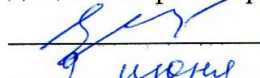


Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Южно-Уральский государственный университет»
(национальный исследовательский университет)
Факультет «Химический»
Кафедра «Экологии и природопользования»

РАБОТА ПРОВЕРЕНА

Рецензент, к.х.н.,

доцент каф. Неорг.Хим.

 Е.В. Шарлай
9 июня 2016 г.

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ

Заведующий кафедрой, д.х.н.,

профессор

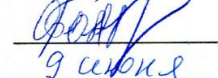
 В.В. Авдин
17 июня 2016 г.

Исследование электрохимического поведения
ряда антиоксидантов

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА
К ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ НИР
ЮУрГУ–180204.2016.662. ПЗ ВК НИР

Руководитель НИР,

к.х.н., н.с.

 О.И. Большаков
9 июня 2016 г.

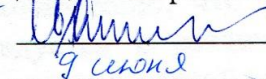
Автор НИР

студент группы ХИМ-213м

 А.С. Галушко
8 июня 2016 г.

Нормоконтролер, к.т.н.,

доцент каф. ЭкиП, с.н.с.


 В.Р. Гофман
9 июня 2016 г.

Челябинск 2016

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Южно-Уральский государственный университет»
(национальный исследовательский университет)
Факультет «Химический»
Кафедра «Экологии и природопользования»
Специальность 180204 «Энерго- и ресурсосберегающие процессы в химической
технологии, нефтехимии и биотехнологии»

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

 /Авдин В.В.

15 апреля 2016 г.

ЗАДАНИЕ

на выпускную квалификационную работу студента

Галушко Алексея Сергеевича

Группа Хим-213м

1 Тема работы

«Исследование электрохимического поведения ряда антиоксидантов» утверждена приказом по университету от 15 апреля 2016 г. № 661.

2 Срок сдачи студентом законченной работы 06 июня 2016 г.

3 Исходные данные к работе

При подготовке литературного обзора обнаружено, что электрохимическое поведение различных антиоксидантов исследуется в различных условиях, из следует проблема о сравнении между собой антиоксидантной активности веществ, полученной разными методами. В связи с этим, изучение электрохимического

поведения антиоксидантных различных классов химических соединений в одинаковых условиях представилось перспективным.

4 Перечень вопросов, подлежащих разработке:

- 1) получение и анализ циклических вольтамперограмм антиоксидантов;
- 2) получение и анализ хроноамперограмм антиоксидантов;
- 3) расчет числа электронов, участвующих в реакциях окисления и восстановления антиоксидантов;
- 4) определение лимитирующей стадии электроокисления и электровосстановления;
- 5) изучение взаимодействия антиоксидантов с активными формами кислорода;
- 6) изучение взаимодействия антиоксидантов с устойчивыми радикалами;
- 7) изучение кинетики взаимодействия антиоксидантов с радикалами;
- 8) определение констант устойчивости промежуточных соединений при реакции антиоксидантов с радикальными частицами.

5 Иллюстративный материал

Вольтамперограммы, расчетные графики, уравнения реакций.

Общее количество иллюстраций 68.

6 Дата выдачи задания 01.09.2015 г.


Руководитель _____  О.И. Большаков


Задание принял к исполнению 01.09.2015 г. _____  А.С. Галушко

КАЛЕНДАРНЫЙ ПЛАН

Наименование этапов выпускной квалификационной работы	Срок выполнения этапов работы	Отметка руководителя о выполнении
Экспериментальная часть	28.02.2016 – 30.04.2016	
Литературный обзор	01.09.2015 – 30.12.2015	
Обработка экспериментальных результатов	28.02.2016 – 30.04.2016	
Оформление Выпускной Квалификационной Работы	30.04.2016 – 06.06.2016	

Заведующий кафедрой _____  /В.В. Авдин

Руководитель работы _____  /О.И. Большаков

Студент _____  /А.С. Галушко

РЕФЕРАТ

Галушко А.С. Исследование электрохимического поведения ряда антиоксидантов – Челябинск: ЮУрГУ, ХИМ-2013м, 2016. – 65 с., 68 ил., 8 табл., библиогр. список – 55 наим.

Исследование электрохимического поведения ряда антиоксидантов.

В качестве объектов исследования выбраны вещества различных классов химических соединений для построения общей картины относительных восстановительных свойств: селексен, дигидрохверцетин, мелатонин, витамины А, Е и С, липоевая кислота.

Цель работы: изучение электрохимического поведения антиоксидантов в апротонной среде, изучение одноэлектронных реакций электроокисления и электровосстановления выбранных соединений. Оценка антиоксидантной активности электрохимическими методами, изучение взаимодействия антиоксидантов с радикалами.

Для достижения цели работы решены следующие задачи:

1. Сняты и проанализированы циклические вольтамперограммы растворов антиоксидантов в ДМФА. Определены потенциалы окисления и/или восстановления антиоксидантов. Обнаружено, что электрохимический ряд выбранных антиоксидантов в порядке увеличения восстановительной способности имеет вид: липоевая кислота, мелатонин, селексен, витамин А, дигидрохверцетин, витамин С, витамин Е.
2. Найдены значения чисел переноса электронов с субстрата (окисление) или на субстрат (восстановление) с использованием хроноамперометрии и ферроцена как стандартного вещества.
3. Определены лимитирующие процессы электрохимических реакций у каждого антиоксиданта, диффузионный – мелатонин, липоевая кислота, витамин Е и дигидрохверцетин; кинетический – аскорбиновая кислота, селексен и витамин А.
4. Изучено влияние кислорода и устойчивого радикалаДФПГ на растворы антиоксидантов.
5. Определена антиоксидантная активность с использованием кинетического и емкостного критериев. Согласно критериям, наибольшую активность при реакциях с кислородом проявляют витамин С и селексен, наименее активны с кислородом витамин А, липоевая кислота и дигидрохверцетин.

6. По смещению потенциалов окисления и/или восстановления найдены константы устойчивости комплексов, образующихся при взаимодействии антиоксиданта с кислородом и ДФПГ.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	8
1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	9
1.1 Низкомолекулярные антиоксиданты	9
1.2 Механизмы антиоксидантной активности.....	15
2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	19
2.1 Методика снятия вольтамперограмм и хроноамперограмм.....	19
2.2 Условия анализа и обработка результатов.....	19
3 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	21
3.1 Электрохимическое поведение антиоксидантов в апротонном растворителе.....	21
3.2 Определение антиоксидантной активности в реакциях с кислородом и ДФП.....	47
3.3 Определение констант устойчивости комплексов антиоксидантов с кислородом и ДФП.....	59
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	61
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК.....	62

ВВЕДЕНИЕ

В современных условиях окислительный стресс стал предметом широкого обсуждения экологов, биологов, медиков и химиков. Окислительный стресс связывается с повышенным уровнем активных форм кислорода и приводит к инициированию онкологических заболеваний. На сегодняшний день известно несколько групп антиоксидантов, способных поглощать избыточные количества активных форм кислорода, различающихся по структуре: полифенолы, флаваноиды, каротиноиды, токоферолы, пептиды и т.д. Различие их действий обусловлено природой соединений и условиями взаимодействия. Так, изучение общей антиокислительной активности (АОА) биологических объектов осложняется тем, что они состоят из множества соединений, способных вступать в реакции окисления/восстановления. Поэтому методы исследования общей АОА различаются по типу источника окисления, окисляемого соединения и способа измерения окисленного соединения. По способу регистрации их можно разделить на спектрофотометрические, волюмометрические, электрохимические и другие методы. Они дают широкий набор данных, которые должны быть интерпретированы с осторожностью.

В настоящее время все чаще исследуются относительно низкомолекулярные соединения, присутствующие в живых организмах и участвующие в метаболизме, в том числе в окислительно-восстановительных реакциях: аскорбиновая кислота, глутатион, катехин, кверцетин и дигидрокверцетин и другие. Взаимодействуя с радикальными частицами, антиоксиданты проявляет свою активность преимущественно в реакциях переноса электрона и/или протона, а подобные взаимодействия имеют электрохимическую природу. В связи с этим применение электрохимических методов исследования при изучении АОА обусловлено не только определением концентраций окисленных и восстановленных форм в растворе, но и возможностью рассматривать взаимодействия антиоксидантов на уровне исследования механизма реакций. Это позволяет не только определять активность изучаемого соединения в реакциях переноса электрона, но и различить антиоксиданты по способу воздействия на активные формы кислорода или устойчивые радикалы. Таким образом, возможно, удастся приблизиться к пониманию механизма действия антиоксидантов и предсказывать их активность на основании знаний об электрохимическом поведении соединений.

В данной работе исследовано электрохимическое поведение некоторых известных антиоксидантов с целью объяснения их взаимодействия с частицами радикальной природы.

1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Низкомолекулярные антиоксиданты

Избыточное содержание активных форм кислорода вызывает радикально-цепные процессы окисления в организме, вызывая значительные нарушения гомеостаза. Свободные радикалы и реакции с их участием сопутствуют многим патологиям человека и старению организма в целом. Техногенные загрязнители атмосферы (оксиды азота, озон и др.) являются мощными индукторами свободнорадикальных процессов в организме. Соединения свинца, кадмия, ртути инициируют перекисное окисление липидов, посредством образования активных форм кислорода или блокируют ферментную антиоксидантную защиту [1–3], что повреждает клетки живого организма и способствует развитию таких заболеваний, как атеросклероз, инфаркт миокарда, онкологические заболевания, инсульт и пр. [1, 4, 5].

Средством противостояния разрушительному действию свободных радикалов выступают антиоксиданты. Антиоксиданты находят широкое применение как вещества, предотвращающие зарождение и развитие свободнорадикальных процессов окисления [6].

Термин «антиоксидант» произошел от английского слова «antioxidant» и поначалу характеризовал вещество, которое препятствует протеканию окислительных процессов. Одним из первых широко распространенных применений антиоксидантов являлась защита полимеров от окислительной деструкции. В этом случае антиоксиданты характеризовались как ингибиторы или стабилизаторы свободно-радикальных процессов окисления.

В последнее время антиоксиданты, по большей части, используются как регуляторы окислительного метаболизма в живых организмах. Они характеризуются способностью в малых количествах различными путями нейтрализовать свободные радикалы, обрывать цепные реакции перекисного окисления липидов. В широком смысле «антиоксидант» может быть определен как вещество, которое защищает биологическую мишень от окислительного разрушения.

Различают две группы антиоксидантов: ферментные и низкомолекулярные. К первой относят ферменты антиоксидантной защиты, а также белки, способные связывать ионы, катализирующие свободнорадикальные процессы: Fe^{3+} и Cu^{1+} . Антиоксидантные ферменты (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионзависимые ферменты) обеспечивают комплексную антирадикальную защиту [7]. Многие из них весьма эффективны в ингибировании свободнорадикальных процессов, но их общий недостаток – слабая проницаемость через мембраны и тканевые барьеры.

Вторая группа – низкомолекулярные антиоксиданты: аминокислоты, мелатонин, мочевиная кислота, глутатион, аскорбиновая кислота, α -токоферол, витамины группы А, К, Р и т.д. [7], также участвуют в дезактивации цепных радикальных процессов, однако в отличие от ферментных не являются строго

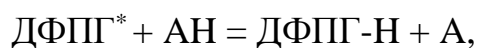
элементом антиоксидантной защиты, поскольку участвуют во всем многообразии процессов поддержания гомеостаза.

Механизм дезактивации свободнорадикальных частиц антиоксидантом заключается в передаче водорода или протона, с последующим трансфером электрона. Оценку такой способности антиоксидантов дают некоторые фотометрические или флуориметрические методы, основанные на формировании/расходе в процессе дезактивации окрашенных или флуоресцирующих маркеров [11–18]. Несмотря на широкое применение и относительную простоту их исполнения абсолютные данные измерений необходимо использовать и интерпретировать с осторожностью, так как они варьируются от лаборатории к лаборатории, поскольку каждому методу свойственен разный механизм, окислительно-восстановительные характеристики, применяемый растворитель и т.д. Однако, при иных прочих равных условиях результаты в полученные в одной лаборатории одним методом, можно использовать для сравнения. К тому же, строго рекомендуется при анализе нескольких образцов использовать как минимум два различных метода [17].

Одну из основных опасностей для живой клетки представляют активные формы кислорода – АФК. Важнейшими среди АФК считаются: O_2^- – супероксидный радикал, гидроксильный радикал $HO\cdot$, пероксидный радикал $HO_2\cdot$, синглетный кислород, перекись водорода и пероксидный ион HO_2^- . Концентрация АФК в живой клетке составляет около 10^{-8} мМ и при возникновении сбоев в организме, приводящих к увеличению концентрации АФК и/или при снижении эффективности антиоксидантных систем организма возникает повреждение клетки, что может привести к ее гибели [26]. Такие антиоксиданты, как витамины А, Е, С, каротиноиды способны неферментативно нейтрализовывать практически все виды АФК [27]. Также антиоксидантную активность проявляют препараты на основе селена, в частности селексен, который еще называют селеноксантеном. Препарат нашел применение в качестве компонента в средстве для лечения глаз [28]. Включение в комплекс лечения Селексена эффективно снижает частоту респираторных заболеваний [29], позитивно влияет на динамику иммунометаболических показателей [30]. Селексен используется в качестве средства улучшения и восстановления репродуктивной функции [31]. Широкий спектр биологического действия Селексена привел к формированию на его основе и с его использованием биологически активных [31, 32] и кормовых добавок [33, 35]. Метаболические трансформации Селексена, объясняющие многообразие спектра действия препарата, изучены группой Г.В. Галочкина [36].

Наиболее часто применяемым методом фотометрического измерения антиоксидантной активности является метод ДФПГ, основанный на реакции 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, ДФПГ) с антиоксидантом, в ходе которой идет восстановления ДФПГ с уменьшением оптической плотности раствора [19]. Делокализация неспаренного электрона обуславливает темной синий цвет ДФПГ в растворителе, с поглощением в районе 520 нм.

Смешение раствора ДФПГ с антиоксидантом приводит к восстановленной форме с потерей цвета [20]:



где ДФПГ* – 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил, АН – антиоксидант в активной форме, ДФПГ-Н – восстановленный и неокрашенный продукт реакции, А – продукт исходного антиоксиданта [21].

Это быстрый, простой и широко используемый способ для измерения способности соединений действовать как свободные поглотители радикалов или доноры водорода, а также для оценки антиоксидантной активности продуктов питания. Он также может быть использован для количественной оценки антиоксидантов в сложных биологических системах [22] с использованием различных растворителей [23]. Преимущество этого метода в том, что ДФПГ реагирует даже со слабыми антиоксидантами. Метод ДФПГ может быть использован в водном и неполярном растворителях, чтобы исследовать гидрофильные и липофильные антиоксиданты [24].

Однако, ДФПГ интересен тем, что является электрохимически активным [25], что позволяет использовать этот реагент не только в качестве анализатора антиоксидантной активности спектрофотометрическим методом, но и электрохимическим.

Электрохимические методы являются одними из перспективных и доступных методов определения антиоксидантной активности. Они позволяют анализировать восстановительную способность как в водной, так и в неводной (протонной и апротонной) средах, имеют высокую чувствительность, низкую себестоимость. Достаточно удобным для определения антиоксидантной активности является вольтамперометрический метод, поскольку он весьма чувствителен к наличию в среде кислорода и его активных радикалов.

Принцип циклической вольтамперометрии состоит в наложении потенциала на рабочий электрод по линейному закону:

$$E = E^0 + v \cdot t,$$

где E^0 – начальный потенциал, v – скорость наложения потенциала, t – время.

Схематичное представление линейной развертки потенциала показано на рисунке 1.1.

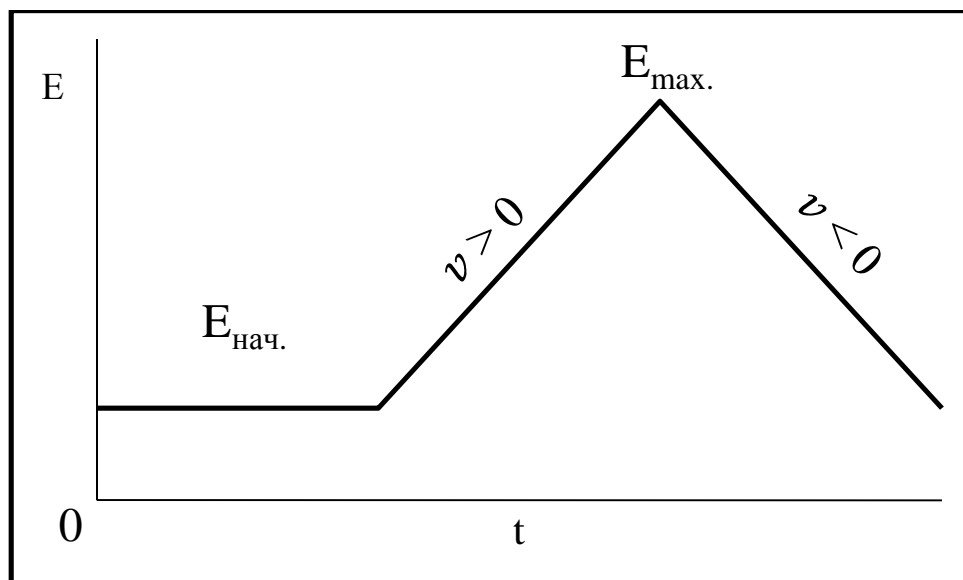


Рисунок 1.1 – Схематичное представление линейной развертки потенциала

Начальный потенциал выбирается таким, чтобы не происходило окисления или восстановления присутствующих веществ в системе. Ток, протекающий на рабочем электроде при потенциале в момент времени t , регистрируется на приборе – потенциостате.

Наиболее общая экспериментальная установка для регистрации циклических вольтамперограмм состоит из электрохимической ячейки с тремя электродами – противозлектрода (вспомогательного электрода, ВЭ), электрода сравнения (ЭС) и рабочего электрода (РЭ), погруженных в раствор и связанных с потенциостатом. Потенциостат позволяет контролировать разность потенциалов между электродом сравнения и рабочим электродом с минимальным влиянием омического падения напряжения iR в растворе. Ток, текущий через электрод сравнения, так же является минимальным; электрод сравнения практически не поляризуется, и, следовательно, разность потенциалов между рабочим электродом и электродом сравнения всегда постоянна [8].

Расположение электрода сравнения вблизи рабочего электрода помогает минимизировать омическое падение напряжения между электродом сравнения и рабочим электродом, обусловленное сопротивлением раствора [9].

Электроды, обычно используемые в циклической вольтамперометрии.

1. Электрод сравнения: чаще всего используется водный хлоридсеребряный электрод $Ag/AgCl$ или каломельный электрод. Иногда используются псевдоэлектроды сравнения типа серебряной или платиновой проволоки, погруженного в раствор вещества, имеющего внутренний потенциал, например, ферроцена.

2. Вспомогательный электрод: инертный электрод с большой поверхностью, обычно платиновая сетка, титановая проволока или графитовый электрод.

3. Рабочий электрод: наиболее часто используются – дисковые электроды из платины, золота, графита. Могут использоваться конструкции с соответствующей модификацией для целей анализа [8].

Наряду с циклической вольтамперометрией распространен такой метод электрохимического анализа, как хроноамперометрия. Фиксируется значение потенциала на рабочем электроде и строится зависимость сила тока от времени выдерживания электрода при постоянном потенциале. Величина тока в хроноамперометрии определяется, главным образом, скоростью диффузионного переноса веществ, участвующих в электродном процессе, и /или кинетикой электрохимической реакции. Если электрохимическая реакция

протекает настолько быстро, что на электродах достигается электрохимическое равновесие, то процессы обратимы и лимитирующей стадией является диффузия. Тогда для вычисления электродного потенциала применимо уравнение Нернста. Зависимость плотности предельного тока от объемной концентрации электроактивного вещества описывается уравнением Коттрелла:

$$i = nFSC \sqrt{\frac{D}{\pi t}},$$

где n – число электронов, участвующих в электрохимической реакции, F – постоянная Фарадея, S – площадь рабочей поверхности, D – коэффициент диффузии, C – концентрация, π – математическая константа, t – время экспозиции электрода при постоянном потенциале.

Типичная жидкая фаза в электрохимическом эксперименте состоит из растворителя, содержащее растворенное вещество, которое нужно изучить, и соли индифферентного электролита, обеспечивающего требуемую электропроводность и, следовательно, минимизирующего омическое падение потенциала. При достаточной концентрации индифферентного электролита внешняя граница двойного электрического слоя на рабочем электроде находится на расстоянии приблизительно 1 нм от поверхности электрода. Расстояние, на которое простирается диффузионный слой в фазе раствора, зависит от концентрации электролита.

