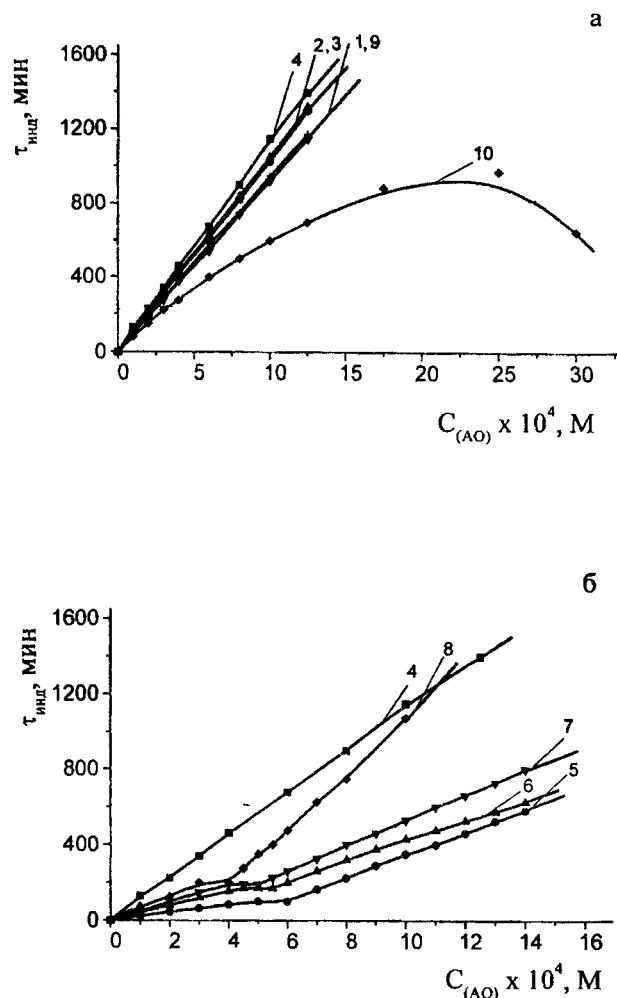


Рисунок 3.

- а) Зависимость изменения величины периодов индукции от концентрации АО. Обозначение АО соответствуют табл. 1. Условия окисления приведены на рис. 1.
- б) Зависимость изменения величины периодов индукции от концентрации АО. Обозначение АО соответствуют табл. 1. Условия окисления приведены в подписях к рис. 1.

Выделяется другая группа ингибиторов, для которых зависимость изменений величины периодов индукции от концентрации носит не линейный, а S-образный характер (рис. 3 б). К этой группе относятся АО, включающие в своей структуре остаток этаноламина, замещенного, в свою очередь N-алкильными заместителями с разным количеством углеродных атомов (см. формулы в табл. 1). Для этих АО на упомянутых однопериодных S-образных кривых выделяется 3 участка (рис. 3 б). Видно, что на 1 участке зависимость для всех АО носит линейный характер, с ростом концентрации на кривых появляется второй достаточно узкий отрезок, в пределах которого с ростом концентрации не происходит изменения величины периодов индукции. При превышении некоторой “пороговой” концентрации вновь наблюдается увеличение брутто-эффективности торможения, прямо пропорциональное концентрации АО.

Очевидно, что указанные различия в действии разных концентраций АО связаны с их строением, поэтому была проанализирована взаимосвязь между “пороговой” концентрацией АО и длиной цепи его алкильного заместителя (длиной радикала R_3). Было показано, что “пороговая” концентрация,

соответствующая “излому” концентрационных кривых, уменьшается пропорционально росту длины цепи заместителя R_3 (рис. 4 а). По-видимому, при определенных концентрациях АО возможно образование в растворах макромолекулярных структур, поскольку известно, что критическая концентрация мицеллообразования уменьшается с ростом длины углеводородного радикала полярной молекулы [8].

Наклоны концентрационных кривых на 1 и 3 участках существенно различаются между собой и связаны с длиной цепи заместителя R_3 (рис. 4 б). Наклоны кривых на участке 1 и 3 количественно оценивали значением $\Delta\tau_{\text{инд}}/\Delta[\text{InH}]$, представляющим собой отношение прироста периодов индукции к приращению концентрации АО. Видно, что существует прямая корреляционная связь между $\Delta\tau_{\text{инд}}/\Delta[\text{InH}]$ и длиной цепи радикала R_3 (рис. 4 б). Из этих данных, с учетом уравнения: $\tau_{\text{инд}} = f \times [\text{InH}] / W_i$ и экспериментально установленного методом ингибиторов значения скорости иницирования ($W_i = 4,2 \times 10^{-8} \text{ М} \times \text{с}^{-1}$), представлялось возможным при разных концентрациях АО оценить эффективное значение f , показывающее количество свободных радикалов, погибающих на одной молекуле ингибитора ($f_{\text{эфф}}$). Методом ХЛ было показано, что величина f для исследуемых АО близка или равна 2 (табл. 1).

