

УДК 547.943.7/541.127/128.24/577.161.6

КАТАЛИТИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЭТИЛОЛЕАТА В ПРИСУТСТВИИ АДРЕНАЛИНА, МЕТИЛДОПЫ И ЛЕВОДОПЫ

Перевозкина М.Г.

ФГБОУ ВПО «Государственный аграрный университет Северного Зауралья»,
Тюмень, e-mail: mgperevozkina@mail.ru

Изучена антиоксидантная активность аминифенолов: адреналина, метилдопы и леводопы в сравнении со стандартными ингибиторами окисления: дибунолом, а-токоферолом и полупродуктом – пирокатехином в мицеллярных катализируемых субстратах. Антиоксидантные свойства адреналина, метилдопы и леводопы уступали ингибирующей активности пирокатехина. Показана возможность аминифенолов снижать максимальную скорость окисления в 4–6 раз по сравнению с контролем. Установлено, что адреналин, метилдопа и леводопа в процессе окисления липидных субстратов разрушают гидропероксиды молекулярным путем за счет аминогруппы на 50–60%. Установлено, что дибунол превосходит по своему действию природный антиоксидант а-токоферол. На основании полученных данных можно рекомендовать осуществление синтеза потенциальных антиоксидантов, у которых экранированная двумя трет-бутильными заместителями фенольная ОН-группа должна находиться в пара-положении к заместителю с аминогруппой, что снизит возможность образования хелатных комплексов с катионами металлов переменной валентности.

Ключевые слова: адреналин, метилдопа, леводопа, а-токоферол, дибунол (нонол), антиоксидантная активность, каталитическое окисление, мицеллы

CATALYTIC OXIDATION OF ETHYL OLEATE IN THE PRESENCE OF ADRENALINE, METHYLDOPA AND LEVODOPA

Perevozkina M.G.

State Agrarian University of Northern Trans-urals, Tyumen, e-mail: mgperevozkina@mail.ru

We studied the antioxidant activity of aminophenols: adrenaline, methyl dopa and levodopa compared to standard oxidation inhibitors: BHT, a-tocopherol and intermediates – pyrocatechol in micellar catalyzed substrates. The antioxidant properties of adrenaline, methyl dopa and levodopa weaker inhibitory activity of pyrocatechol. The possibility of aminophenols reduce the maximum oxidation rate of 4–6 times compared to the control. Found that adrenaline, methyl dopa and levodopa in the oxidation of lipid substrates by molecular destroy hydroperoxides by 50–60% at the amino group. It was found that BHT is superior in its effect natural antioxidant a-tocopherol. The data obtained can recommend potential implementation synthesis antioxidant which shielded two *tert*-butyl substituents phenolic OH-group must be in *para* position with a substituent amino group, which will reduce the possibility of formation of chelate complexes with cations of transition metals.

Keywords: adrenaline, methyl dopa, levodopa, a-tocopherol, dibunol (BHT), antioxidant activity, catalytic oxidation, micelles

К настоящему времени синтезировано и получило широкое применение значительное количество антиоксидантов (АО). Особые требования предъявляются к ингибиторам окисления, применяемым в медицине, фармации и пищевой промышленности. Перечень нетоксичных, официально разрешенных к использованию антиоксидантов невелик [1, 3]. Ведется поиск перспективных антиоксидантов из числа традиционных лекарственных препаратов с целью расширения спектра их фармакологического действия. В настоящей работе, являющейся продолжением ранее начатых исследований [4], приведены результаты анализа кинетики каталитического окисления субстратов в водно-липидной среде в присутствии аминифенолов в зависимости от концентрации и структуры, без учета спектра их фармакологического действия.

Цель исследования – изучение ингибирующих свойств аминифенолов: адрена-

лина, метилдопы и леводопы в сравнении с реперными антиоксидантами: дибунолом, а-токоферолом и полупродуктом – пирокатехином.