Не все антиоксиданты растворимы в воде, поэтому необходимо подобрать растворитель, в котором можно анализировать антиоксиданты различных классов. Такому критерию соответствует N,N -диметилформамид (ДМФА). Его диэлектрическая проницаемость равна 36,7 [10], хорошо растворяет как полярные, так и неполярные соединения, также в ДМФА довольно устойчивы анион-радикалы, благодаря чему их можно зафиксировать на циклической вольтамперограмме, также ДМФА электрохимически устойчив в большом диапазоне потенциалов (от $-2,3$ В до $+1,6$ В, относительно НКЭ), что позволяет отследить окислительно-восстановительные процессы в широком интервале потенциалов.

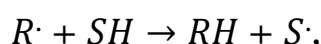
Большой вклад в электрохимическое изучение антиоксидантной активности внесли работы Коротковой [36, 37, 39]. Ею предложены способы оценки общей антиоксидантной активности по нейтрализации АФК, влияние поверхностно активных веществ, рН на антиоксидантную активность, однако оценка

восстановительной способности веществ по использованию такого модельного соединения, какДФПГ ею произведена не была.

Во многих случаях ключевой стадией механизма действия биологически активных соединений является образование анион-радикалов [40, 41]. Показано [40], что при катализе ферментами антроциклины восстанавливаются до соответствующих семихиноновых анион-радикалов. Такие анион-радикалы способны порождать гидроксильные радикалы, что влечет за собой повреждение молекул ДНК, либо же способны переносить электрон на молекулу кислорода.

Интенсивные исследования процессов с участием анион-радикалов ведутся также в рамках работ по созданию искусственных ферментов [42] и новых полидентатных лигандов. Один из используемых подходов для решения этой задачи предполагает моделирование процессов ферментативного катализа с помощью непрямого электровосстановления. Анион-радикалы играют важную роль как в биологических, так и в электрохимических процессах, а результаты исследований в обеих этих областях представляют интерес как для биохимиков, так и для электрохимиков.

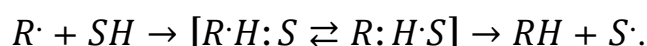
Обычно реакция отрыва водорода является процессом, при котором радикалы не претерпевают изменений. В общем виде это можно записать как:



где SH – донор водорода.

Перенос водорода наблюдается либо как основная реакция, либо как побочная реакция почти в каждой радикальной системе.

Как правило, энергия, требующаяся для разрыва связи С-Н настолько велика, что реакция не может происходить без дополнительной затраты энергии и такое ослабление связи достигается в переходном состоянии:

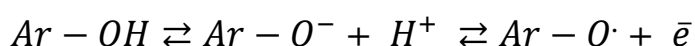


В этом бимолекулярном процессе радикал отрывает атом водорода от другой молекулы, и энергия, требующаяся для разрыва связи, частично поступает за счет образования новой связи. Однако, известны некоторые реакции, при которых происходит отщепление атомов водорода, например, пиролиз или фотолиз этилена, инициированный облучением ртутной лампой. В последнем случае происходит главным образом отщепление молекул водорода.

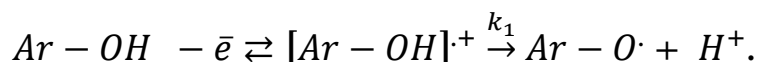
Одним из факторов, влияющих на скорости реакций отрыва водорода, является термодинамическая прочность вновь образующихся и разрывающихся связей. Прочность связей R-H и S-H оказывает влияние на прочность частично образующихся и разрывающихся связей в переходном состоянии. Так как образование связи R-H обеспечивает энергией разрыв связи S-H, радикалы R•, которые образуют прочную связь и соединяются в переходном состоянии со слабой связью S-H, должны особенно легко осуществлять реакции переноса водорода.

1.2 Механизмы антиоксидантной активности

Описано [46] обратимое окисление простых феноксильных радикалов до соответствующих феноксониевых ионов. В отличие от двухэлектронного окисления фенолов в апротонной или почти апротонной среде, в том случае, когда фенол находится в виде феноксид-иона, процесс протекает с затратой электричества 1 F/моль. pK_a простых фенолов в воде равно 9-11 и в этих условиях потенциал, при котором идет перенос первого электрона, зависит от протондонорной активности среды. Если в системе присутствует значительное количество феноксид-иона, то электродный процесс может протекать по уравнению:



В апротонной среде по уравнению:



В настоящее время принято считать, что первая стадия анодного окисления фенолов протекает согласно рисунку 1.2:

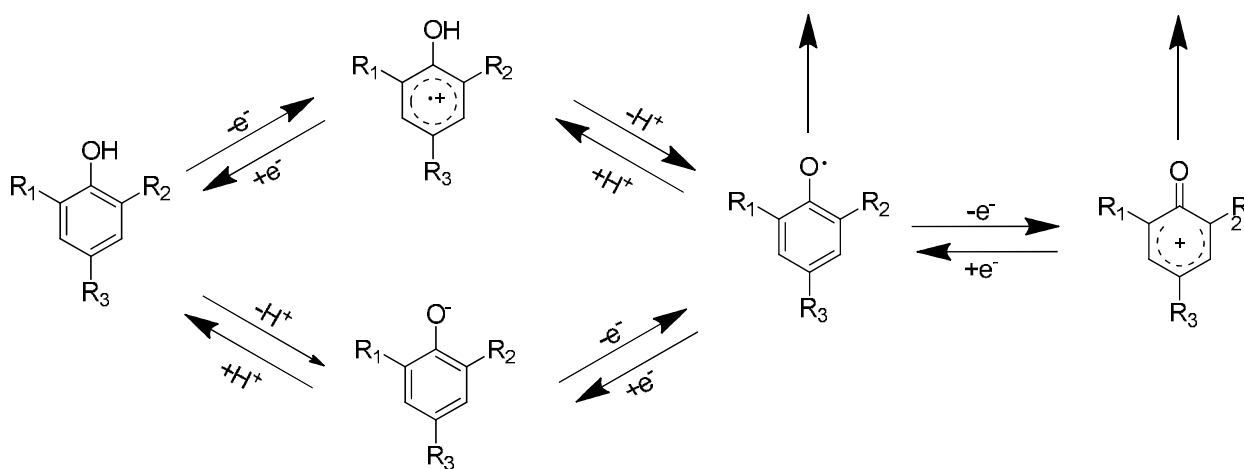


Рисунок 1.2 – Окисление фенолов

Состав образующихся продуктов во многом зависит от условий эксперимента и степени замещенности фенола. Активными органическими восстановителями также являются флавоноиды – полифенольные соединения.

Витамины группы Р обладают высокой антиоксидантной активностью [51], к которым относятся флавоноиды – класс растительных полифенолов, имеющих общую структуру, называемую флавоном, показанную на рисунке 1.3.

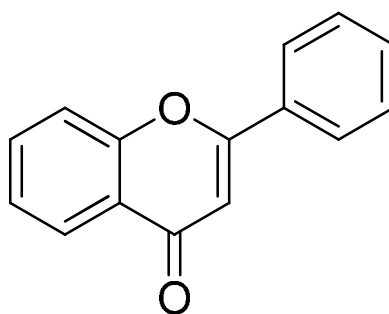


Рисунок 1.3 – Флавор

В работе [51] проводили электроаналитическое определение антиоксидантной активности дигидрокверцетина в фосфатном буфере (0,025 М, рН 6,86) и предложили механизм окисления этого антиоксиданта в протонном растворителе (рисунок 1.4).

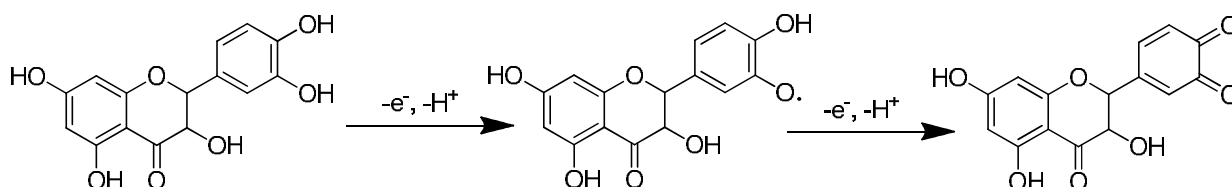


Рисунок 1.4 – Электроокисление дигидрокверцетина

В случае α -токоферола авторы [49] на модельных соединениях в смеси дихлорметан/трифторуксусная кислота (3:1) определили, что механизм окисления α -токоферола имеет следующий вид (рисунок 1.5):

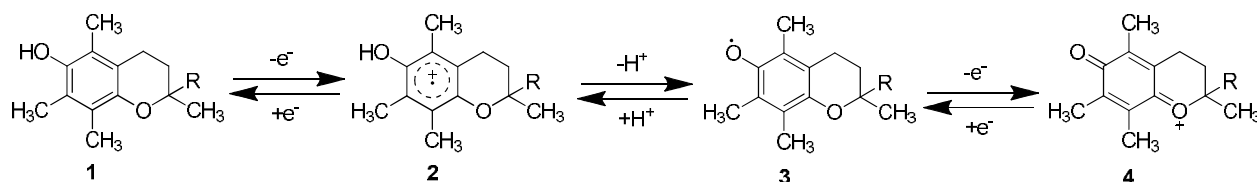


Рисунок 1.5 – Механизм электроокисления α -токоферола в смеси дихлорметан/трифторуксусная кислота (3:1)

При этом указывается, что обратимость реакции, а также продукты окисления зависят от кислотности среды: чем выше кислотность, которая создается добавлением трифторуксусной кислоты, тем выше устойчивость катион-радикала. Отмечается аномально низкая кислотность катион-радикала.

Но в щелочной среде радикальная частица **2** способна димеризоваться в структуру, показанную на рисунке 1.6.

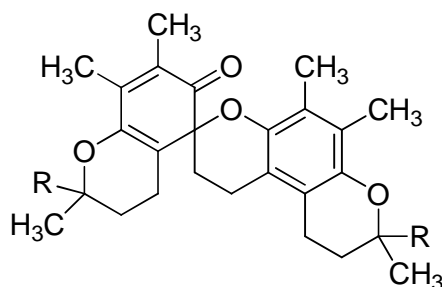


Рисунок 1.6 – Продукт димеризации феноксидного радикала

Некоторое увеличение тока пика относительно одноэлектронного уровня, может быть связано с конкурирующей реакцией отщепления протона от катион-радикала и окисление образующегося радикала.

Аскорбиновая кислота окисляется с переносом 2-х электронов в среде протонного растворителя [47] с образованием дегидроаскорбиновой кислоты (рисунок 1.7)

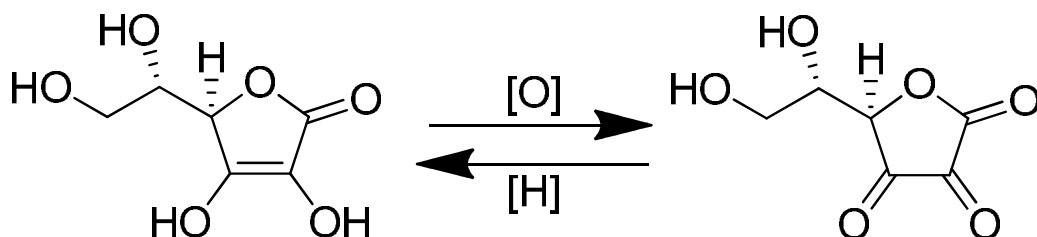


Рисунок 1.7 – Окисление аскорбиновой кислоты в протонном растворителе

В апротонных условиях на примере ДМСО в работе [44] показано, что окисление аскорбиновой кислоты сопровождается переносом одного электрона и описывается уравнением на рисунке 1.8:

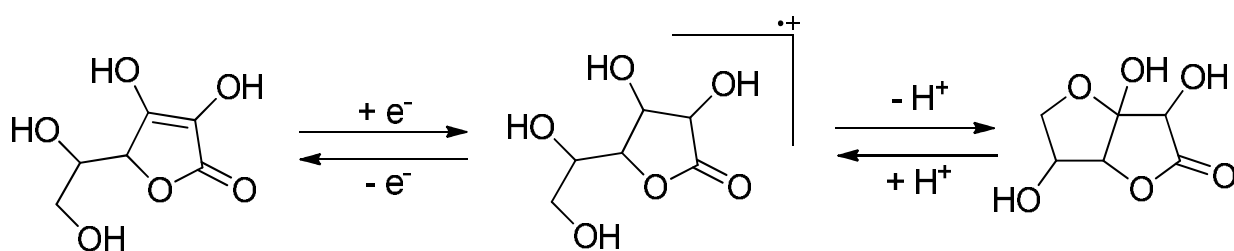


Рисунок 1.8 – Окисление аскорбиновой кислоты в апротонном растворителе

Мелатонин является эндогенным гормоном, вырабатываемым в мозге шишковидной железой из N-ацетил-серотонина. Основной функцией мелатонина в организме считается регулирование ритмов день/ночь. В последние годы было установлено, что мелатонин способен оказывать выраженное протекторное действие против развития окислительного стресса центральной нервной системы, вызванного различными факторами. Химическая структура мелатонина позволяет ему взаимодействовать с кислородным и с гидроксильным радикалами, давая в

итоге нетоксичное, метаболизируемое в организме соединение – N1-ацетил-N5-формил-5-метоксикинурамин, сопровождающееся раскрытием пиррольного кольца и переносом двух электронов [45], что показано на рисунке 1.9.

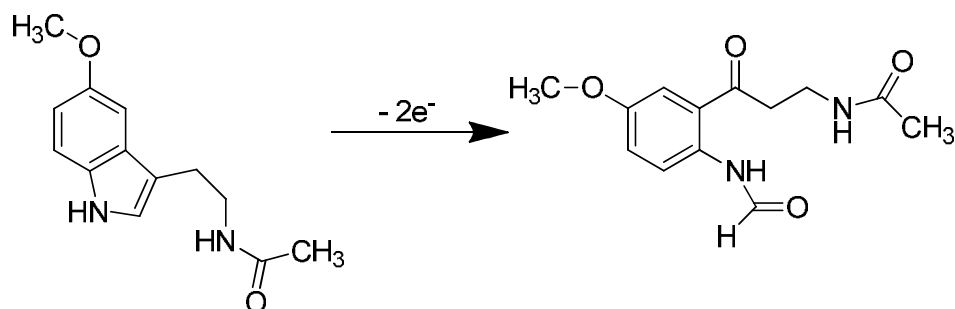


Рисунок 1.9 Окисление мелатонина

Липоевая кислота в апротонных растворителях способна одноэлектронно окисляться по схеме на рисунке 1.10:

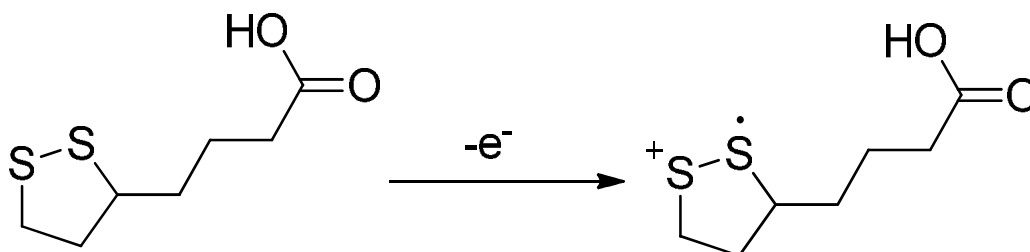


Рисунок 1.10 – Окисление липоевой кислоты

Образующийся при окислении в апротонном растворителе катион радикал является сильным окислителем [54] с потенциалом окисления в растворе ДМСО равным +1,13 В (относительно НКЭ).

2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1 Методика снятия вольтамперограмм и хроноамперограмм

Хроноамперограммы (ХА) и циклические вольтамперограммы (ЦВА) снимали на потенциостате IPC-Pro фирмы «Эконикс», управляемым с компьютера. Потенциостат позволяет использовать скорости наложения потенциала до 95 В/с при погрешности скорости развертки 1,0 % и погрешности задатчика потенциала 0,25 мВ. Для управления потенциостатом с помощью компьютера использовали программное обеспечение, входящее в комплект прибора.

Исследования проводили в 5-горлой стеклянной конической электрохимической ячейке со шлифованными горлами. Объем ячейки 10 мл, имеется водяная рубашка для термостатирования. Поляризационные кривые регистрировали с использованием трехэлектродной схемы. Рабочим электродом служил стеклоуглеродный электрод с площадью рабочей поверхности 7,5 мм². Вспомогательным электродом служила платиновая проволока. В качестве электрода сравнения использовали насыщенный каломельный электрод (НКЭ), который соединялся с анализируемым раствором через мостик с керамической диафрагмой, заполненный фоновым электролитом (0,1 М раствор Bu_4NClO_4 в ДМФА).

2.2 Условия анализа и обработка результатов

При анализе ХА- и ЦВА-кривых в ячейке проводили коррекцию величин токов в присутствии субстрата на ток фонового электролита при данном потенциале.

Нескомпенсированное сопротивление в ячейке определяли по ЦВА-кривым электроокисления ферроцена в том же фоновом электролите, варьируя его концентрацию и скорость наложения потенциала. Как известно, электроокисление ферроцена протекает полностью обратимо, благодаря чему он может быть использован в качестве стандарта в такого рода измерениях [43]. С ростом токов пиков при увеличении концентрации и скорости наложения потенциала происходит смещение анодных пиков в область положительных потенциалов, а катодных – в область отрицательных. Это смещение имеет линейный характер, по наклону линейной зависимости определяется нескомпенсированное сопротивление в растворе. При использовании стеклоуглеродного рабочего электрода такое нескомпенсированное сопротивление составляет 417 Ом.

Температура исследуемых растворов во всех случаях поддерживалась на уровне $24 \pm 0,1$ °С. Термостатирование ячейки осуществлялось водой, подаваемой в рубашку ячейки ультратермостатом. Деаэрацию растворов проводили, пропуская через него аргон. Для того, чтобы исключить возможность контакта поверхности исследуемых растворов с атмосферой во время эксперимента в свободное пространство ячейки над поверхностью раствора постоянно подавали аргон. В

типовом эксперименте использовалось 5 мл раствора. В каждом случае раствор готовился отдельно, ХА- и ЦВА-кривые воспроизводились несколько раз.

Число электронов рассчитывали, основываясь на работах [52], показывающих, что ток окисления 5 мМ ферроцена в ДМФА при скорости развертки потенциала 100 мВ/с составляет 30 мкА, что показано на рисунке 2.1.

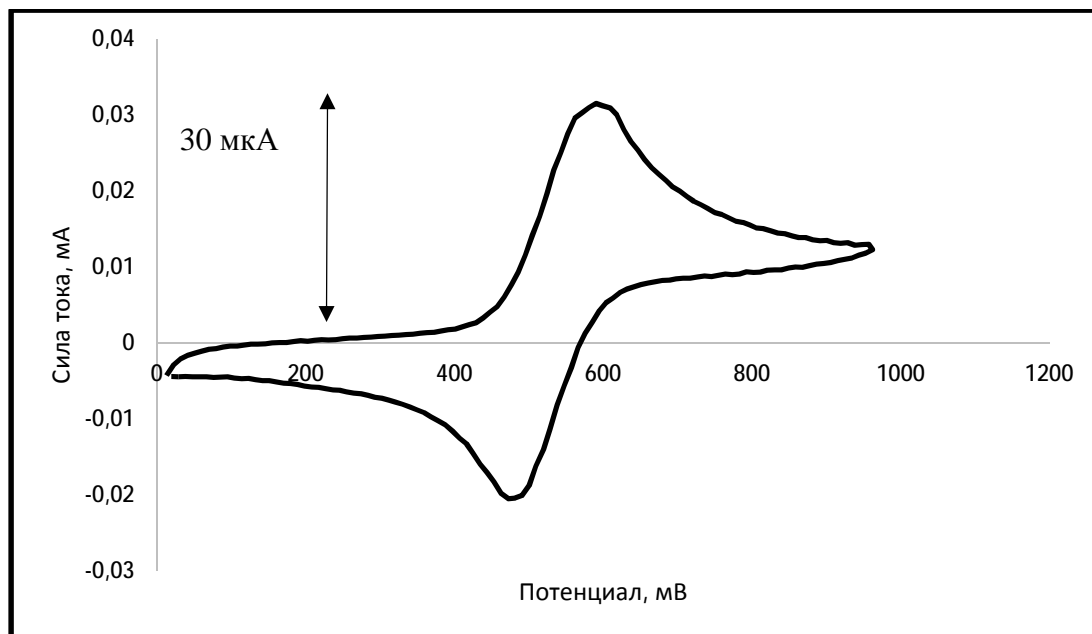


Рисунок 2.1 – Циклическая вольтамперограмма 5 мМ ферроцена в ДМФА с концентрацией фоновой соли (Bu_4ClO_4) 0,1 М при скорости развертки потенциала 100 мВ/с

Определение констант устойчивости проводили по смещению стандартного потенциала окисления антиоксиданта или восстановления кислорода, используя уравнение связи:

$$K = \exp\left(\frac{E' \cdot nF}{RT}\right),$$

где K – константа устойчивости комплекса, E' – смещение потенциала.