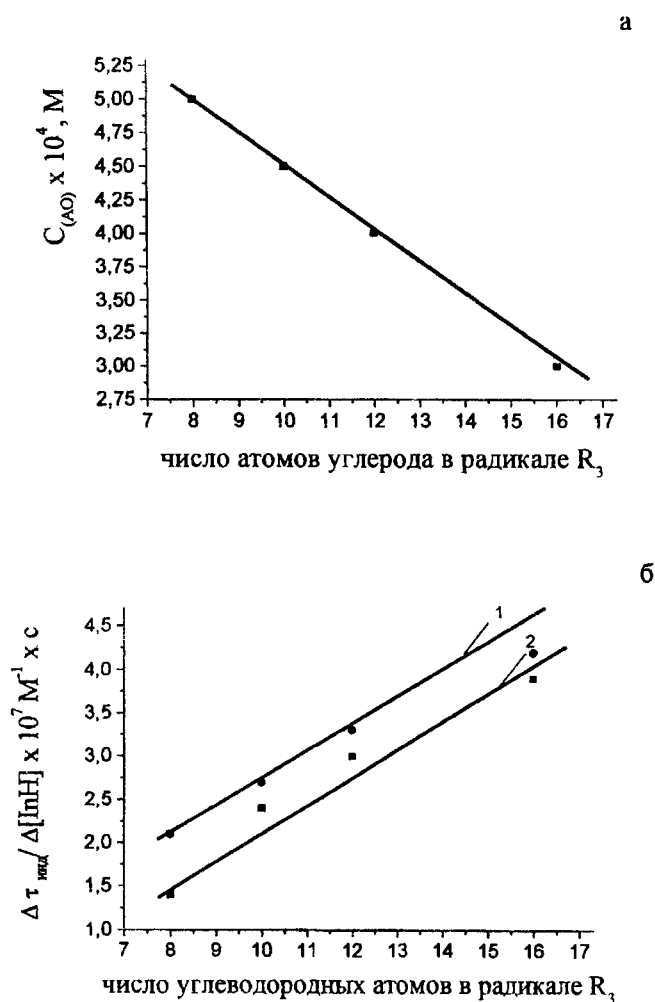


Рисунок 4.

- а) Взаимосвязь пороговой концентрации мицеллообразования и длины цепи радикала R_3 ;
 б) Взаимосвязь $\Delta\tau_{\text{инд}}/\Delta[\text{InH}]$ и длины цепи заместителя R_3 : 1 – на третьем участке концентрационной зависимости, 2 – на первом участке концентрационной зависимости.

Для первой группы АО, не имеющих излома на концентрационной кривой (рис. 2 а), эффективные значения $f_{эфф.}$ не изменялись во всем диапазоне изученных концентраций, тогда как для второй группы ИХФАНов, значения $f_{эфф.}$ на 1 и 3 участках кривых отличались между собой: на 1 участке величина $f_{эфф.}$ была меньше, чем на третьем в 1,5 раза.

Объяснение описанных выше закономерностей связано, по всей вероятности, с образованием микрогетерогенных систем. В области относительно низких концентраций АО образуются мицеллы, в которых фенольная ОН-группа “прячется” внутрь микрореактора. В этих условиях молекулы АО не могут реагировать с RO_2^{\cdot} , поэтому значение $f_{эфф.}$ на 1 участке кривых существенно меньше 2. При “пороговых” концентрациях, индивидуальных для каждого из исследуемых АО, завершается формирование монослоя. Дальнейшее увеличение количества ингибитора приводит к “самосборке” бислойных структур, в которых одна часть ОН-групп фенолов “прячется” внутрь мицеллы, а другая оказывается ориентированной к наружной поверхности микрогетерогенной системы. Очевидно, что легкость образования бислойных структур связана с длиной углеводородного радикала у кватернизированного (аммонийного) атома азота. Кинетические данные свидетельствуют об увеличении значения $f_{эфф.}$ по мере роста концентрации АО, имеющих длинноцепочечные заместители R_3 . Можно предполагать, что радиус липосомы, а, следовательно, и ее поверхность увеличиваются по мере роста длины цепи заместителя R_3 . Мицеллы захватывают все большее количество АО, длинный “хвост” которого удерживает молекулу таким образом, что ОН-группы фенола локализуются на внешней поверхности и могут беспрепятственно реагировать с пероксильными радикалами. Кинетически это выражается аномально высокими значениями $f_{эфф.}$ на третьем участке концентрационных кривых.