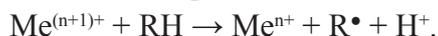
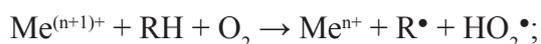
Экспериментальная часть

Антиоксидантную активность соединений (АОА) изучали волнометрическим методом поглощения кислорода в модифицированной установке типа Варбурга при окислении этилолеата (ЭО) в присутствии $1 \cdot 10^{-3}$ М цетилтриметиламмоний бромид (ЦТМАБ) в качестве поверхностно-активного вещества (ПАВ), с добавками $2 \cdot 10^{-3}$ М хлорида меди (II) в пробе при $t = (60 \pm 0,2)^\circ\text{C}$, $W_i = 6,7 \cdot 10^{-5}$ М·с⁻¹. Антиоксиданты добавляли в диапазоне концентраций ($1 \cdot 10^{-8}$ – $1 \cdot 10^{-1}$) М. Соотношение липидов и воды составляло 1:3, общий объем пробы 4 мл. Кинетическая модель тестирования антиоксидантов, подбор концентраций катализатора и ПАВ описывается в работе [5]. В качестве критериев оценки антиоксидантных свойств соединений использовали – периоды индукции (t), начальные и максимальные скорости окисления ($W_{\text{нач}}$, W_{max}). Кинетику накопления гидропероксидов изучали при аутоокислении мети-

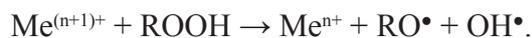
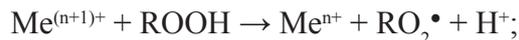
лолеата (МО) методом обратного йодометрического титрования в среде хлорбензола при $t = (60 \pm 0,2)^\circ\text{C}$. Скорость иницирования определяли уравнением $W_i = f[\text{InH}]/\tau_i$, где f – стехиометрический коэффициент ингибирования, $[\text{InH}]$ – концентрация ингибитора (дибунола), τ_i – период индукции. Комплексы пирокатехина с катионами меди идентифицировали методом УФ-спектроскопии в области 220–450 нм с использованием спектрофотометра «Specord M-40» в стандартных 1 см кварцевых кюветках.

Результаты исследования и их обсуждение

В присутствии катализатора известны следующие реакции зарождения цепей [2]:



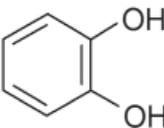
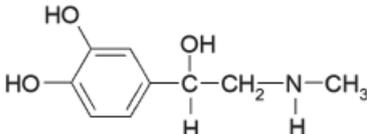
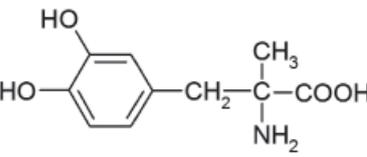
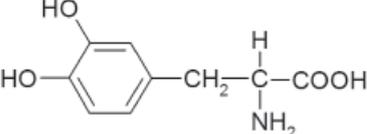
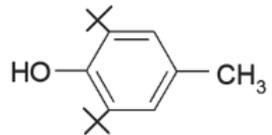
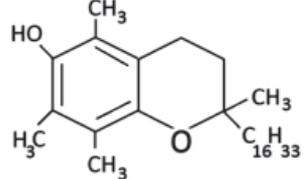
Возможно участие катализатора в продолжении цепей:



В табл. 1 представлены формулы изучаемых соединений. Адреналин известен как «гормон стресса» и используется в медицине как гипергликемическое, бронхолитическое, гипертензивное, противоаллергическое, сосудосуживающее средство. Препарат метилдопа (3-гидрокси- α -метил-L-тирозин) применяют как гипотензивное средство при разных формах гипертонической болезни. Леводопа (3-гидрокси-L-тирозин) – комбинированный противопаркинсонический препарат, содержащий предшественник дофамина и ингибитор периферической декарбоксилазы ароматических L-аминокислот. По химической структуре соединения адреналин, метилдопа и леводопа относятся к аминифенолам.