Для изучения кинетики взаимодействия антиоксиданта с кислородом и DPPH готовили растворы антиоксиданта с концентрацией 0,05 М и раствор DPPH концентрацией $1,25 \cdot 10^{-3}$ М, концентрацию кислорода в насыщенном растворе ДМФА принимали 2,2 мМ [53].

3 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

3.1 Электрохимическое поведение антиоксидантов в апротонном растворителе

В качестве антиоксидантов выбраны вещества различных классов химических соединений для построения общей картины относительных восстановительных свойств: селексен, дигидрокверцетин, мелатонин, витамины А, Е и С, липоевая кислота (рисунок 3.1).

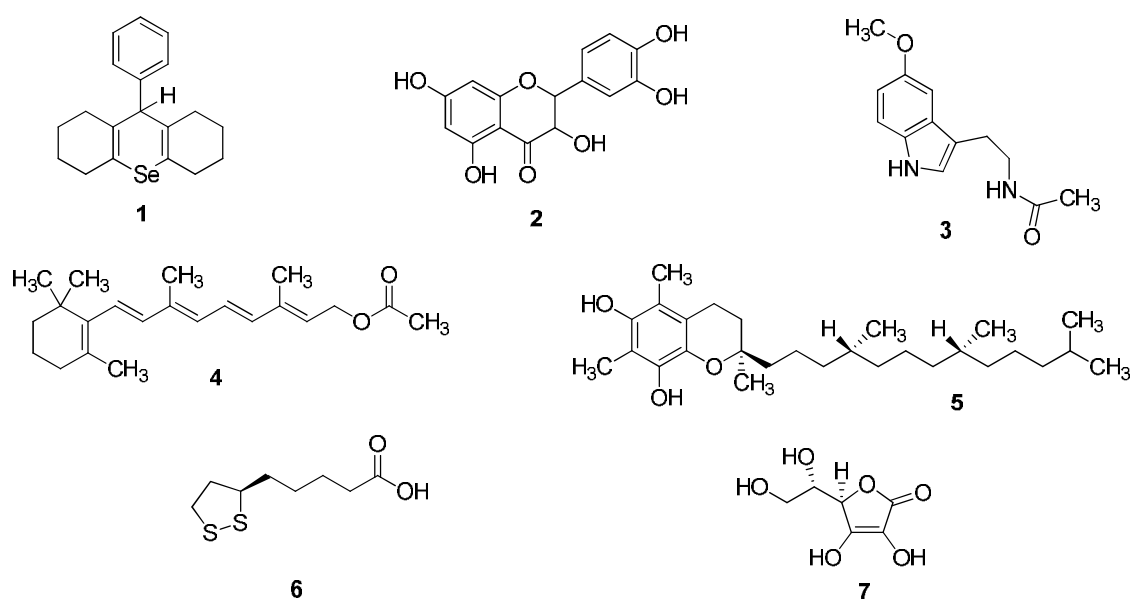


Рисунок 3.1 – Структурные формулы антиоксидантов: 1 – селексен, 2 – дигидрокверцетин, 3 – мелатонин, 4 – витамин А (ретинола ацетат), 5 – витамин Е (токоферол), 6 – липоевая кислота, 7 – витамин С (аскорбиновая кислота)

Насколько выраженным восстановителем является то или иное соединение можно судить по значению потенциала пика на циклической вольтамперограмме электроокисления, на рисунке 3.2 показана циклическая вольтамперограмма электроокисления аскорбиновой кислоты (витамин С). Аскорбиновая кислота окисляется при потенциале +0,89 В (относительно НКЭ).

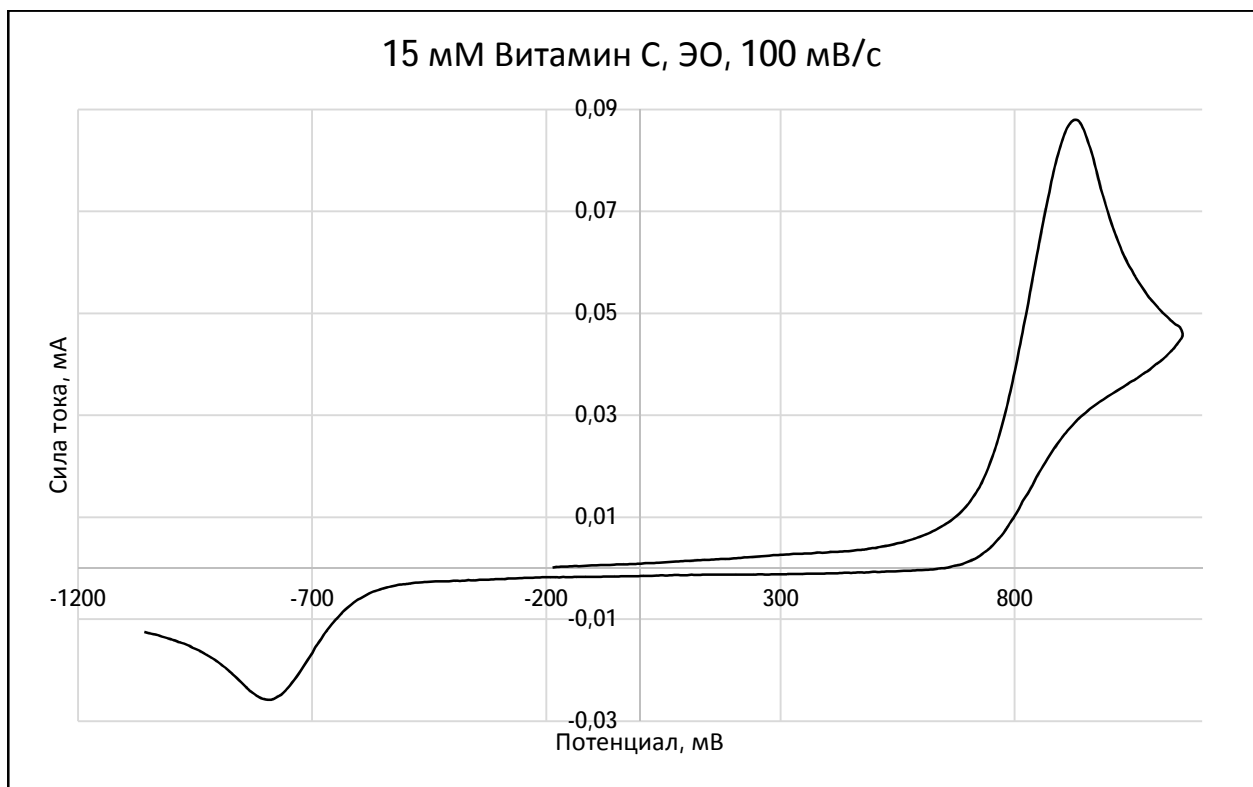


Рисунок 3.2 – Вольтамперограмма электроокисления 15 мМ раствора аскорбиновой кислоты в ДМФА с 0,1 М тетрабутиламмонием перхлоратом, скорость развертки потенциала 100 мВ/с

Аскорбиновая кислота окисляется при потенциале +0,89 В (относительно НКЭ). Окисление протекает необратимо, ток пика i_p^a имеет значение немного большее, чем ток одноэлектронного переноса электрона. При изменении направления развертки ($E^{\max} = +1,2$ В) на катодной части кривой появляется пик при потенциале -0,75 В отвечающий восстановлению продукта химической реакции первично образующихся продуктов окисления аскорбиновой кислоты.

В апротонных условиях на примере ДМСО в работе [44] показано, что окисление аскорбиновой кислоты сопровождается переносом одного электрона и описывается схемой 3.3:

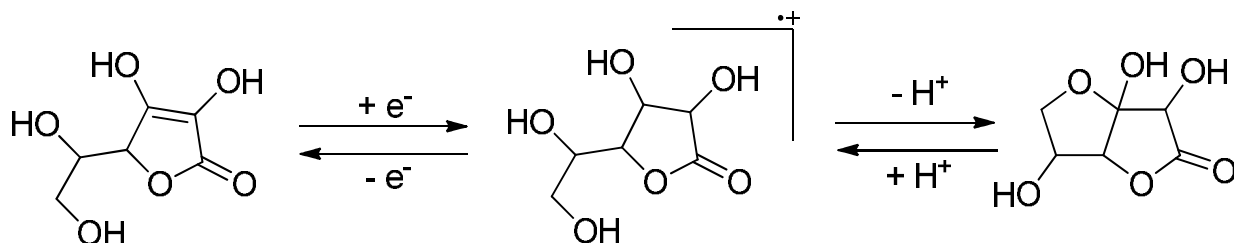


Схема 3.3 – Окисление аскорбиновой кислоты в апротонном растворителе

Для выяснения природы лимитирующей стадии процесса окисления аскорбиновой кислоты были сняты вольтамперограммы с различной скоростью развертки потенциала, тогда, согласно уравнению Рендлса-Шевчика:

$$i_p = -0.446 \cdot nFS[C]_{\text{в объеме}} \sqrt{\frac{nFvD}{RT}},$$

где n – число электронов, участвующих в элементарном акте электрохимической реакции, S – площадь рабочей поверхности, D – коэффициент диффузии, v – скорость развертки потенциала, C – концентрация.

В случае диффузионного контроля лимитирующей стадии процесса переноса электрона, в координатах максимального значения силы тока от корня скорости развертки потенциала получаем прямую, что и наблюдается для аскорбиновой кислоты (рисунок 3.4). Прямая не проходит через начало координат, следовательно, лимитирующая стадия является кинетическим процессом.

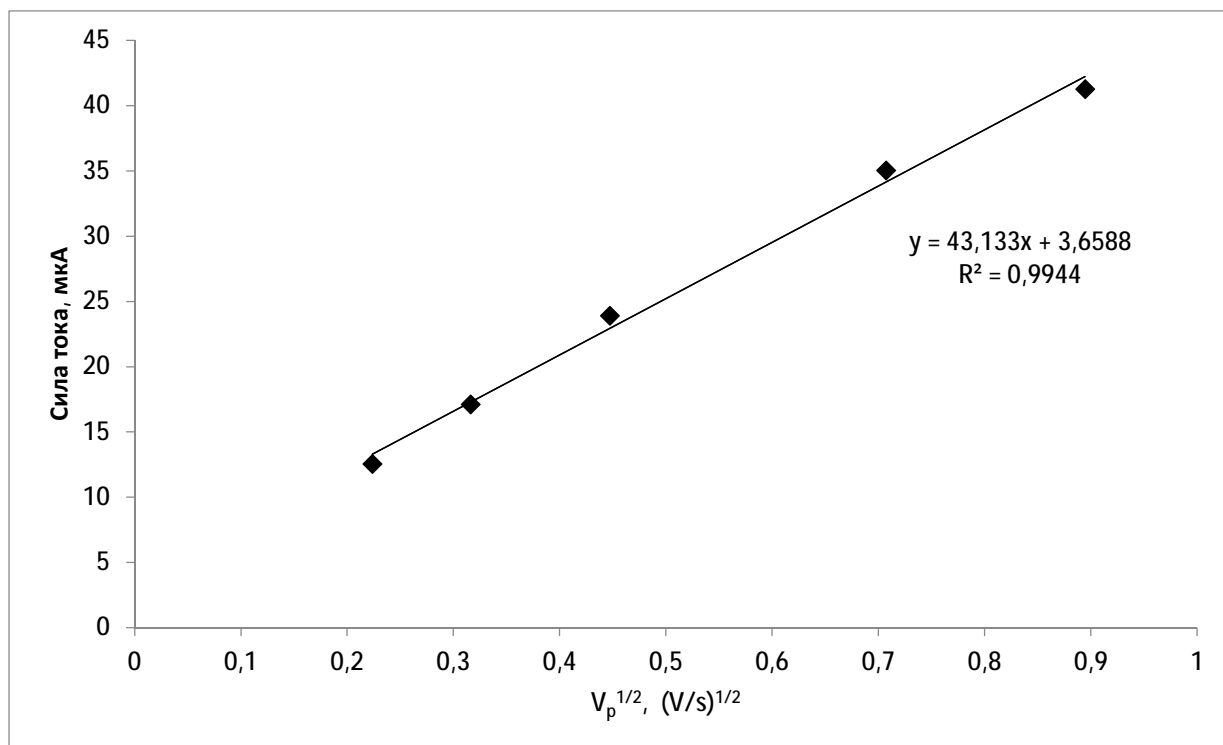


Рисунок 3.4 – Зависимость i_p^a (с вычетом фона) на кривых ЦВА аскорбиновой кислоты (3 мМ) от $v^{1/2}$. Пунктирной линией обозначен уровень одноэлектронного тока окисления

Прямая на рисунке 4 не проходит через начало координат, при высоких скоростях наложения потенциала наблюдается относительное снижение тока, что свидетельствует о сравнительно медленном протекании реакции (2) и, следовательно, общий процессом окисления контролируется кинетикой

лимитирующей стадии (2). Зависимость тока пика окисления i_p^a от концентрации аскорбиновой кислоты линейна и показана на рисунке 3.5.

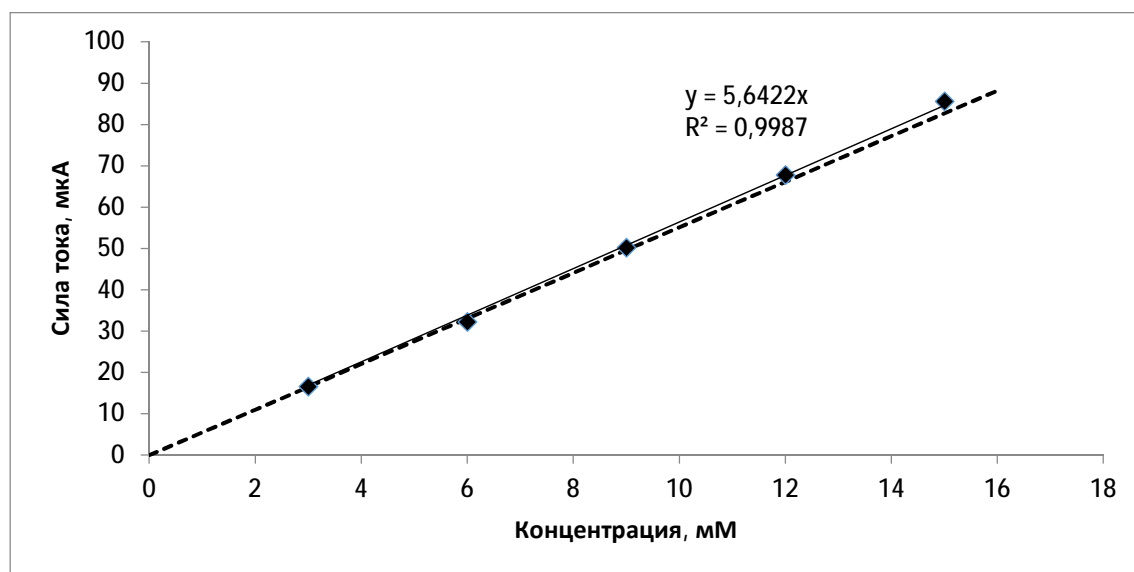


Рисунок 3.5 – Концентрационная зависимость i_p^a аскорбиновой кислоты, скорость развертки потенциала 100 мВ/с. Пунктирной линией показана зависимость i_p^a от концентрации ферроцена

Для получения данных об окислении аскорбиновой кислоты в стационарных условиях исследовали эту реакцию методом хроноамперометрии. В потенциостатическом режиме сняты хроноамперограммы с шагом 100 мВ, от в интервале потенциалов от 0 до 1,2 В. Мгновенную полярограмму получаем построением диаграммы зависимости силы тока от потенциала при выбранном времени $t = 1$ с. Полученная мгновенная полярограмма окисления аскорбиновой кислоты представлена на рисунке 3.6.

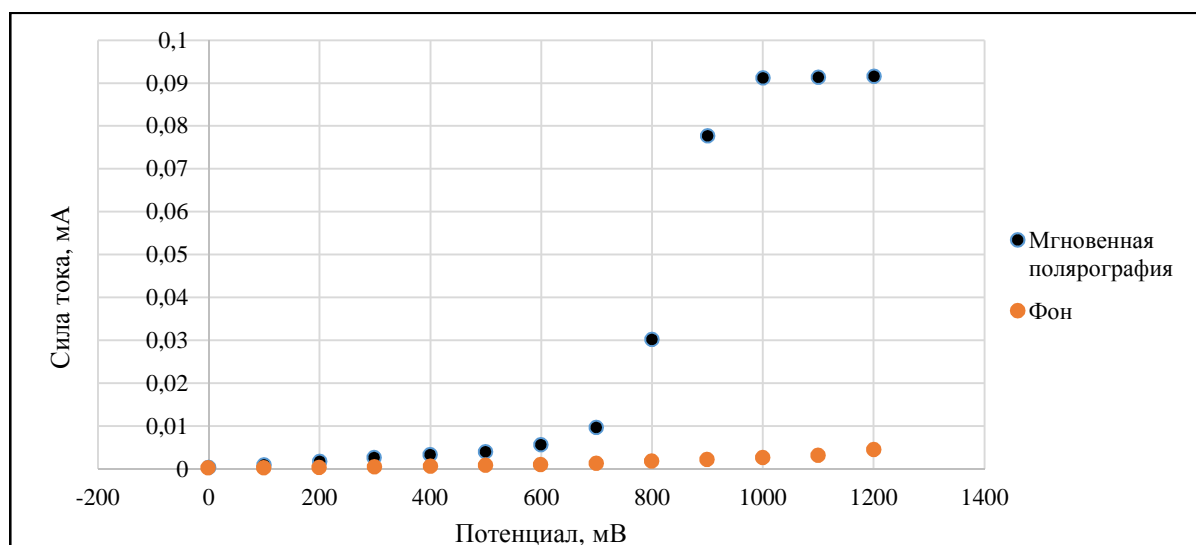


Рисунок 3.6 – Мгновенная полярограмма окисления аскорбиновой кислоты ($C = 15$ мМ), построенная по данным хроноамперометрии при $t = 1$ с. Также показана мгновенная полярография фонового электролита в этих же условиях

Наблюдаемое число электронов, рассчитанное по предельному току окисления, составляет значение $n = 1,2$ в данных (апротонных) условиях.

Диффузионный контроль лимитирующей стадии переноса электрона можно подтвердить также по уравнения Коттрелла:

$$i = nFSC \sqrt{\frac{D}{\pi t}},$$

где n – число электронов, участвующих в электрохимической реакции, F – постоянная Фарадея, S – площадь рабочей поверхности, D – коэффициент диффузии, C – концентрация, π – математическая константа, t – время экспозиции электрода при постоянном потенциале.

Согласно уравнению Коттрелла в случае диффузионного контроля лимитирующей стадии значения логарифма силы тока $\ln(i)$ от логарифма времени $\ln(t)$, при потенциале предельного тока, ложится на прямую с коэффициентом наклона $-0,5$. Как видно из рисунка 3.7, наклон графика $\ln(i)$ - $\ln(t)$, $(-0,56)$ при окислении аскорбиновой кислоты несколько выше теоретического для электроокисления, контролируемого диффузией.