Для проверки гипотезы о возможности структурирования АО в системе окисления была изучена закономерность изменения показателя преломления от концентрации АО. Показано, что при “пороговых” концентрациях АО, резко меняются оптические свойства растворов, на концентрационных кривых появляется излом, обусловленный формированием мицелл. Была также оценена критическая концентрация мицеллообразования растворов методом Ребиндера [3], которая практически соответствовала “пороговым” концентрациям. Следовательно, по данным независимых методов, подтверждается предположение о формировании в растворе липидов микрогетерогенных систем. Известно, что особенности надмолекулярной структуры мицелл зависят от природы и концентрации амфипатических соединений, в структуре которых имеются неполярные и полярные фрагменты [8].

Таким образом, эффективность ингибирования липидов определяется не только антирадикальной активностью исследуемых АО (k_7), возможностью разрушения $ROOH$, но и образованием с их участием микрогетерогенных систем. В случае формирования монослойных мицелл фенольная ОН-группа АО ориентируется к ядру микрореактора и не принимает таким образом участия в реакции с пероксильными радикалами, ведущими процесс окисления. Брутто-эффективность таких АО по сравнению с незамещенными аналогами в связи с этим снижена в 2-2,5 раза. При образовании бислойных структур активные группы молекул АО, имеющих длинноцепочечные заместители (R_3 включает от 12 до 16 атомов углерода), обращаются не только внутрь, но и к поверхности липосом, что способствует увеличению их брутто-ингибирующего действия.

В связи с вышеизложенным считали необходимым изучить особенности кинетики окисления липидов в водно-эмульсионной среде в присутствии додецилсульфата и соотношении вода:масло 1:1. Результаты исследования изменений величины периодов индукции от концентрации АО в водно-эмульсионной среде приведены на рисунке 5. Можно видеть, что для всех ингибиторов, независимо от их строения указанные кривые однотипны: в

диапазоне концентраций $(2,0-4,5) \times 10^{-4}$ М зависимости выходят на плато, дальнейшее увеличение количества АО не приводит к росту $\tau_{\text{инд}}$. Максимальные значения $\tau_{\text{инд}}$ уменьшаются по мере роста числа углеродных атомов в цепи заместителя R_3 . Обращает внимание, что рисунок 5, по существу, воспроизводит 1 участок кривых рисунка 3 б. Указанное соответствие обусловлено, вероятно, образованием однопипных микрогетерогенных систем. По всей вероятности, образуются микрореакторы, ядро которых составляют активные фенольные ОН-группы, а внешнюю обкладку – ионогенные аммониевые группы, связанные с алкильным заместителем R_3 . Додецилсульфат в этих условиях обеспечивает стабилизацию (солюбилизацию) системы за счет взаимодействия гидрофобных фрагментов молекул ингибитора и ПАВ [8].

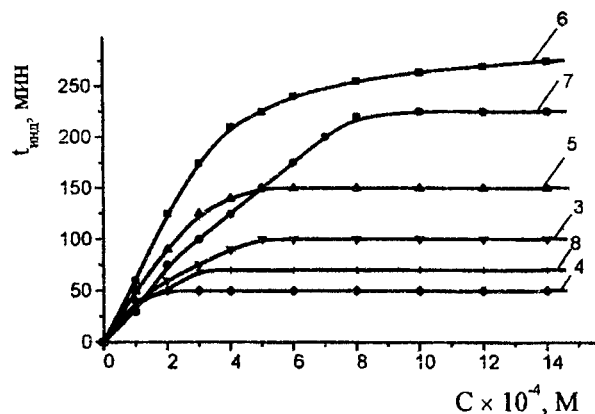


Рисунок 5.

Зависимость изменения величины периодов индукции от концентрации АО при инициированном окислении МО в водно-эмульсионной среде. Обозначения АО на рисунке соответствуют табл. 1. Условия окисления приведены в подписях к рис. 1

Таким образом, результаты настоящей работы показывают, что эффективность действия ИХФАНов как АО зависит как от их химического строения, так и условий окисления. ИХФАН-9 и ИХФАН-10 (число атомов углерода в радикале R_3 равно 0 или 1) в гомогенных и гетерогенных растворах превосходят по своей активности известные синтетические и природные ингибиторы окисления (дибунол, α -ТФ). Аналоги, имеющие длинноцепочечные заместители у кватернизированного атома азота, за счет образования микрогетерогенных систем проявляют относительно низкое брутто-ингибирующее действие, которое повышается с ростом длины заместителя R_3 .