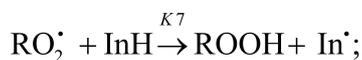
Таблица 1

Химические формулы изучаемых антиоксидантов

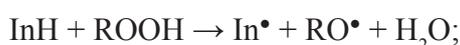
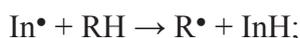
№ п/п	Название АО	Формула
I	Пирокатехин (1,2-дигидроксибензол)	
II	Адреналин (1-(3',4'-дигидроксифенил)-2-(N-метил)-аминоэтанол)	
III	Метилдопа (2-амино-2-метил-3-(3',4'-дигидрокси)-фенилпропановая кислота)	
IV	Леводопа (2-амино-3-(3',4'-дигидрокси)-фенилпропановая кислота)	
V	Дибунол (2,6-ди-трет-бутил-4-метил-фенол) (ионол)	
VI	α -Токоферол (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметил-2-фитилхроман)	

В соответствии с механизмом окисления аминифенолы могут участвовать в различных элементарных реакциях:

- реакции обрыва цепей, что должно приводить к увеличению периода индукции и уменьшению начальных скоростей процесса пропорционально концентрации:



- реакции разветвления, продолжения, инициирования цепей, что должно приводить к увеличению скорости процесса, сокращению периода индукции:



- реакции разрушения гидропероксидов по молекулярному механизму, что приведет к уменьшению скорости процесса пропорционально концентрации аминифенола:



В процессе окисления должны конкурировать различные элементарные реакции за счет фенольного гидроксила и аминогруппы, что сказывается на суммарной антиоксидантной активности соединения.

На рис. 1 приведены типичные кинетические кривые (КК) окисления этилолеата в зависимости от концентрации АО. По характеру КК можно разделить соединения

на две группы. В первую группу входят пирокатехин, дибунол и а-токоферол. Все добавки этих соединений тормозят процесс окисления: наблюдается период индукции, период аутоускорения и достижения максимальной скорости окисления. Во вторую группу входят аминифенолы: адреналин, метилдопа и леводопа. Наблюдается другой характер КК с добавками соединений: незначительные периоды индукции, снижение начальной и максимальной скоростей окисления в 4–6 раз по сравнению с контролем.

При увеличении концентрации пирокатехина повышается максимальная скорость процесса. Увеличение максимальной скорости процесса окисления (табл. 2) в присутствии пирокатехина, вероятно, связано с участием гидроксильных групп в образовании хелатов с катионами меди (II), при этом снижается их эффективность в процессе ингибирования. Пирокатехин существенно тормозит окисление этилолеата только при концентрациях $1 \cdot 10^{-2}$ М и выше, когда его соотношение с катализатором составляет 5:1. В этих условиях большая часть пирокатехина не задействована в комплексобразовании и проявляет антиоксидантную активность. Характер КК в присутствии аминифенолов предполагает подавление антиоксидантных свойств фенольного гидроксила за счет образования хелатных комплексов с катионами меди (II) и проявление ингибирующего эффекта только за счет аминогруппы.