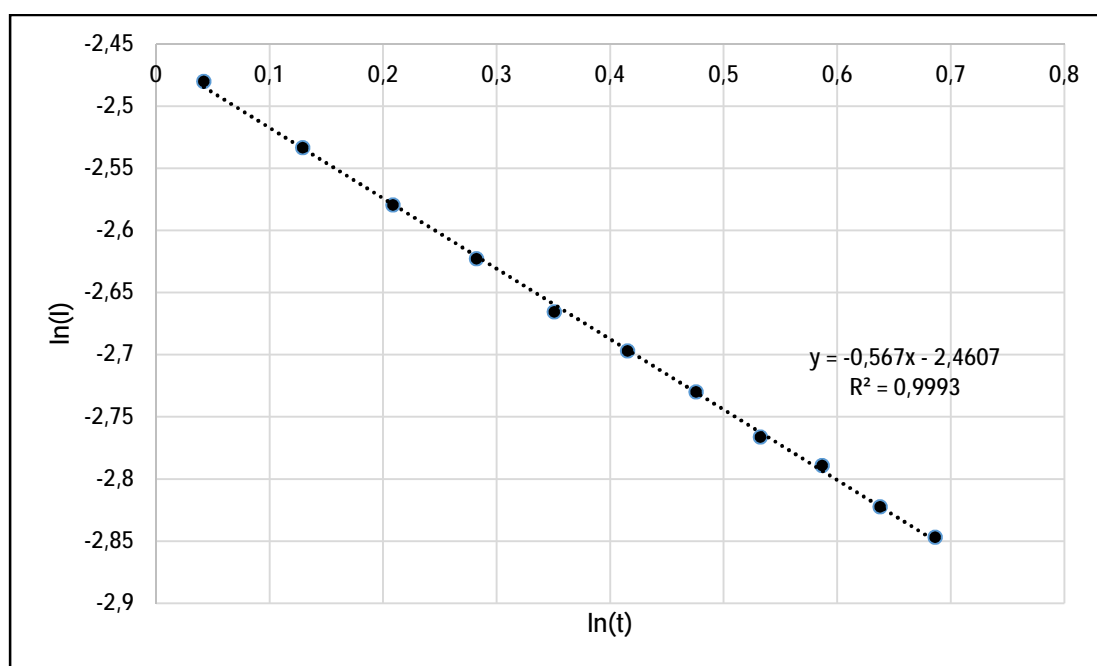


Рисунок 3.7 – Проверка выполнения закона Коттрелла в случае окисления аскорбиновой кислоты

Полученные результаты позволяют считать, что необратимое электроокисление аскорбиновой кислоты протекает с переносом одного электрона и контролируется кинетикой последующей реакции.

Мелатонин окисляется несколько труднее, $E_p = +1,06$ В (относительно НКЭ), чем аскорбиновая кислота, что позволяет считать его более слабым

восстановителем. Циклическая вольтамперограмма окисления мелатонина представлена на рисунке 3.8.

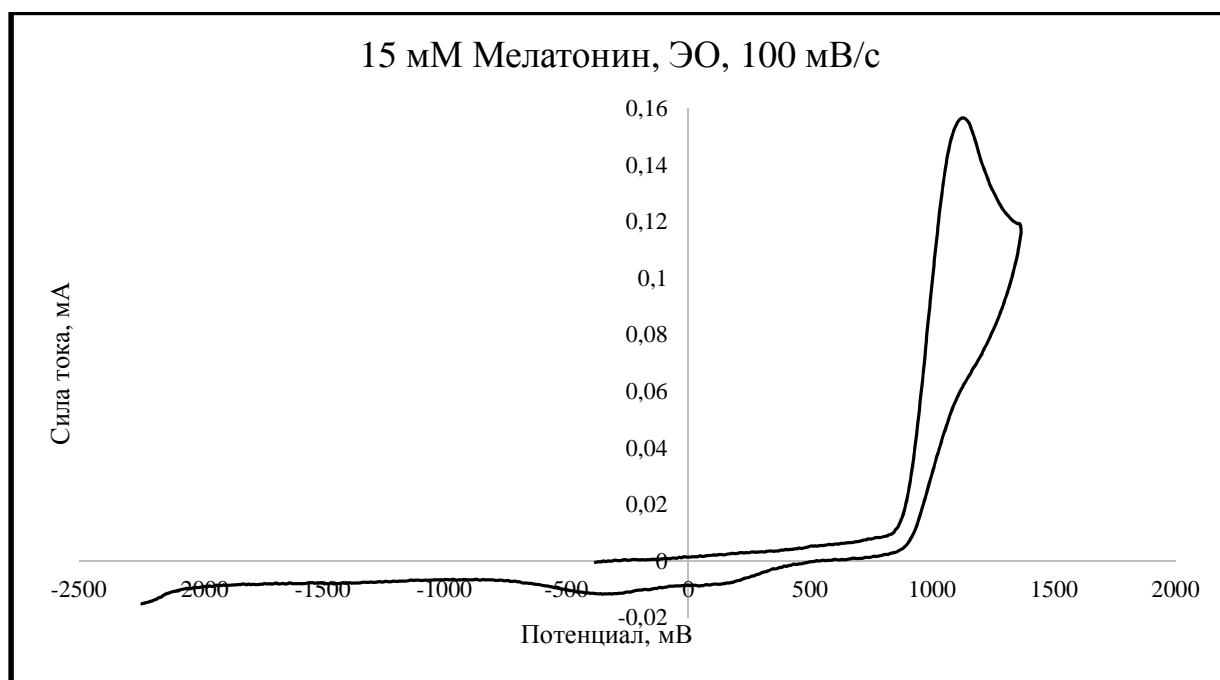


Рисунок 3.8 – ЦВА электроокисления 15 мМ раствора мелатонина в DMF с 0,1 М тетрабутиламмонием перхлоратом, скорость развертки потенциала 100 мВ/с

Процесс окисления мелатонина двухэлектронный, о чем говорит величина силы тока окисления – 66,5 мкА, одноэлектронный процесс же имеет ток 30 мкА (ток окисления ферроцена). Можно предполагать, что схема реакции электроокисления (рисунок 3.9) следующая [48]:

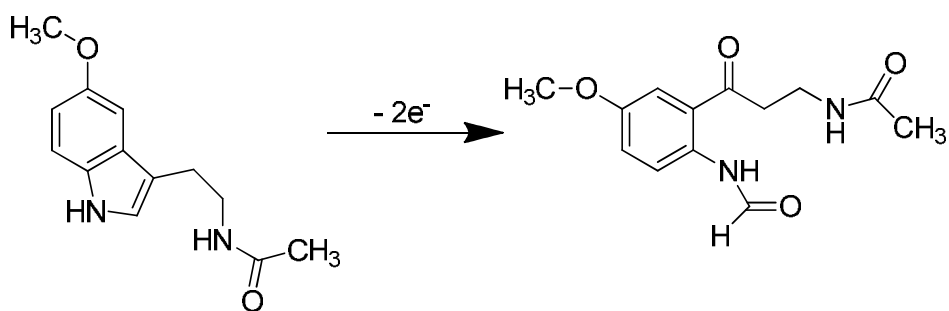


Рисунок 3.9 – Электроокисление мелатонина

Величина тока окисления мелатонина линейно зависит от его концентрации по данным ЦВА (рисунок 3.10). График этой зависимости проходит через начало координат.

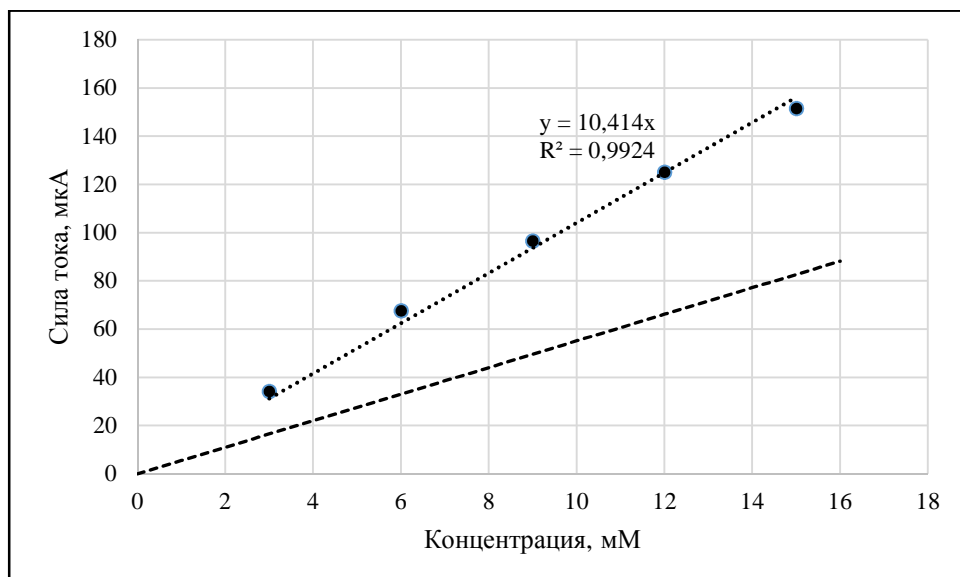


Рисунок 3.10 – Зависимость i_p^a окисления мелатонина от его концентрации, скорость развертки потенциала 100 мВ/с. Пунктирной линией показана зависимость i_p^a от концентрации ферроцена

Влияние скорости развертки потенциала на величину пика окисления мелатонина представлено на рисунке 3.11.

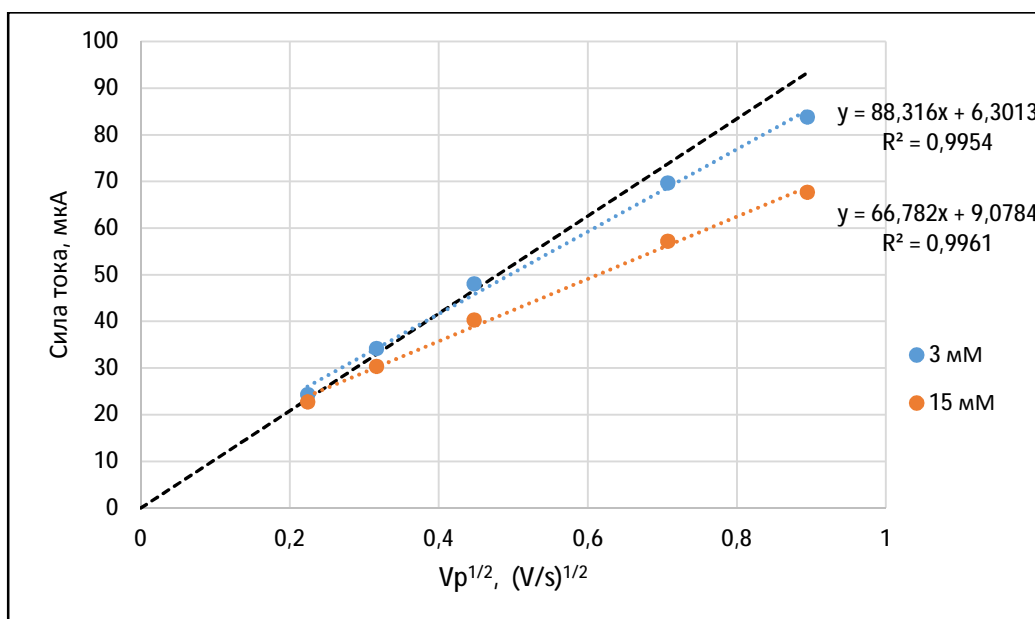


Рисунок 3.11 – Зависимость i_p^a (с вычетом тока фона) мелатонина, $C=3\text{мМ}$ (1) и приведенное к 3 мМ зависимость при $C=15\text{мМ}$ (2) от $v^{-1/2}$. Пунктирной линией обозначен уровень двухэлектронного тока окисления

Значение углового коэффициента в уравнения Коттрелла (рисунок 3.12) соответствует теоретическому для электрохимических реакций, контролируемых диффузией.

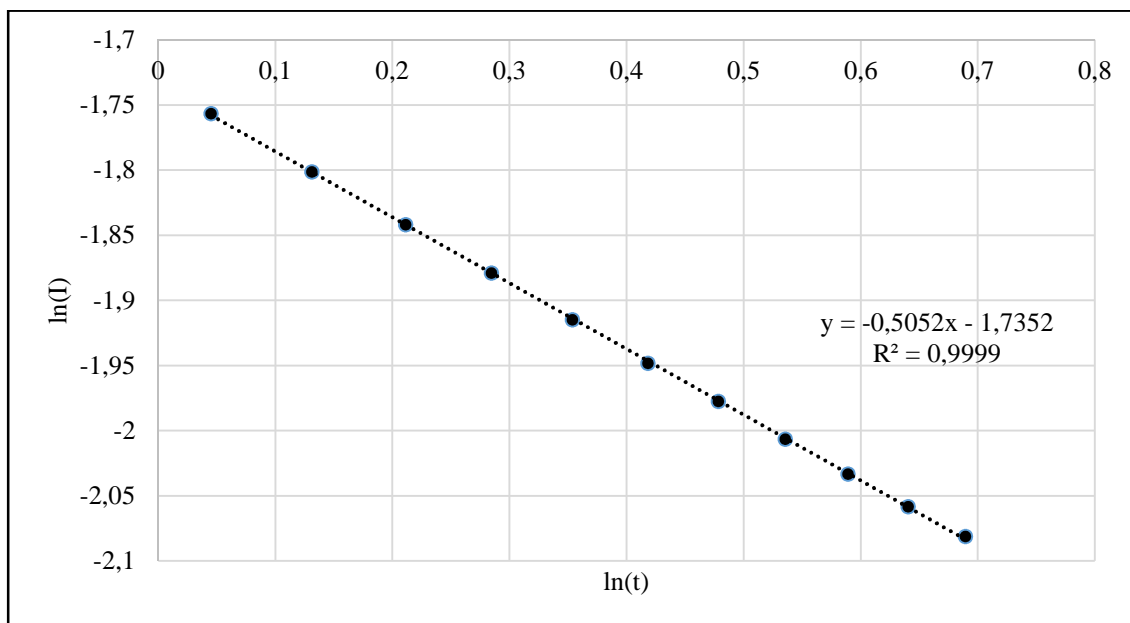


Рисунок 3.12 – Проверка на выполнение закона Коттрелла в случае окисления 15 мМ мелатонина

На основании полученных данных об электрохимическом окислении мелатонина можно сделать вывод, что окисление протекает с числом переноса электронов $n = 2,2$ (по данным хроноамперометрии) с молекулы субстрата и лимитирующей стадией этого процесса является диффузия.

Селексен, как и мелатонин, окисляется при более высоком потенциале, чем аскорбиновая кислота, потенциал его окисления ($E_p = +1,03$ В относительно НКЭ) близок к потенциалу окисления мелатонина. На рисунке 3.13 представлена циклическая кривая селексена.

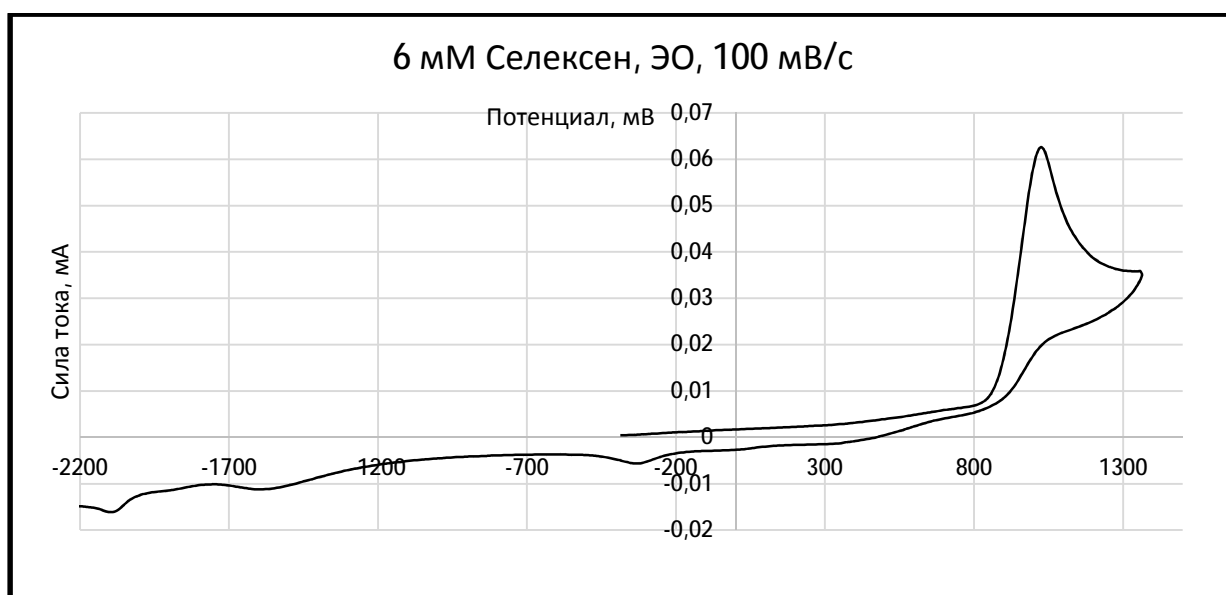


Рисунок 3.13 – Вольтамперограмма электроокисления 6 мМ раствора селексена в ДМФА с 0,1 М тетрабутиламмонием перхлоратом, скорость развертки потенциала 100 мВ/с

Окисление идет с числом переноса электронов $n = 1,9$ с молекулы антиоксиданта. Зависимость i_p^a окисления селексена от его концентрации линейна, имеет высокий коэффициент корреляции, однако не проходит через точку начала координат (рисунок 3.14).

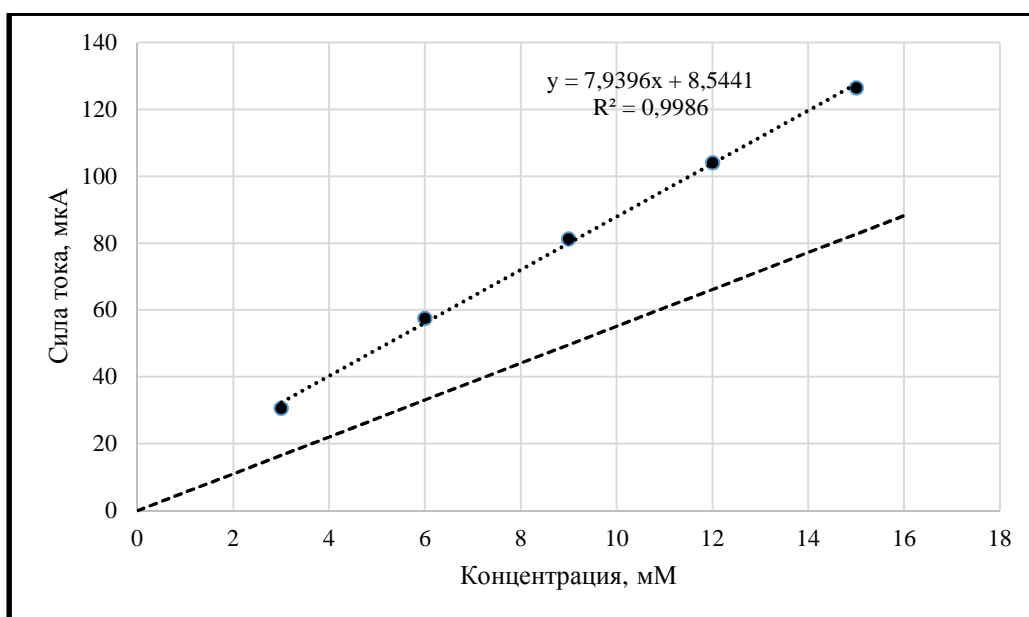


Рисунок 3.14 – Зависимость i_p^a окисления селексена от его концентрации, скорость развертки потенциала 100 мВ/с. Пунктирной линией показана зависимость i_p^a от концентрации ферроцена

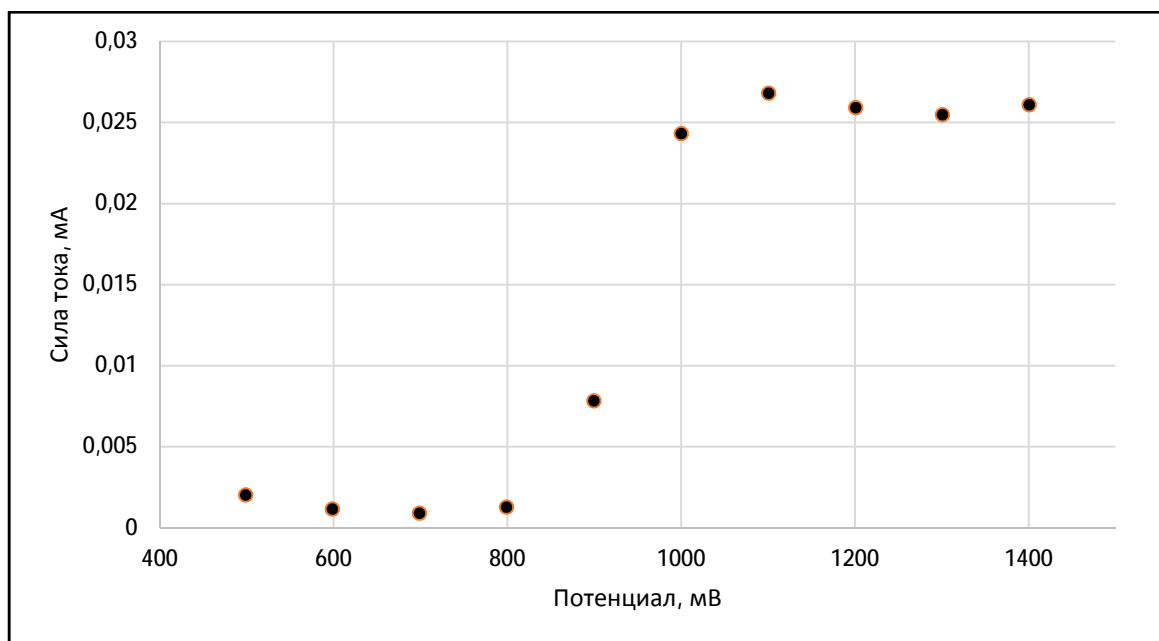


Рисунок 3.15 – Мгновенная полярограмма 3 мМ раствора селексена

Но лимитирующий процесс окисления уже не носит строго диффузионную природу, а осложнен кинетикой медленной химической реакции, о чем свидетельствует коэффициент наклона прямой в логарифмических координатах

$\ln(i)-\ln(t)$, равный $-0,37$, а не $-0,5$ как в случае диффузионного контроля, что показано на рисунке 3.16.