Можно полагать, что размеры бислойных структур, образуемых ИХФАНами, имеющими R_3 , сопоставимые с длиной цепи высших жирных кислот в структуре фосфолипидов (18-22 углеродных атомов), будут соответствовать толщине биологических мембран. Это обстоятельство, обеспечит, по всей вероятности, их максимальное удерживание в мембранах и стабилизацию неферментативных процессов окисления на внутренней цитоплазматической и наружной стороне клеточных мембран.

Работа поддержана грантами РФФИ 02-04-49452 и Интеграция И 0566/1653.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шляпинтох В.Я., Карпухин О.Н., Постников Л.М. (1972) Хемилюминесцентные методы исследования медленных химических процессов. Наука, Москва.
2. Fendley J.H., Fendley E.J. (1975) Catalysis in Micellar and Macromolecular Systems. Academic Press, N.Y.
3. Дулицкая Р.Ф., Фельдман Р.И. (1978) Практикум по физической и коллоидной химии, Высшая школа, Москва.
4. Сторожок Н.М. (1996) Межмолекулярные взаимодействия компонентов природных липидов в процессе окисления. Дисс. докт. наук, Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва.
5. Зенков Н.К., Кандалицева Н.В., Ланкин В.З. (2003) Фенольные биоантиоксиданты. Изд-во СО РАМН, Новосибирск.
6. Рогинский В.А. (1988) Фенольные антиоксиданты. Наука, Москва.
7. Антоновский В.Л. (1972) Органические перекисные инициаторы. Химия, Москва.
8. Ершов Ю.А., Попков В.А., Берлянд А.С. (1993) Общая химия. Биофизическая химия. Химия биогенных элементов. Наука, Москва.

Поступила: 15. 09. 2004

THE INTERRELATION OF CHEMICAL STRUCTURE AND INHIBITING ACTION OF THE STERICLY HINDERED PHENOLS ICHFAN GROUPS

M.G. Perevozkina¹, N.M. Storozhok¹, G.A. Nikiforov²

¹Tyumen State Medical Academy, Russia; Odesskaya st., 52, Thyumen, 625023;
fax: (3452) 22-62-00, e-mail: Nadinstor@mail.ru.

²Institute of Physics, Russian Academy of Sciences, Russia; Kosygina st. 4, Moscow, 119991;
fax: (095) 137-41-01, e-mail: komissarova@polymer.chph.ras.ru

Inhibitory action of spatially hindered phenol antioxidants (AO) of ICHFAN groups, phenosan derivatives, containing ethanolamine, substituted by N- alkyl substituents R_3 containing various carbon chains (from C2 to C16) was investigated using two models, initiated oxidation of the homogenous methyl oleate (MO) solution in chlorobenzene, and a water-emulsive medium containing sodium dodecyl sulphate. ICHFANs act via two mechanisms: they react with peroxide radicals with the reaction rate constant of $k_7=(0,59-1,06)\times 10^4 (M\times c)^{-1}$ and destroy hydroperoxides with formation of molecular products. The action of ICHFANs substantially depends on their chemical structure and oxidation conditions. In the lipidic solution, the ICHFANs effectively reduce MO oxidation; in comparable concentrations they exceed the action of the α -tocopherol, dibunol, phenosan K and its ether. The most effective AO is ICHFAN-10, which has the shortest substituent R_3 (CH_3). Elongation of R_3 significantly reduced antioxidant activity. Behavior of the oxidation kinetics may be attributed to formation of micro-heterogeneous systems, with the participation of AO, in which OH phenol groups are oriented towards the nuclear of the micelle, limiting the possibility for their interaction with RO_2^{\cdot} radicals. In the ICHFAN group, with the length of the R_3 chain from C_3H_{17} to $C_{16}H_{33}$, the periods of inhibition are increased proportionally to R_3 . The is explained by the insertion of such AO in the bilayer with internal orientation within hydrophobic radicals R_3 , and exposure of phenol OH groups to the external and internal micelle surfaces allowing them to destroy effectively RO_2^{\cdot} radicals. During the oxidation in the water-emulsive medium, the inhibiting action of the corresponding ICHFAN is lower than in the homogenous solution, at that, the difference in the effectiveness of AO with different structures is reduced. This phenomenon is determined by the formation and stabilization with the presence of PAF micelles, in which the active OH-groups are located inside supramolecular structure.

Key words: antioxidant, α -tocopherol, peroxsi oxidation, antioxidation activity, antiradical activity, methyl oleate, sterically hindered phenols, ICHFAN, micelles.