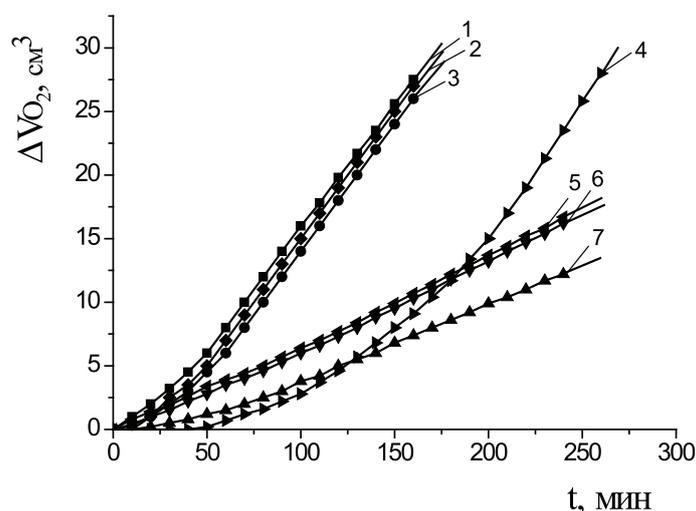


Рис. 1. Кинетика окисления этилолеата в водно-липидной среде в присутствии добавок антиоксидантов, $1 \cdot 10^{-3}$ М:
 1 – контроль; 2 – а-токоферол; 3 – пирокатехин; 4 – $1 \cdot 10^{-4}$ М дибунол;
 5 – леводопа; 6 – метилдопа; 7 – адреналин; $2 \cdot 10^{-3}$ М $CuCl_2$, $1 \cdot 10^{-3}$ М ЦТМАБ, $t = 60^\circ C$

На рис. 2 представлены спектры оптической плотности пирокатехина в присутствии хлорида меди (II) и ПАВ при длине

волны (230–340) нм. Максимум поглощения пирокатехина прослеживается при длине волны 276 нм. Область спектра 240–260 нм

характерна для образования хинонов, а полоса 290–320 нм обусловлена образованием комплексных соединений пирокатехина с катионами меди (II) [6, 7].

На рис. 3 показаны зависимости периодов индукции антиоксидантов от их концентраций: наблюдалась экстремальная

зависимость с максимумом в $5 \cdot 10^{-4}$ М для а-токоферола, для пирокатехина периоды индукции возрастали с увеличением концентрации соединения, периоды индукции адреналина, метилдопы и леводопы возрастали до $5 \cdot 10^{-4}$ М и в дальнейшем не изменялись.

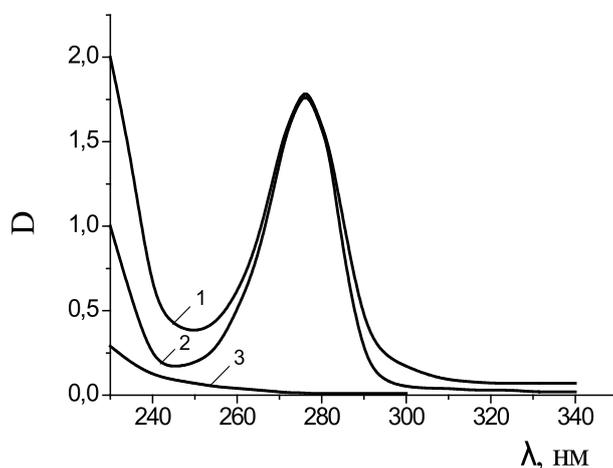


Рис. 2. Спектры оптической плотности смеси: пирокатехин ($5 \cdot 10^{-4}$ М) + ЦТМАБ ($1 \cdot 10^{-3}$ М) + CuCl_2 ($2 \cdot 10^{-3}$ М) (1); пирокатехин ($5 \cdot 10^{-4}$ М) + ЦТМАБ ($1 \cdot 10^{-3}$ М) (2); ЦТМАБ ($1 \cdot 10^{-3}$ М) + CuCl_2 ($2 \cdot 10^{-3}$ М) (3); растворитель – вода; $l = 1$ см, $t = 20^\circ\text{C}$