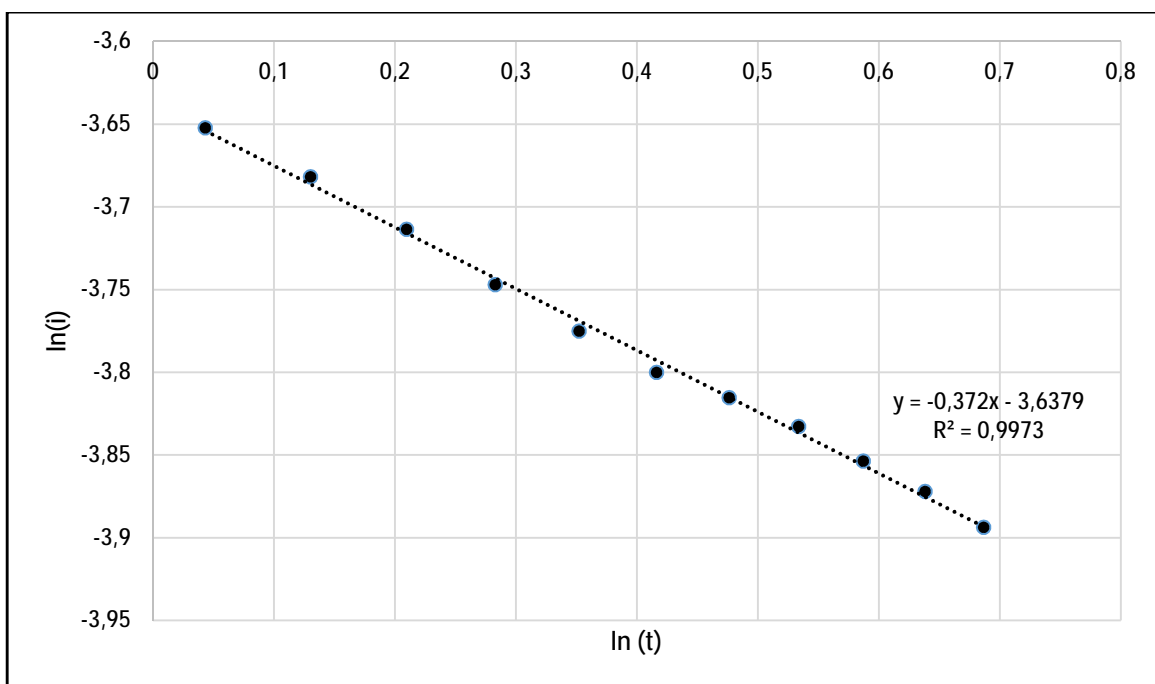


Рисунок 3.16 – Проверка на выполнения закона Коттрелла в случае окисления селексена

Липоевая кислота имеет самый высокий потенциал окисления среди имеющихся антиоксидантов, который равен $+1,1$ В (рисунок 3.17) и, как следствие этого, имеет самую низкую восстановительную способность.

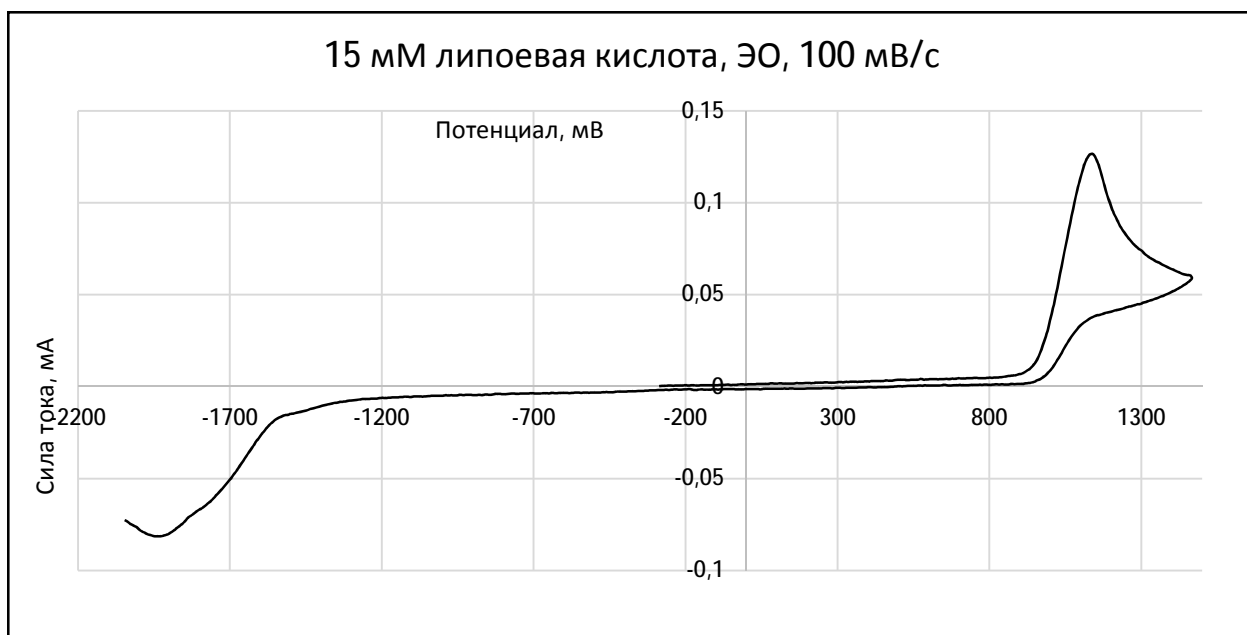


Рисунок 3.17 – Вольтамперограмма электроокисления 15 мМ раствора липоевой кислоты в ДМФА с 0,1 М тетрабутиламмонием перхлоратом, скорость развертки потенциала 100 мВ/с

Липоевая кислота способна восстанавливаться [21], превращаясь в дигидролипоевую кислоту, что показано на схеме, показанной на рисунке 3.18:

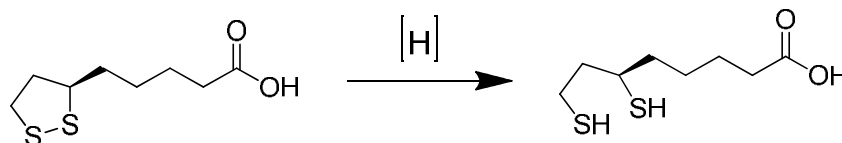


Рисунок 3.18 – Восстановление липоевой кислоты с образованием дигидролипоевой кислоты

Процесс восстановления зафиксирован на вольтамперограмме (рисунок 3.19) и протекает при потенциале -1,85 В.

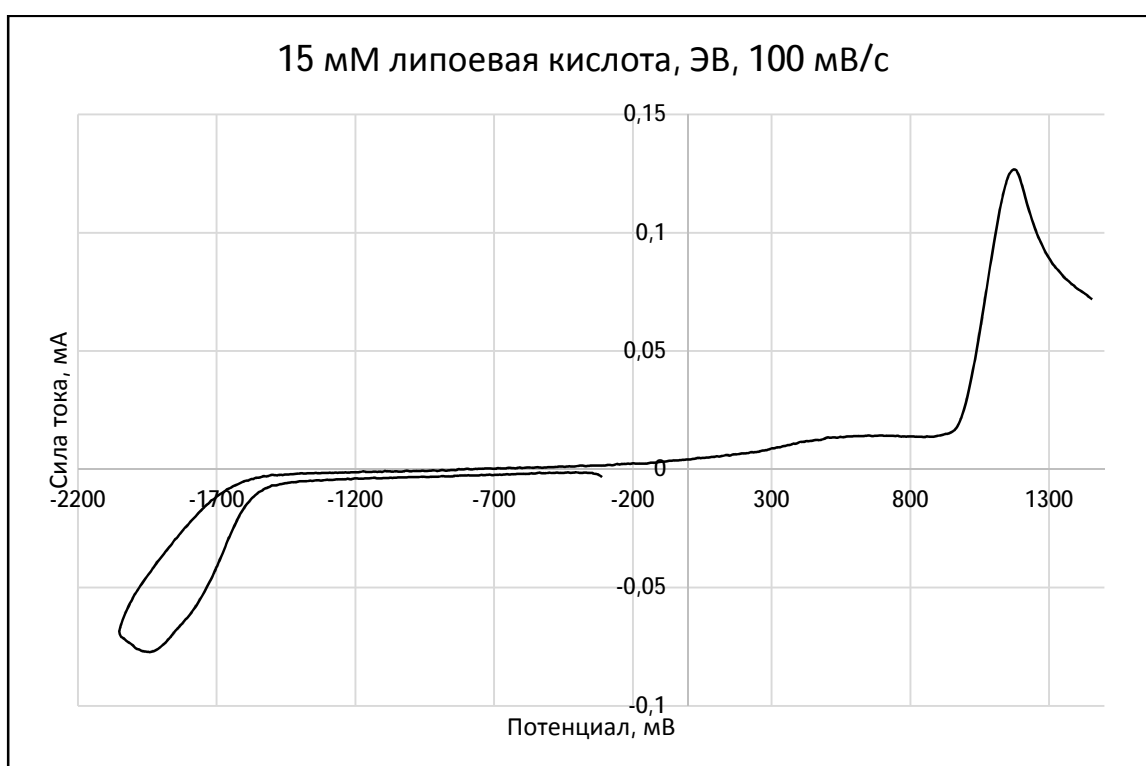


Рисунок 3.19 – Вольтамперограмма электровосстановления 15 мМ раствора липоевой кислоты в ДМФА с 0,1 М тетрабутиламмонием перхлоратом, скорость развертки потенциала 100 мВ/с

Зависимости i_p^a окисления и i_p^c восстановления от концентрации липоевой кислоты (рисунок 3.20) линейны и не проходят через начало координат

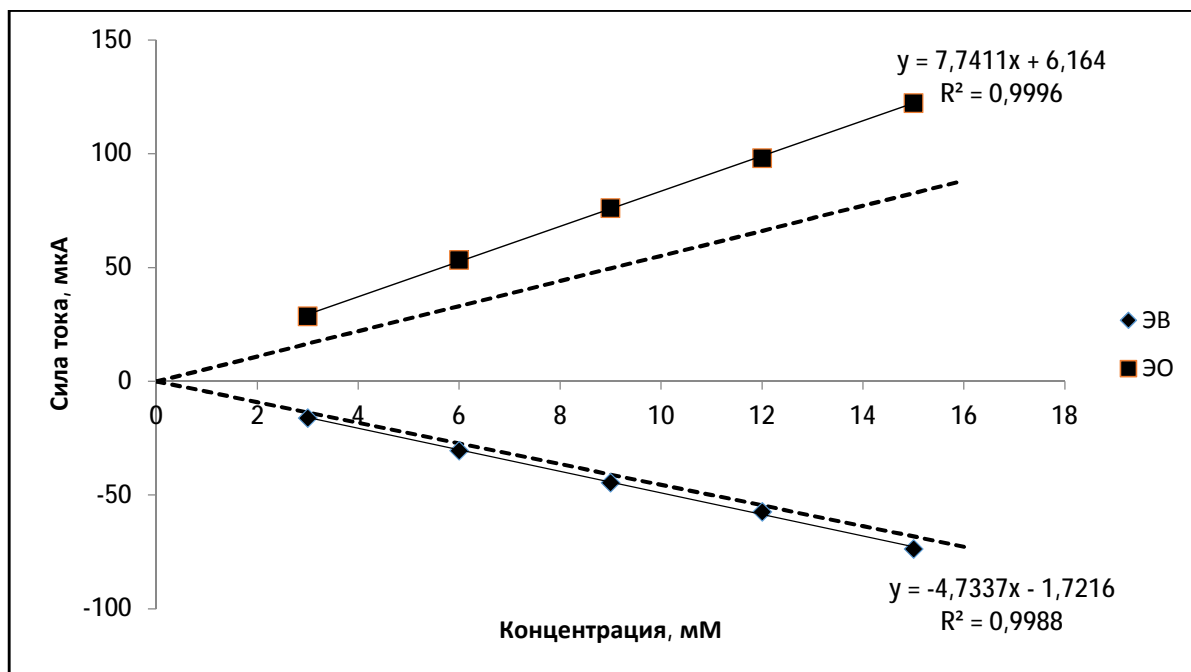


Рисунок 3.20 – Зависимости i_p^a окисления и i_p^c восстановления от концентрации липоевой кислоты, скорость развертки потенциала 100 мВ/с. Штриховыми линиями показаны зависимости i_p^a окисления и i_p^c восстановления от концентрации ферроцена

Влияние скорости развертки потенциала на величину тока восстановления липоевой кислоты представлено на рисунке 3.21.

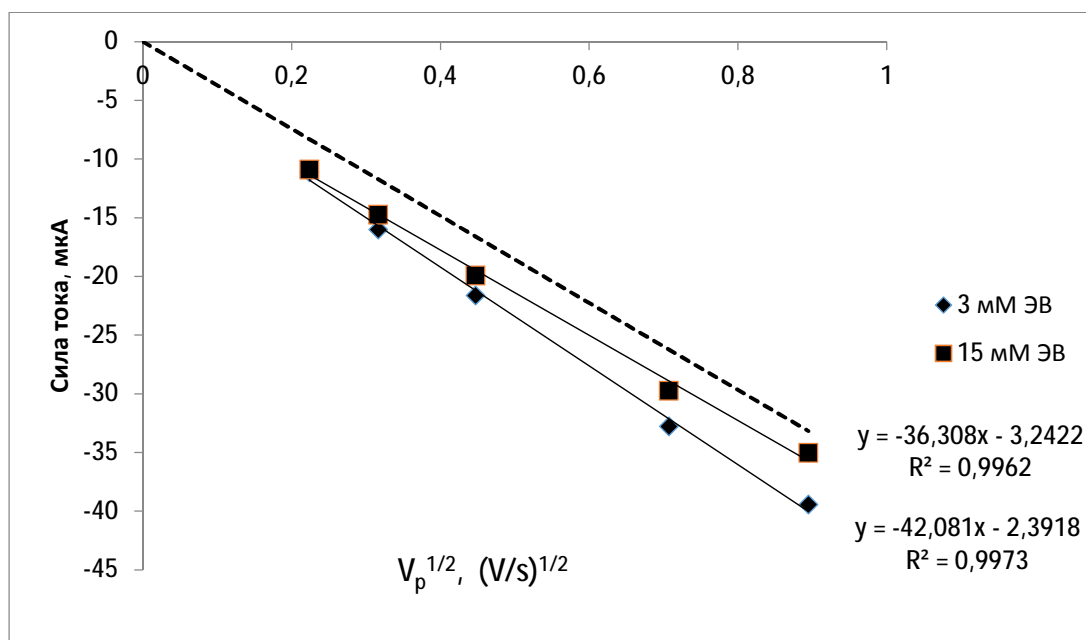


Рисунок 3.21 – Зависимость для 3 мМ i_p^c (с вычетом фона) на кривых ЦВА липоевой кислоты от $v^{1/2}$ и приведенное к 3 мМ зависимость при $C=15$ мМ (2) от $v^{1/2}$. Пунктирной линией обозначен уровень одноэлектронного тока восстановления

Влияние скорости развертки потенциала на величину тока окисления липоевой кислоты показано на рисунке 3.21.

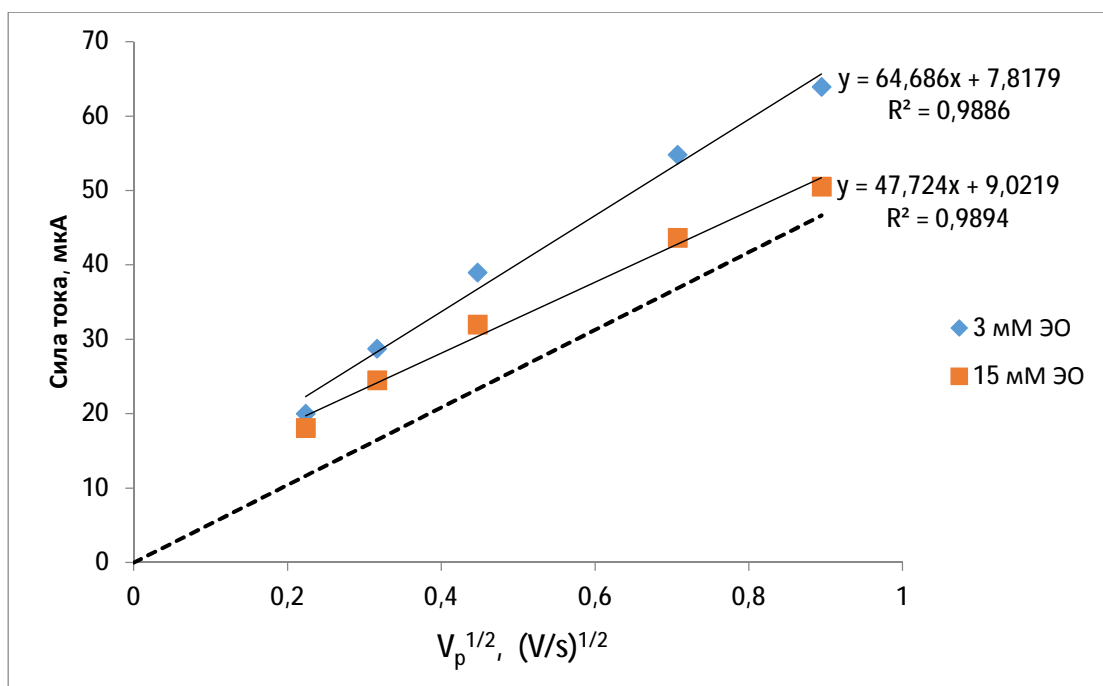


Рисунок 3.21 – Зависимость для 3 мМ i_p^a (с вычетом фона) на кривых ЦВА липоевой кислоты от $v^{1/2}$ и приведенное к 3 мМ зависимость при $C=15$ мМ (2) от $v^{1/2}$. Пунктирной линией обозначен уровень одноэлектронного тока окисления

Значение углового коэффициента в уравнения Коттрелла (рисунок 3.22) имеет величину, близкую к теоретическому для электрохимических реакций, контролируемых диффузией. Расчет числа переноса электронов показал, что окисление и восстановления сопровождаются переносом 1,5 и 1,4 электрона соответственно.