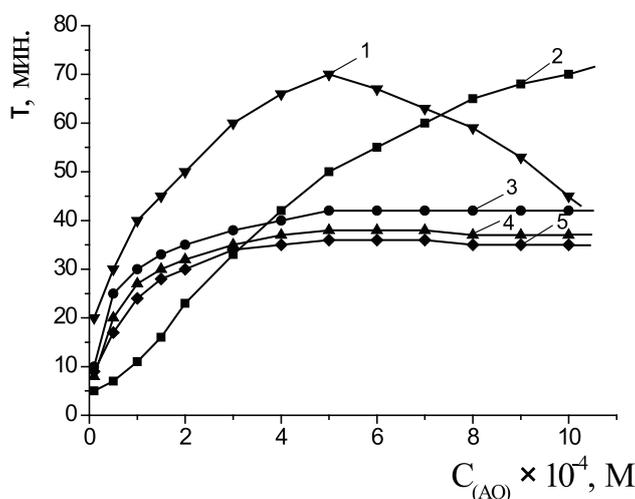


Рис. 3. Зависимости периода индукции от концентрации антиоксидантов: 1 – а-токоферол; 2 – пирокатехин; 3 – адреналин; 4 – метилдопа; 5 – леводопа; $2 \cdot 10^{-3}$ М CuCl_2 , $1 \cdot 10^{-3}$ М ЦТМАБ, $t = 60^\circ\text{C}$

В работе была проанализирована закономерность изменения максимальной скорости окисления этилолеата с добавками различных концентраций изучаемых АО. Указанные кинетические параметры практически не изменялись с ростом концентрации дибунола и пирокатехина, но существенно уменьшались при введении ингибиторов, содержащих аминокруппы.

Для а-токоферола максимальная скорость изменяется экстремально, до концентрации $5 \cdot 10^{-4}$ М снижалась, свыше $5 \cdot 10^{-4}$ М резко увеличивалась. Снижение максимальной скорости окисления у аминокатехинов (табл. 2) может свидетельствовать об участии соединений в реакциях с гидропероксидами с образованием молекулярных продуктов.

Таблица 2

Кинетические параметры окисления этилолеата в водно-липидной среде в присутствии $2 \cdot 10^{-3}$ М CuCl_2 в зависимости от концентрации АО, $W_i = 6,7 \cdot 10^{-5} \text{ М} \cdot \text{с}^{-1}$, $t = 60^\circ\text{C}$

$C_{(\text{АО})}$, М	τ_p , мин	$W_{\text{нач}} \cdot 10^{-5}$, М·с ⁻¹	$W_{\text{max}} \cdot 10^{-5}$, М·с ⁻¹	$W_{\text{max}} \text{ ЭО} / W_{\text{max}} \text{ АО}$
Контроль ЭО	15	7,5	14,0	–
Пирокатехин				
$5 \cdot 10^{-5}$	10	10,1	14,0	1,0
$1 \cdot 10^{-4}$	9	12,0	17,3	0,8
$5 \cdot 10^{-4}$	50	8,3	15,1	0,9
$1 \cdot 10^{-3}$	70	5,1	14,2	1,0
$5 \cdot 10^{-3}$	90	2,2	15,2	0,9
$1 \cdot 10^{-2}$	120	1,9	16,8	0,8
Адреналин				
$5 \cdot 10^{-5}$	25	4,5	4,9	2,9
$1 \cdot 10^{-4}$	30	3,4	4,6	3,0
$5 \cdot 10^{-4}$	35	2,8	6,1	2,3
$1 \cdot 10^{-3}$	40	2,1	4,5	3,1
$5 \cdot 10^{-3}$	45	1,6	4,0	3,5
$1 \cdot 10^{-2}$	60	0,9	3,8	3,7
Метилдопа				
$5 \cdot 10^{-5}$	20	7,1	9,4	1,5
$1 \cdot 10^{-4}$	30	6,8	8,8	1,6
$5 \cdot 10^{-4}$	35	3,6	6,6	2,1
$1 \cdot 10^{-3}$	35	3,4	5,1	2,7
$5 \cdot 10^{-3}$	45	1,8	2,9	4,8
$1 \cdot 10^{-2}$	60	0,9	2,4	5,8
Леводопа				
$5 \cdot 10^{-5}$	18	7,3	9,6	1,5
$1 \cdot 10^{-4}$	26	7,0	9,0	1,6
$5 \cdot 10^{-4}$	32	3,9	6,8	2,1
$1 \cdot 10^{-3}$	33	3,5	5,3	2,6
$5 \cdot 10^{-3}$	42	1,9	3,1	4,5
$1 \cdot 10^{-2}$	57	0,9	2,5	5,6
Дибунол				
$1 \cdot 10^{-5}$	65	7,0	12,3	1,1
$5 \cdot 10^{-5}$	110	2,6	9,3	1,5
$1 \cdot 10^{-4}$	140	2,1	8,7	1,6
$5 \cdot 10^{-4}$	360	1,3	8,4	1,7
$1 \cdot 10^{-3}$	600	1,0	8,0	1,8
α-Токоферол				
$1 \cdot 10^{-5}$	30	4,3	8,8	1,6
$5 \cdot 10^{-5}$	35	4,1	8,2	1,7
$1 \cdot 10^{-4}$	40	3,8	7,4	1,9
$5 \cdot 10^{-4}$	70	3,0	7,9	1,8
$1 \cdot 10^{-3}$	45	4,3	16,8	0,8

Для подтверждения гипотезы о возможном разрушении гидропероксидов под действием АО был проведен эксперимент по прямому тестированию кинетики накопления гидропероксидов (ROOH) после введения соединений в частично окисленный субстрат (время эксперимента 8 ча-

сов). В течение первого часа наблюдалось снижение концентрации гидропероксидов (рис. 4), в контрольном опыте ROOH продолжали накапливаться. Установлено, что все исследуемые добавки АО способствовали разрушению гидропероксидов на 50–60%.

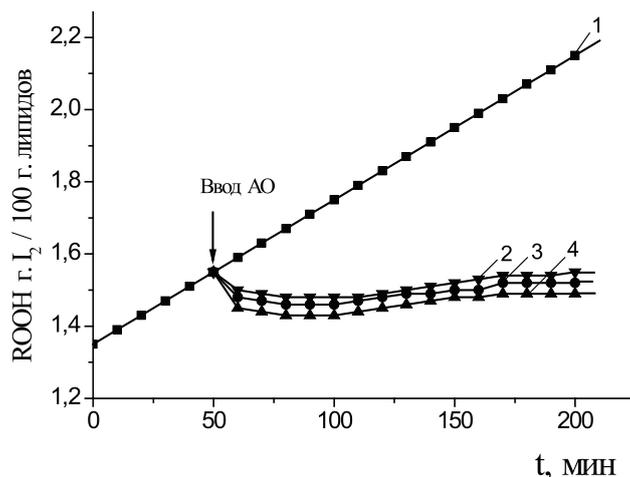


Рис. 4. Кинетика накопления гидропероксидов при аутоокислении метилолеата в присутствии равных концентраций АО:

1 – контроль; 2 – леводопа; 3 – адреналин; 4 – метилдопа.
Стрелкой показан ввод АО. $C_{(АО)} = 2 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $t = 60^\circ \text{C}$

Полученные данные могут быть методологической основой для разработки синтеза новых высокоэффективных полифункциональных соединений. Экранированная двумя трет-бутильными заместителями фенольная ОН-группа в соединениях должна находиться в пара-положении к заместителю с аминогруппой, что снизит возможность образования хелатных комплексов с катионами металлов переменной валентности, а способность аминогруппы разрушать гидропероксиды молекулярным путем приведет к увеличению периодов индукции.

Выводы

1. Установлено, что синтетический ингибитор окисления дибунол в водно-липидной среде превосходит по своему действию природный антиоксидант α -токоферол.
2. Выявлены слабые антиоксидантные свойства у адреналина, метилдопы и леводопы в водно-липидных катализируемых субстратах, уступающие пирокатаехину.
3. Показана возможность адреналина, метилдопы и леводопы снижать максимальную скорость окисления в 4–6 раз по сравнению с контролем.
4. Установлено, что адреналин, метилдопа и леводопа в процессе окисления липидных субстратов разрушают гидропероксиды молекулярным путем, вероятно, за счет аминогруппы на 50–60%.