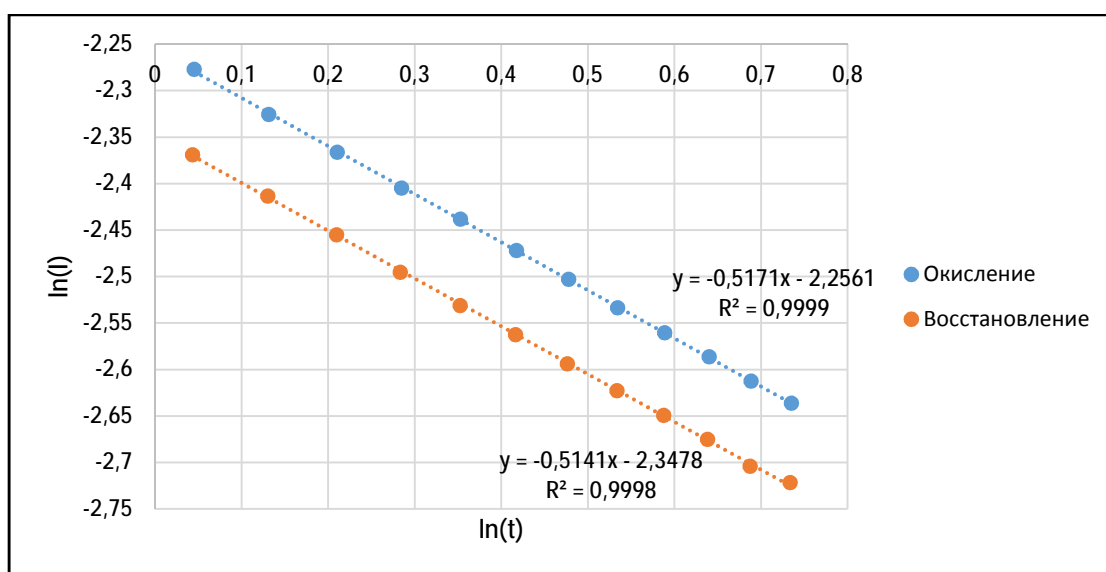
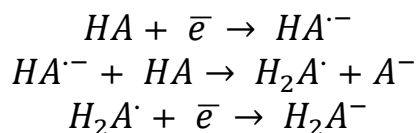
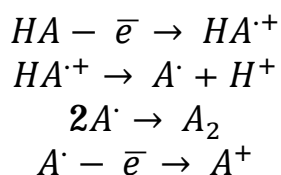


Рисунок 3.22 – Проверка на выполнение закона Коттрелла в случае липоевой кислоты

Принимая во внимание данные по влиянию концентрации окисления и восстановления липоевой кислоты, можно предполагать протекание сравнительно медленных реакций второго порядка как при окислении, так и при восстановлении липоевой кислоты. В случае электровосстановления схему реакций можно представить следующим образом:

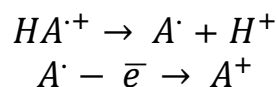


В процессе окисления, предположительно, идет димеризация по механизму:

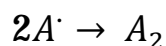


Пик окисления аниона A^- (рисунок 3.52) фиксируется при $E = +0,7$ В на анодной кривой при изменении направления развертки потенциала отрицательнее пика ЭВ липоевой кислоты.

При окислении, по аналогии с механизмом окисления соединений с подвижными атомами водорода, вероятно, происходит быстрое отщепление протона из катион-радикала и окисление образующегося радикала:



Конкурирующей реакцией второго порядка, приводящей к снижению наблюдаемого числа электронов относительно $n = 2$, вероятно, является димеризация радикалов:



Образующийся димер, возможно, восстанавливается при E около $-1,5$ В (рисунок 16).

Токоферол (витамин Е) имеет наименьший потенциал окисления среди используемых антиоксидантов ($+0,67$ В) (рисунок 3.23).

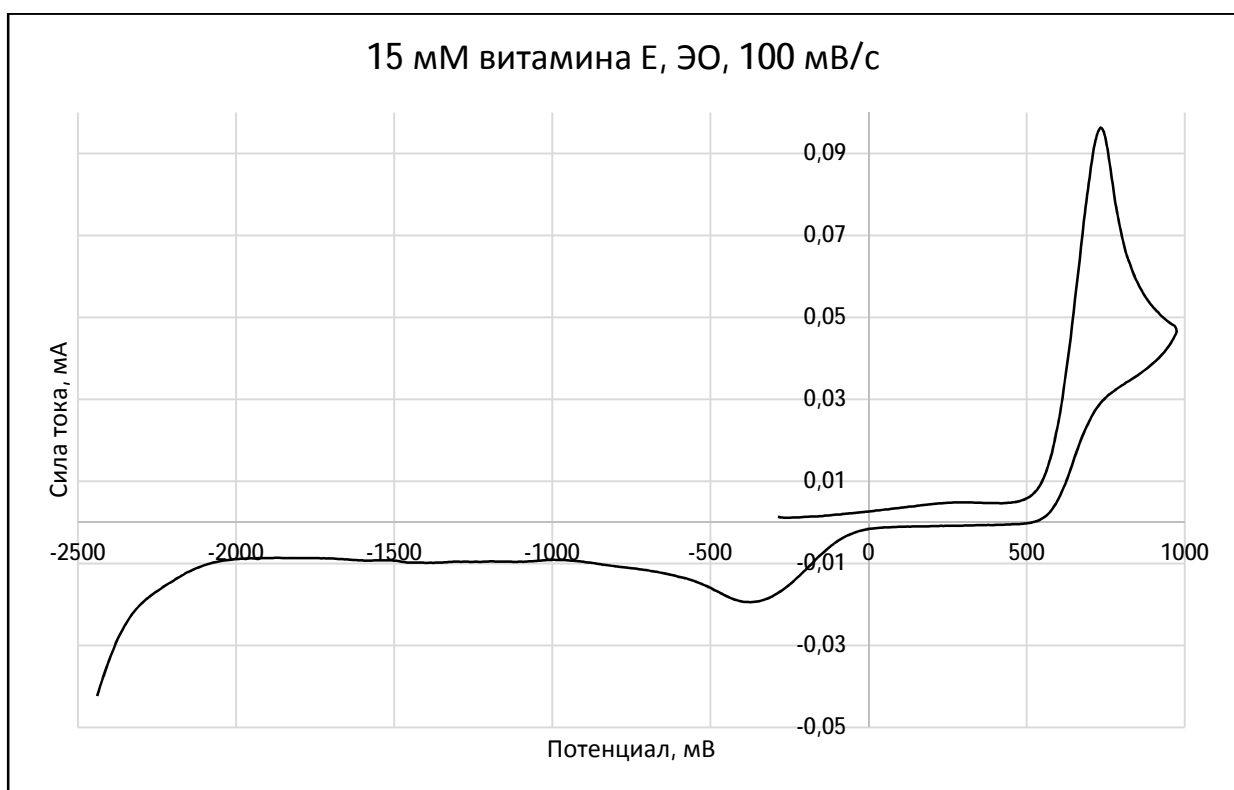


Рисунок 3.23 – Вольтамперограмма электроокисления 15 мМ раствора витамина Е в ДМФА с 0,1 М тетрабутиламмонием перхлоратом, скорость развертки потенциала 100 мВ/с

Наблюдаемое число электронов по данным ХА при $E = +0,67$ В близко к значению одноэлектронного переноса ($n = 1,1$), зависимость $\ln(i)-\ln(t)$ линейна, угловой коэффициент близок к $-0,5$ (рисунок 3.24).

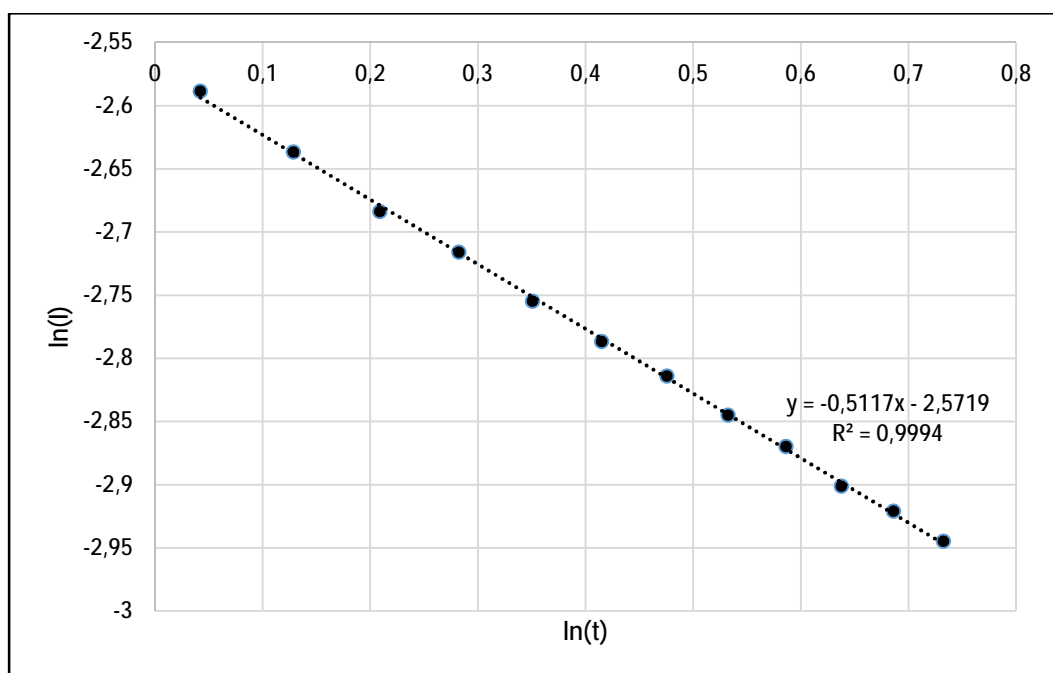


Рисунок 3.24 – Проверка на выполнение закона Коттрелла в случае витамина Е с концентрацией 15 мМ

Ток пика на кривых ЦВА окисления витамина Е линейно зависит от концентрации антиоксиданта, прямая имеет высокий коэффициент корреляции и проходит через начало координат (рисунок 3.25).

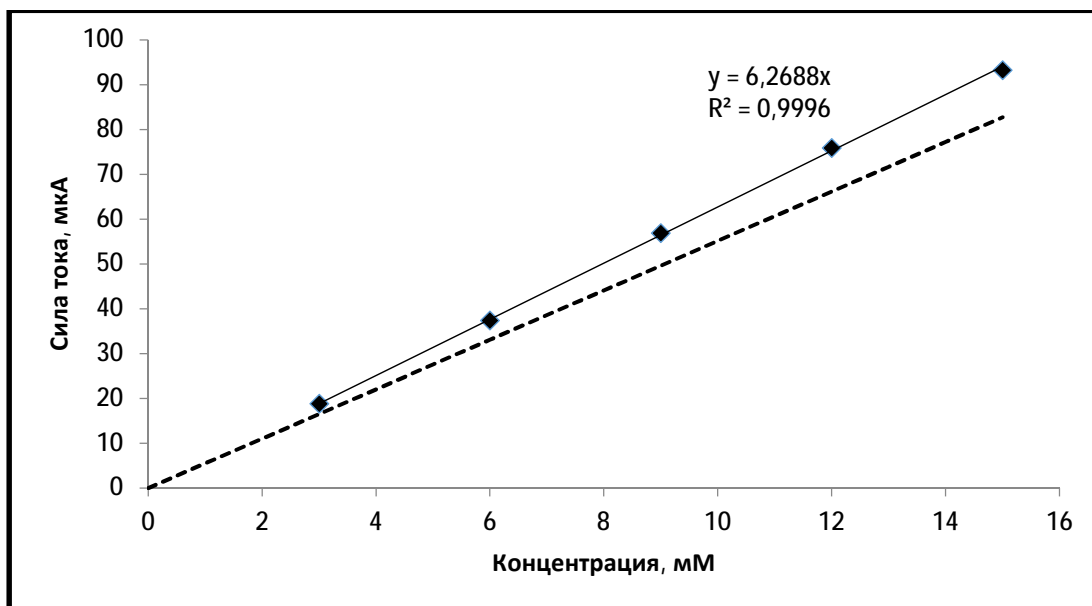


Рисунок 3.25 – Зависимость $i_p^a - C$ для витамина Е, скорость развертки потенциала 100 мВ/с. Пунктирной линией показана зависимость $i_p^a - C$ для ферроцена

Зависимость же $i_p^a - v^{1/2}$ линейна, вероятно, (рисунок 3.26), лимитирующая стадия процесса окисления витамина Е носит диффузионный характер.

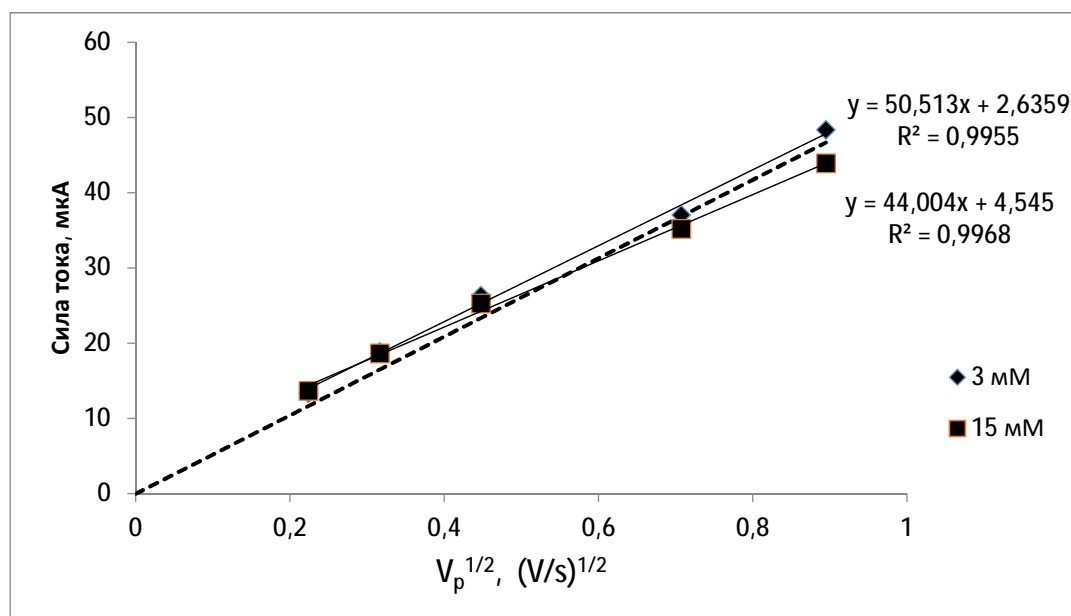
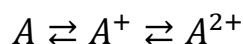
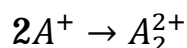


Рисунок 3.26 – Зависимость для 3 мМ i_p^a (с вычетом фона) на кривых ЦВА витамина Е от $v^{1/2}$ и приведенное к 3 мМ зависимость при $C=15$ мМ (2) от $v^{1/2}$. Пунктирной линией обозначен уровень одноэлектронного тока окисления

Литературные данные свидетельствуют [49] о том, что электроокисление модельного соединения α -токоферола (вещество, содержащее фрагмент α -токоферола, участвующий в биохимических превращениях) в ацетонитриле протекает обратимо с последовательным переносом двух электронов с молекулы органического соединения:



При этом указывается, что обратимость реакции, а также продукты окисления зависят от кислотности среды: чем выше кислотность, которая создается добавлением трифторуксусной кислоты, тем выше устойчивость катион-радикала. Отмечается аномально низкая кислотность катион-радикала. В наших условиях пик окисления необратим, а ток пика на кривых ЦВА и на хроноамперограмме лишь немного выше одноэлектронного уровня. Поэтому можно полагать, что основной реакцией образующегося катион-радикала является димеризация, продукт этой реакции восстанавливается при $E = -0,3$:



Образующийся при электроокислении продукт способен восстанавливаться при $-0,4$ В. Зависимость тока восстановления от квадратного корня скорости развертки потенциала (рисунок 3.27) нелинейна и говорит о медленной электродной реакции

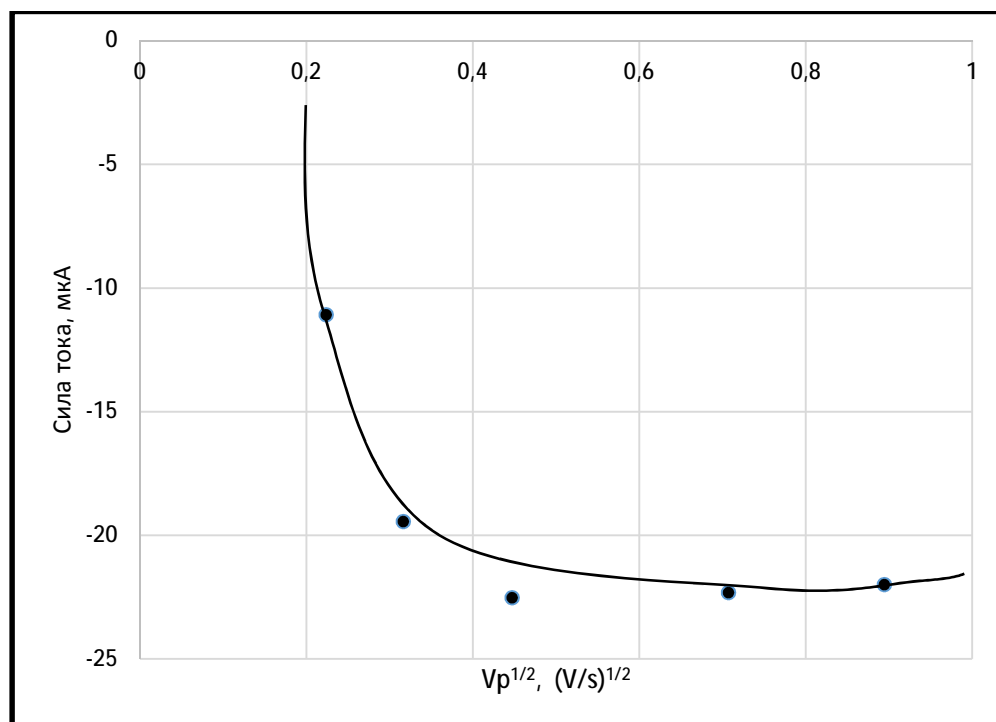


Рисунок 3.27 – Зависимость тока восстановления продукта окисления от квадратного корня скорости развертки потенциала

Димерные продукты были обнаружены при окислении в смеси хлористого метилена и трифторуксусной кислоты (3:1) модельного соединения в работе [49]. Некоторое увеличение тока пика относительно одноэлектронного уровня, может быть связано с конкурирующей реакцией отщепления протона от КР и окисление образующегося радикала.

Витамин А проявляет электрохимическую активность как в катодной, так и в анодной областях потенциалов. И окисление, и восстановление протекает в несколько стадий, поэтому расчеты проведены только для первых пиков ЭО и ЭВ (выделены в рамку на рисунках 3.28 и 3.29).