Список литературы

1. Бурлакова Е.Б., Алесенко А.В., Молочкина А.М. и др. Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте. – М.: Наука, 1975. – 214 с.
2. Владимиров Ю.А., Сулова Т.Б., Оленев В.И. Митохондрии. Транспорт электронов и преобразование энергии. – М.: Наука, 1976. – 109 с.
3. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Коновалова Г.Г. и др. Концентрационная инверсия антиоксидантного и прооксидантного действия β -каротина в тканях *in vivo* // Бюлл. эксп. биологии и медицины. – 1999. – Т. 128. – № 9. – С. 314–316.

4. Перевозкина М.Г., Тихонова В.В., Ушкалова В.Н. Каталитическое окисление липидных субстратов в присутствии фенолов и аминов // Свободно-радикальное окисление липидов в эксперименте и клинике. – Тюмень, Из-во Тюм. ГУ, 1997. – С. 90–104.

5. Перевозкина М.Г. Тестирование антиоксидантной активности полифункциональных соединений кинетическими методами: монография. – Новосибирск: Изд. СибАК, 2014. – 240 с.

6. Перевощикова Н.Б., Суханова Е.А. Исследование комплексообразования железа (III) с некоторыми органическими красителями в водных растворах // Вестник Удмуртского университета. Физика. Химия. – 2011. – № 2. – С. 64–76.

7. Разумовский С.Д., Зайков Г.Е. Озон и его реакции с органическими соединениями (кинетика и механизм). – М.: Наука, 1974. – 322 с.

References

1. Burlakova E.B., Alesenko A.V., Molochkina A.M. i dr. Bioantioksidanty v lucheovom porazhenii i zlokachestvennom roste. Moscow: Nauka, 1975, 214 p.
2. Vladimirov Y.A., Suslova T.B., Olenev V.I. Mitochondrii. Transport jelektronov i preobrazovanie jenerгии. Moscow: Nauka, 1976, 109 p.
3. Lankin V.Z., Tihaze A.K., Konovalova G.G. i dr. Koncentracionnaja inversija antioksidantnogo i prooksidantnogo dejstvija β -karotina v tkanjah *in vivo* // Bjull. jeksp. biologii i mediciny, 1999, Vol. 128, no. 9, pp. 314–316.
4. Perevozkina M.G., Tihonova V.V., Ushkalova V.N. Kataliticheskoe okislenie lipidnyh substratov v prisutstvii fenolov i aminov // Svobodno-radikal'noe okislenie lipidov v jekspimente i klinike. Tyumen, Izdat. Tjumenskogo gos. Un-ta, 1997, pp. 90–104.
5. Perevozkina M.G. Testirovanie antioksidantnoj aktivnosti polifunkcional'nyh soedinenij kinetichesкими metodami. Monografija. Novosibirsk: Izd. SibAK, 2014, 240 p.
6. Perevoshhikova N.B., Suhanova E.A. Issledovanie komplekssoobrazovaniya zheleza (III) s nekotoryми organichesкими krasiteljami v vodnyh rastvorah // Vestnik Udmurtskogo universiteta. Fizika. Himija, 2011, no. 2, pp. 64–76.
7. Razumovskij S.D., Zajkov G.E. Ozon i ego reakcii s organichesкими soedinenijami (kinetika i mehanizm). Moscow: Nauka, 1974, 322 p.

Рецензенты:

Ерёмин Д.И., д.б.н., профессор кафедры почвоведения и агрохимии, ФГБОУ ВПО «Государственный аграрный университет Северного Зауралья», г. Тюмень;

Грехова И.В., д.б.н., профессор кафедры общей химии, ФГБОУ ВПО «Государственный аграрный университет Северного Зауралья», г. Тюмень.

Работа поступила в редакцию 28.11.2014.