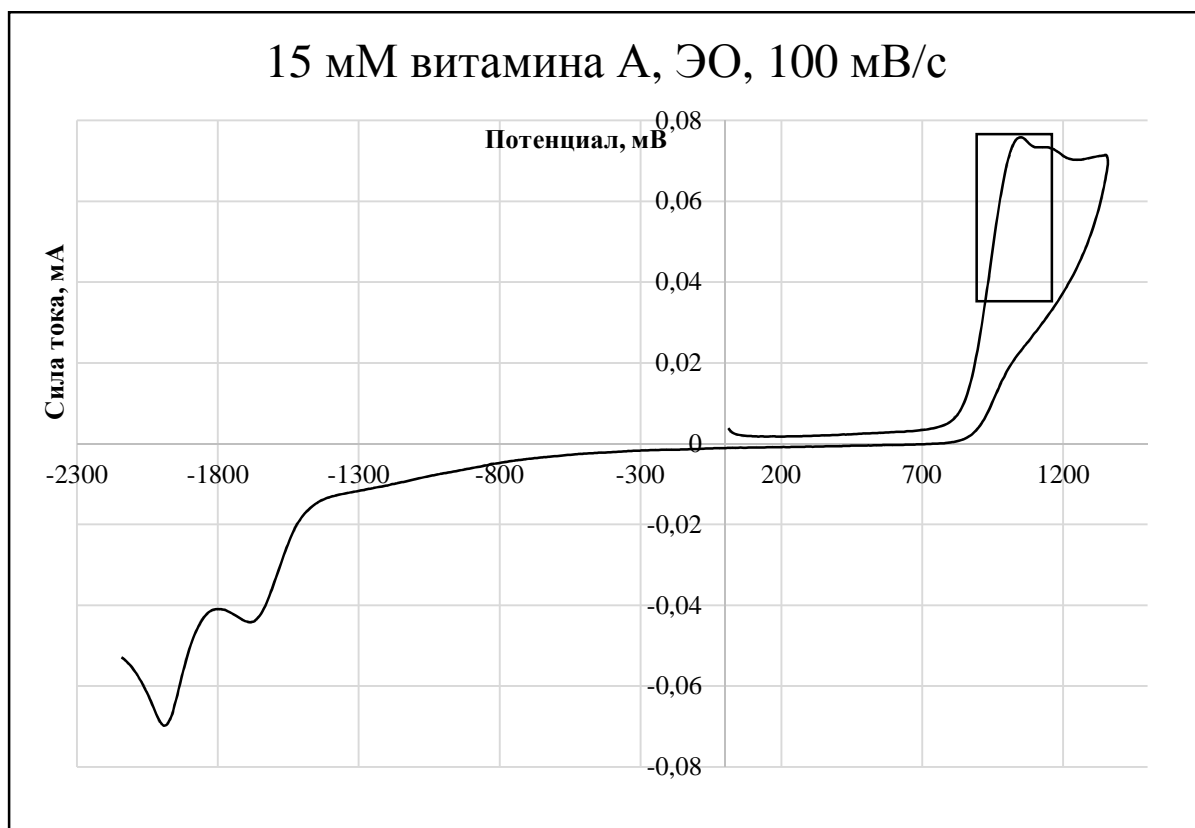


Рисунок 3.28 – Вольтамперограмма электроокисления 15 мМ раствора витамина А в ДМФА с 0,1 М тетрабутиламмонием перхлоратом, скорость развертки потенциала 100 мВ/с

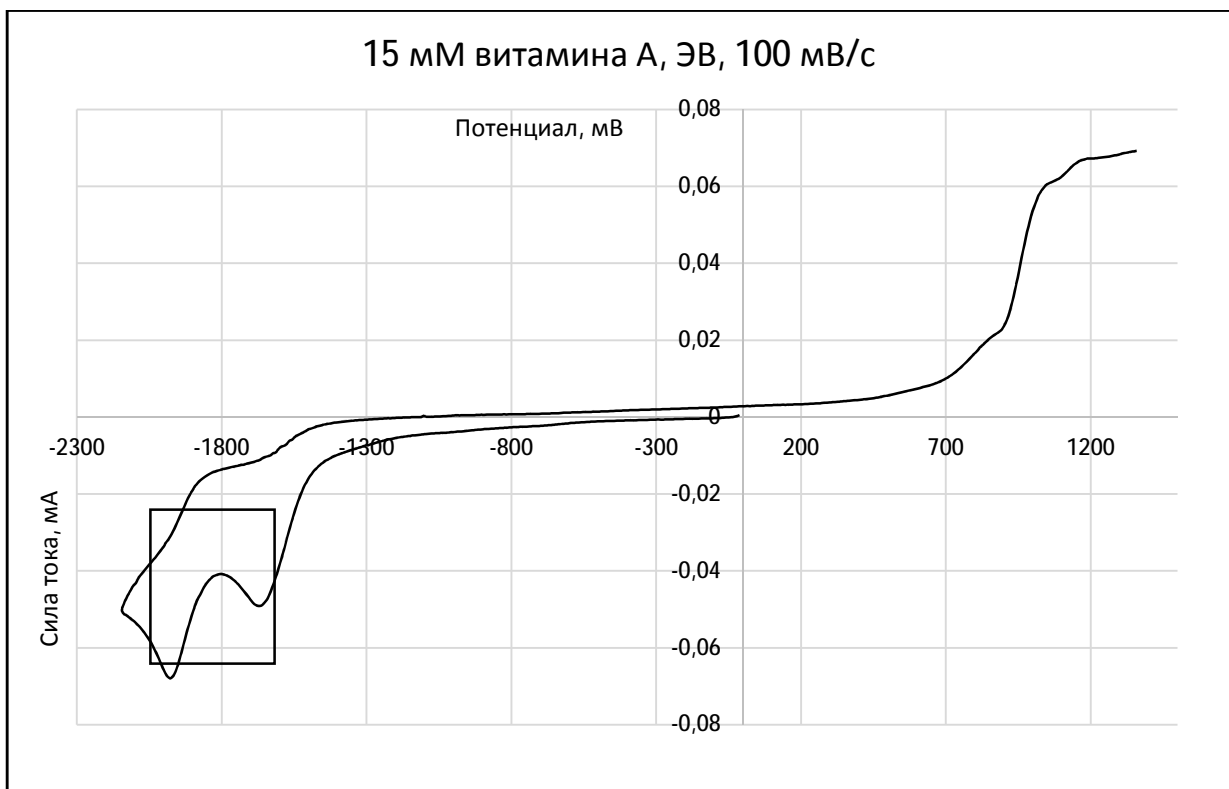


Рисунок 3.29 – Вольтамперограмма электровосстановления 15 мМ раствора витамина А в ДМФА с 0,1 М тетрабутиламмонием перхлоратом, скорость развертки потенциала 100 мВ/с

Токи пиков ЭО и ЭВ линейно растут с увеличением концентрации витамина А. Графики зависимости в исследованном интервале концентраций проходят через начало координат и в том и в другом случае (рисунки 3.30 и 3.31).

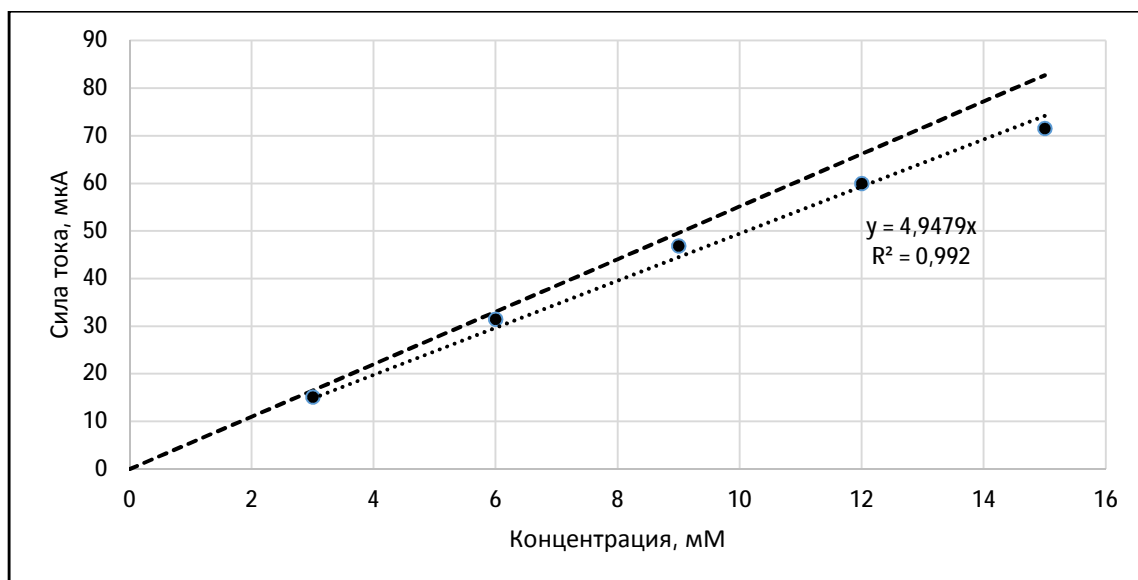


Рисунок 3.30 – Зависимость $i_p^a - C$ для витамина А, скорость развертки потенциала 100 мВ/с. Пунктиром показана зависимость $i_p^a - C$ для ферроцена

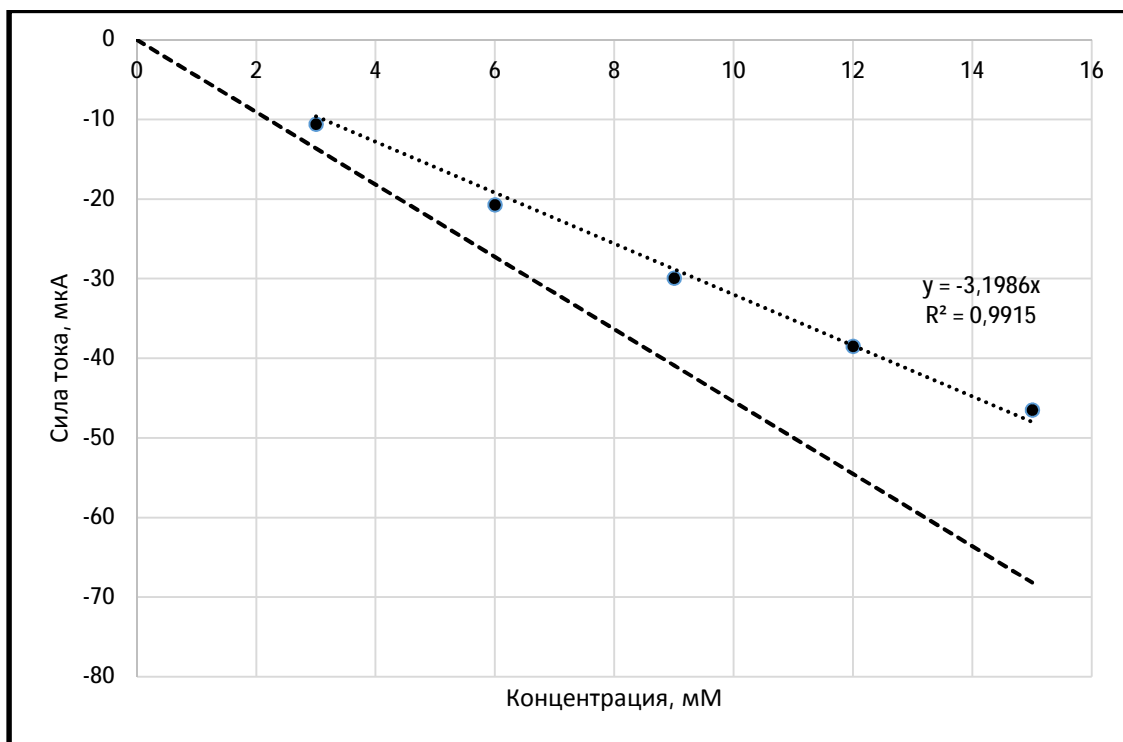


Рисунок 3.31 – Зависимость $i_p^c - C$ для витамина А, скорость развертки потенциала 100 мВ/с. Пунктиром показана зависимость $i_p^c - C$ для ферроцена

Ток на хроноамперограмме при потенциалах предельного тока окисления близок току ферроцена при тех же условиях, то есть к уровню одноэлектронного переноса ($n = 1,1$). Зависимость тока от времени в логарифмических координатах (рисунок 3.32) имеет наклон $-0,43$, что указывает на кинетический контроль окисления витамина А.

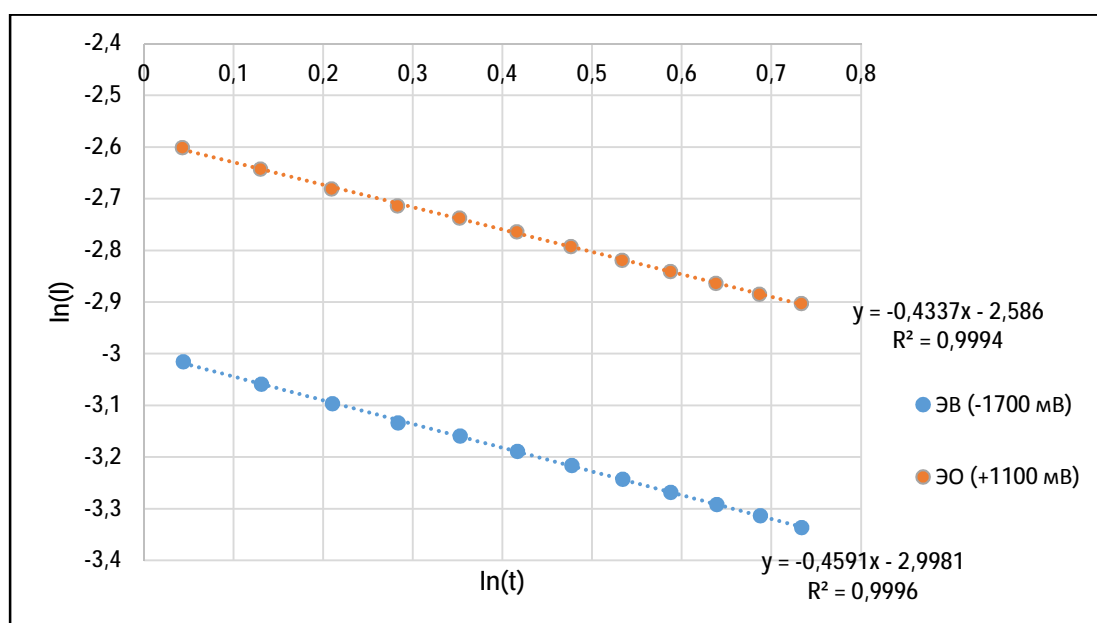


Рисунок 3.32 – Зависимости $\ln(i)-\ln(t)$ для анодного и катодных пиков

На основании полученных данных, а также из строения субстрата можно предполагать, что окисление витамина А протекает с образованием нестабильного катион-радикала, который вступает в реакции димеризации (полимеризации), с образованием электрохимически активных соединений, окисляющихся при более положительных потенциалах, чем витамин А.

Что касается ЭВ витамина А, то ток при потенциале предельного тока практически в два раза ниже тока окисления ферроцена в тех же условиях и число переноса электронов составляет 0,45. График зависимости $\ln(i)-\ln(t)$, равный -0,46, (рисунок 3.32) имеет наклон близкий к теоретическому для восстановления, контролируемого диффузией. Можно полагать, что образующийся АР витамина А вступает в быстрые последующие реакции с участием исходной молекулы субстрата. Исходя из структуры витамина А такими продуктами могут быть соединения димерного строения, проявляющие электрохимическую активность и катодной и анодной областях.

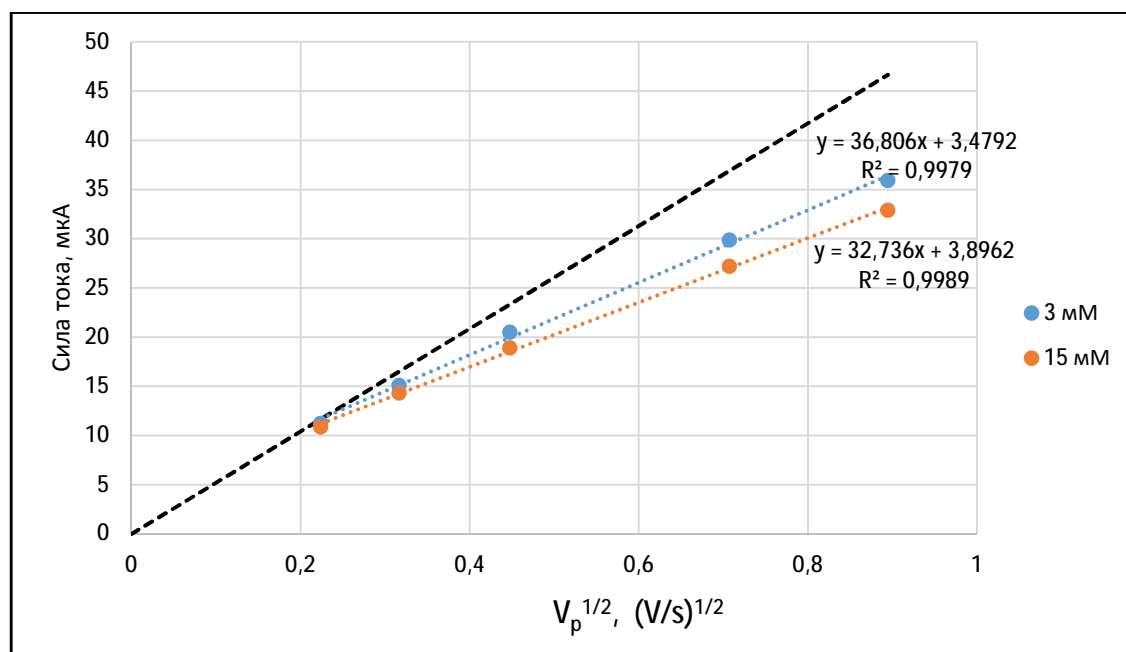


Рисунок 3.33 – Зависимость для 3 мМ i_p^a (с вычетом фона) на кривых ЦВА витамина А от $v^{1/2}$ и приведенное к 3 мМ зависимость при $C=15$ мМ (2) от $v^{1/2}$. Пунктирной линией обозначен уровень одноэлектронного тока окисления (по данным ферроцена)

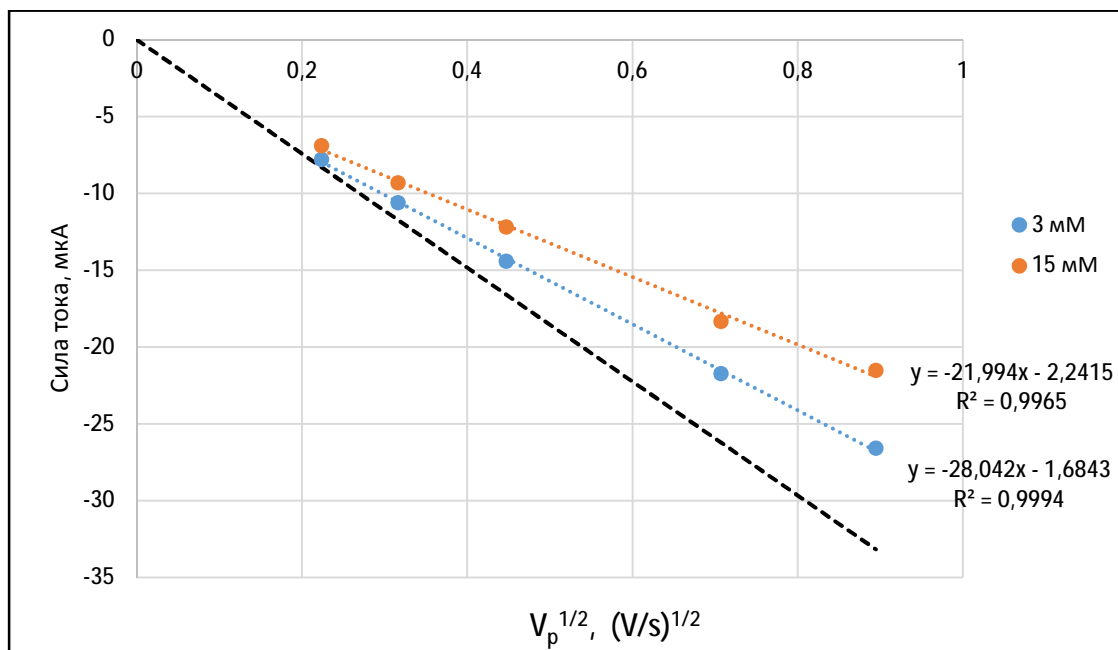


Рисунок 3.34 – Зависимость для 3 мМ i_p^c (с вычетом фона) на кривых ЦВА витамина А от $v^{1/2}$ и приведенное к 3 мМ при $C=15$ мМ (2) от $v^{1/2}$. Пунктирной линией обозначен уровень одноэлектронного тока восстановления (по данным ферроцена)

Дигдрокверцетин способен не только окисляться (рисунок 3.35), но и восстанавливаться (рисунок 3.36), при этом процесс окисления близок к одноэлектронному ($n = 1,2$), а число переноса электронов при восстановлении – 0,44.

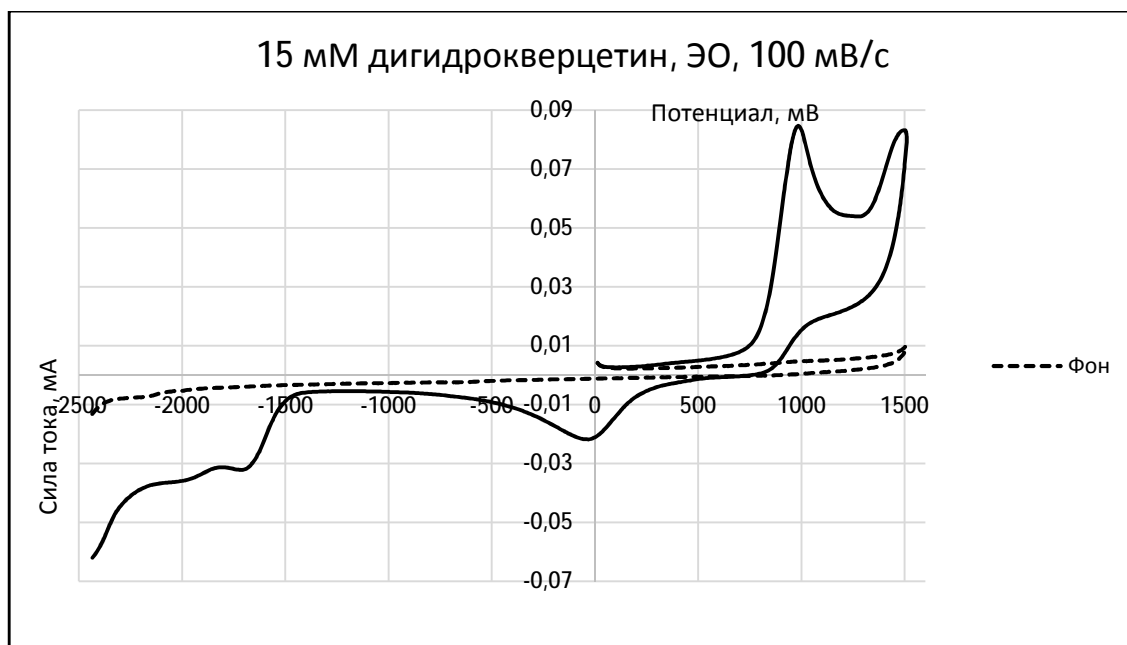


Рисунок 3.35 – Вольтамперограмма электроокисления 15 мМ раствора дигидроверцетина в ДМФА с 0,1 М тетрабутиламмонием перхлоратом, скорость развертки потенциала 100 мВ/с

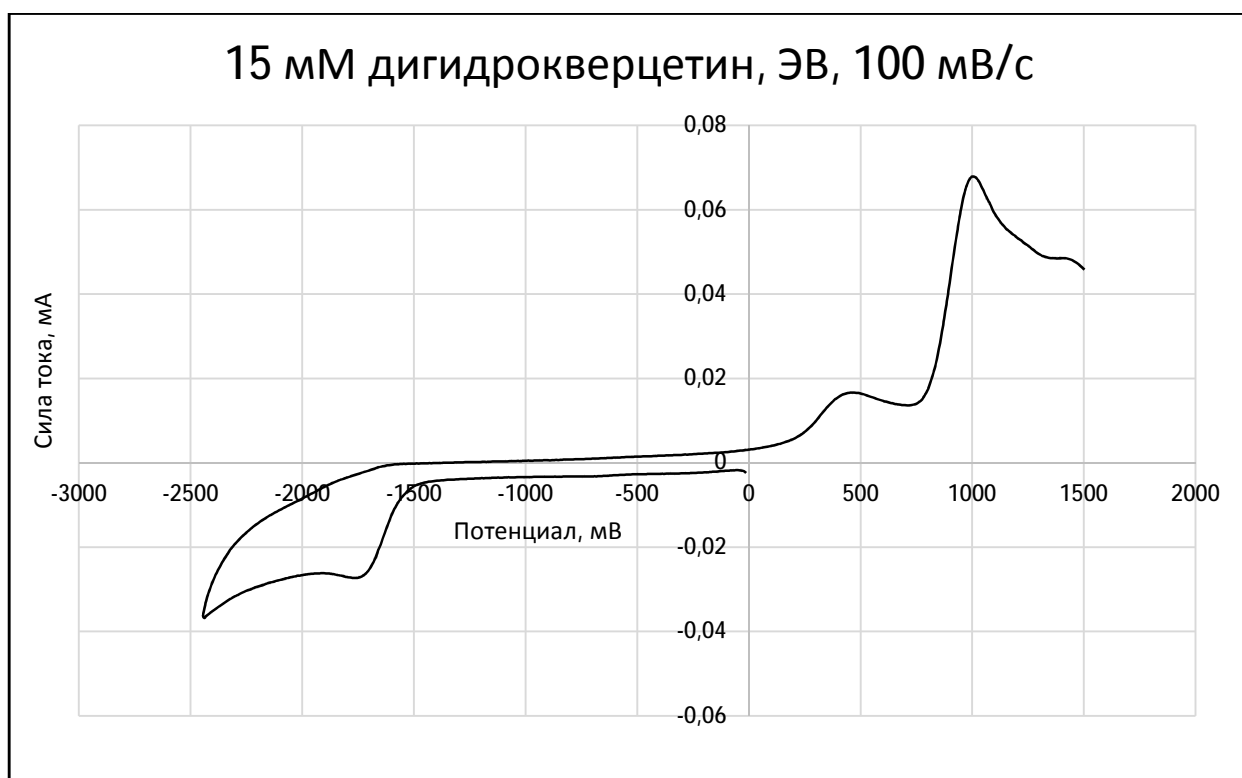


Рисунок 3.36 – Вольтамперограмма электровосстановления 15 мМ раствора дигидрокверцетина в ДМФА с 0,1 М тетрабутиламмонием перхлоратом, скорость развертки потенциала 100 мВ/с

Как видно из рисунка 3.35, образующийся продукт при электроокислении способен восстанавливаться $-0,09$ В, но поскольку разница в потенциалах восстановления и окисления превышает 59 мВ, то восстанавливается не в исходный продукт. После электровосстановления (рисунок 3.36) наблюдаем окисление продукта при потенциале $+0,45$ В, образующийся при этом потенциале продукт также не является исходным, т.к. находится дальше от потенциала восстановления, чем на 59 мВ.

Зависимости $i_p^c - C$ и $i_p^a - C$ линейны, прямая для тока окисления проходит через начало координат (рисунок 3.37).

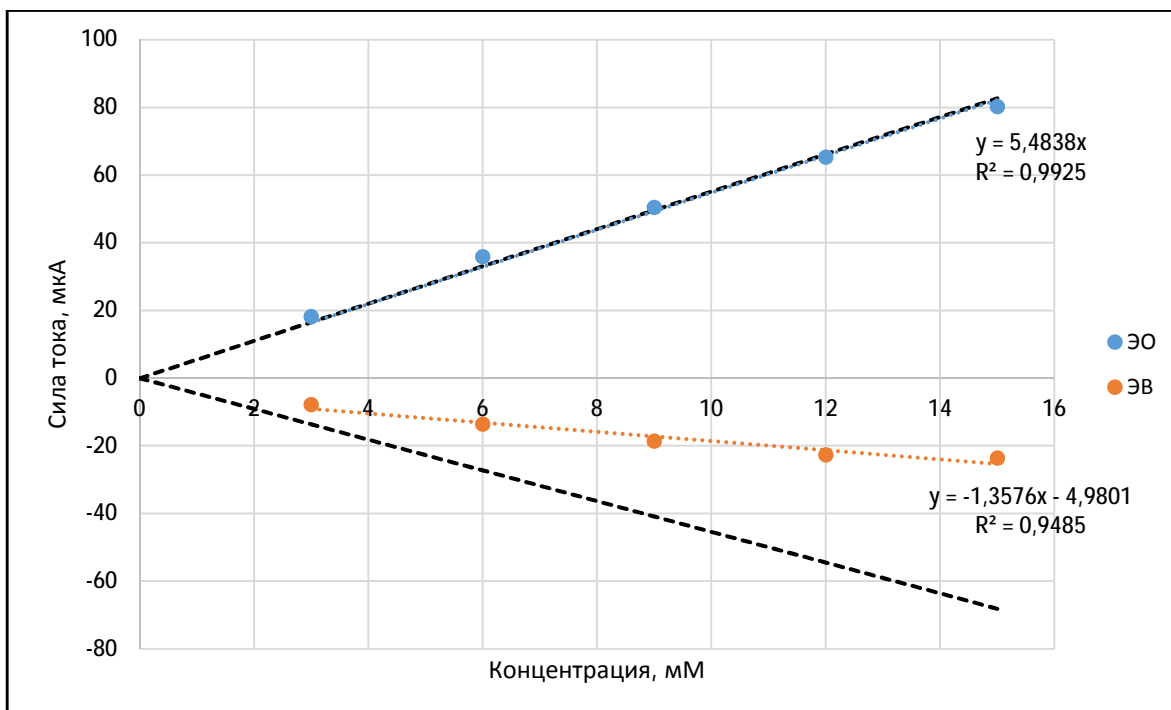


Рисунок 3.37 – Зависимости $i_p^c - C$ и $i_p^a - C$ для дигидрохверцетина, скорость развертки потенциала 100 мВ/с. Штриховыми линиями показаны зависимости i_p^a окисления и i_p^c восстановления от концентрации ферроцена

В координатах $i_p^a - C$ имеется линейная зависимость с угловым коэффициентом, отвечающим переносу одного электрона в сравнении с током по ЦВА ферроцена (рисунок 3.38)

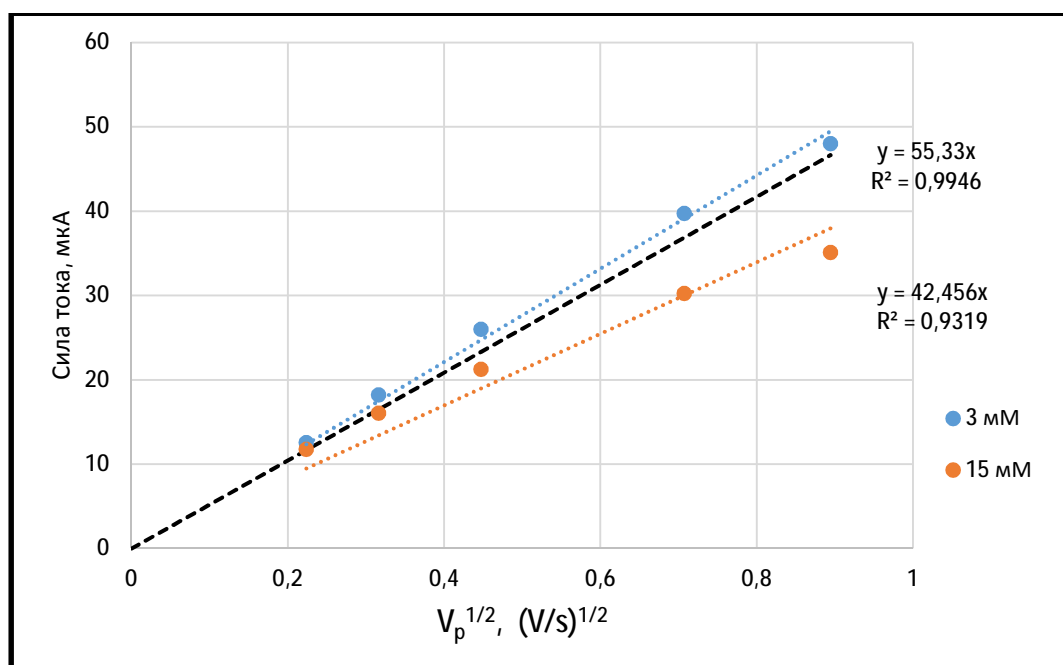


Рисунок 3.38 – Зависимость для 3 мМ i_p^a (с вычетом фона) на кривых ЦВА дигидрохверцетина от $v^{1/2}$ и приведенное к 3 мМ при $C=15$ мМ (2) от $v^{-1/2}$. Пунктирной линией обозначен уровень одноэлектронного тока окисления

Зависимость тока восстановления от концентрации дигидрокверцетина (рисунок 3.39) прямая, но угловой коэффициент меньше, чем при токе восстановления ферроцена. Увеличение концентрации антиоксиданта привело к уменьшению наклона, из чего следует, что с изменением концентрации дигидрокверцетина меняется механизм электровосстановления.

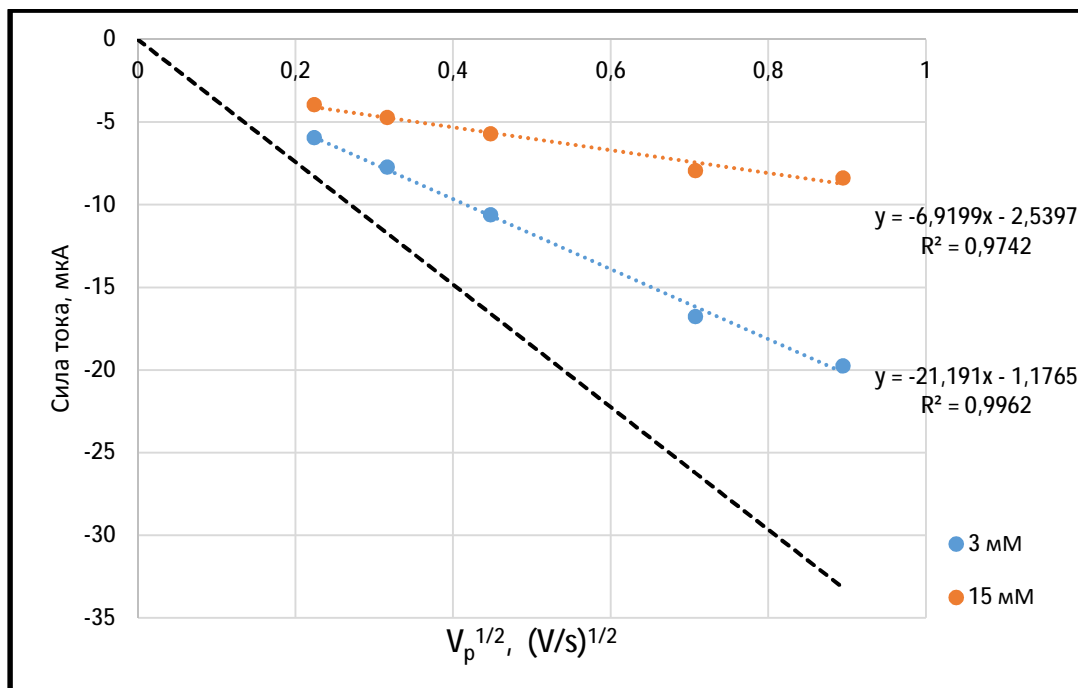


Рисунок 3.39 – Зависимость для 3 мМ i_p^c (с вычетом фона) на кривых ЦВА дигидрокверцетина от $v^{1/2}$ и приведенное к 3 мМ при $C=15$ мМ (2) от $v^{-1/2}$.

Пунктирной линией обозначен уровень одноэлектронного тока восстановления

Но лимитирующий процесс окисления осложнен кинетикой химической реакции, о чем свидетельствует коэффициент наклона прямой в логарифмических координатах $\ln(i)-\ln(t)$, равный $-0,45$, а не $-0,5$ как в случае диффузионного контроля, что показано на рисунке 3.40.

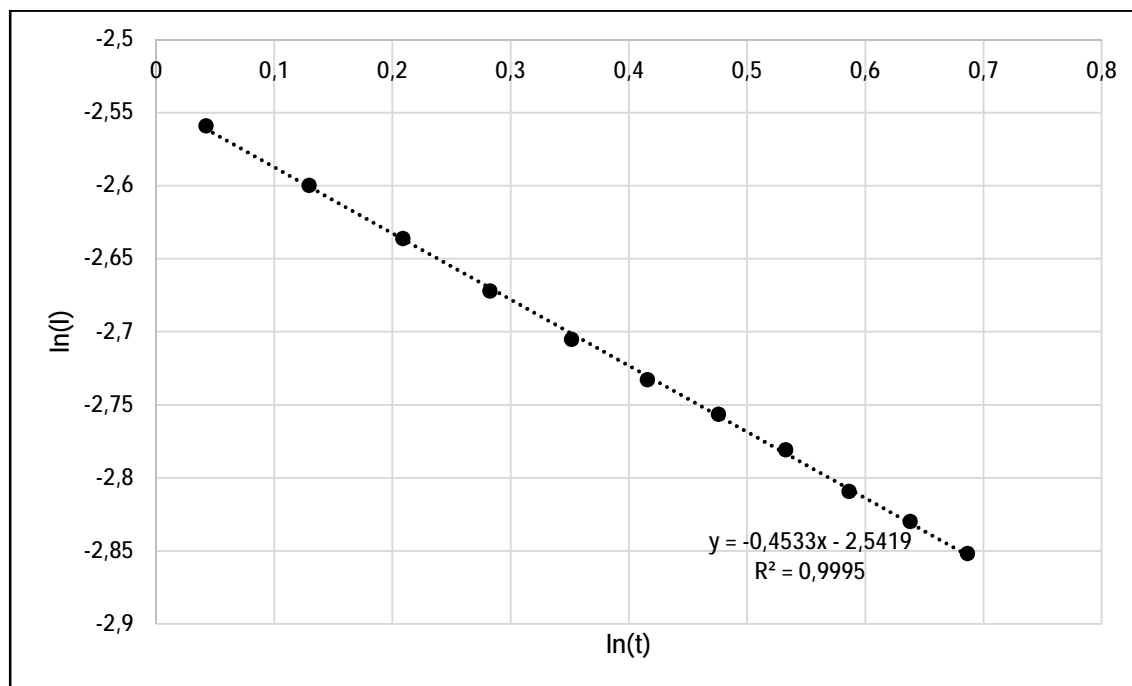


Рисунок 3.40 – Зависимость $\ln(i)-\ln(t)$ для процесса окисления дигидрокверцетина

На основании выполненной работы по исследованию электрохимического поведения антиоксидантов составлены следующие таблицы.

Таблица 3.1 – Электроокисление антиоксидантов

Соединение	Метод ЦВА				Метод ХА	
	E_{ox}, V	$n^{(1)}$	$i_{пр}^a = k_{пр}\sqrt{v} + b_{пр}$		$n^{(2)}$	α
			$k_{пр}$	$b_{пр}$		
Витамин С	+0,89	0,87	14,3	1,2	1,2	-0,57
Витамин А	+1,00	0,92	12,3	1,2	1,1	-0,43
Витамин Е	+0,67	1,0	16,8	0,87	1,1	-0,51
Липоевая кислота	+1,10	1,5	25,6	2,6	1,5	-0,52
Дигидрокверцетин	+0,92	0,96	18,4	0	1,2	-0,45
Мелатонин	+1,06	1,9	29,4	2,1	2,2	-0,50
Селексен	+1,03	1,6	23,3	2,9	1,9	-0,37

Таблица 3.2 – Электровосстановление антиоксидантов

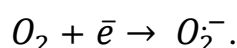
Соединение	Метод ЦВА				Метод ХА	
	E_{red}, V	$n^{(3)}$	$i_{пр}^c = k_{пр}\sqrt{v} + b_{пр}$		$n^{(4)}$	α
			$k_{пр}$	$b_{пр}$		
Витамин А	-1,63	0,48	-9,3	-0,73	0,45	-0,46
Липоевая кислота	-1,85	0,84	-14,1	-0,80	1,4	-0,51
Дигидрокверцетин	-1,70	0,37	-7,1	-0,40	0,44	-0,44

E_{ox} и E_{red} – потенциалы окисления и восстановления относительно НКЭ
 $n^{(1)}$, $n^{(3)}$ – число электронов, участвующих в реакции окисления (1) и восстановления (3), найденные по анализу ЦВА
 $n^{(2)}$, $n^{(4)}$ – число электронов, участвующих в реакции окисления (2) и восстановления (4), найденные по анализу ХА
 α – угловой коэффициент прямой в координатах $\ln(i)$ - $\ln(t)$
 $i_{\text{пр}}$, $b_{\text{пр}}$ и $k_{\text{пр}}$ – приведенные значения i , b и k в уравнении регрессии вида $i = k\sqrt{v} + b$ к 1 мМ антиоксиданта по уравнениям: $i_{\text{пр}} = \frac{i}{C}$, $b_{\text{пр}} = \frac{b}{C}$ и $k_{\text{пр}} = \frac{k}{C}$ где C – концентрация антиоксиданта в мМ
 $i_{\text{пр}}^{\text{a}}$ – приведенное значение силы тока окисления, мкА/мМ (мА/М)
 $i_{\text{пр}}^{\text{c}}$ – приведенное значение силы тока восстановления, мкА/мМ (мА/М)
 v – скорость развертки потенциала, В/с

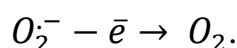
2.2 Определение антиоксидантной активности в реакциях с кислородом и ДФПГ

Одна из основных функций антиоксиданта – связывание и нейтрализация радикальных частиц, возникающих в живых клетках, следовательно, наиболее результативный анализ антиоксидантной активности (АОА) достигается при исследовании потенциальных антиоксидантов в среде, содержащей радикальные частицы. Для определения активности изученных антиоксидантов рассмотрели реакции их взаимодействия с кислородом и его АР.

Исследована антиоксидантная активность при реакции выбранных веществ с растворенным кислородом и анион-радикалом кислорода. В ДМФА при потенциале -800 мВ (относительно НКЭ) идет процесс образования анион-радикала кислорода из растворенного кислорода по реакции:



При потенциале около -630 мВ (относительно НКЭ) наблюдается обратный процесс:



Циклическая вольтамперограмма образования анион-радикала кислорода и пика окисления его анион-радикала показана на рисунке 3.41

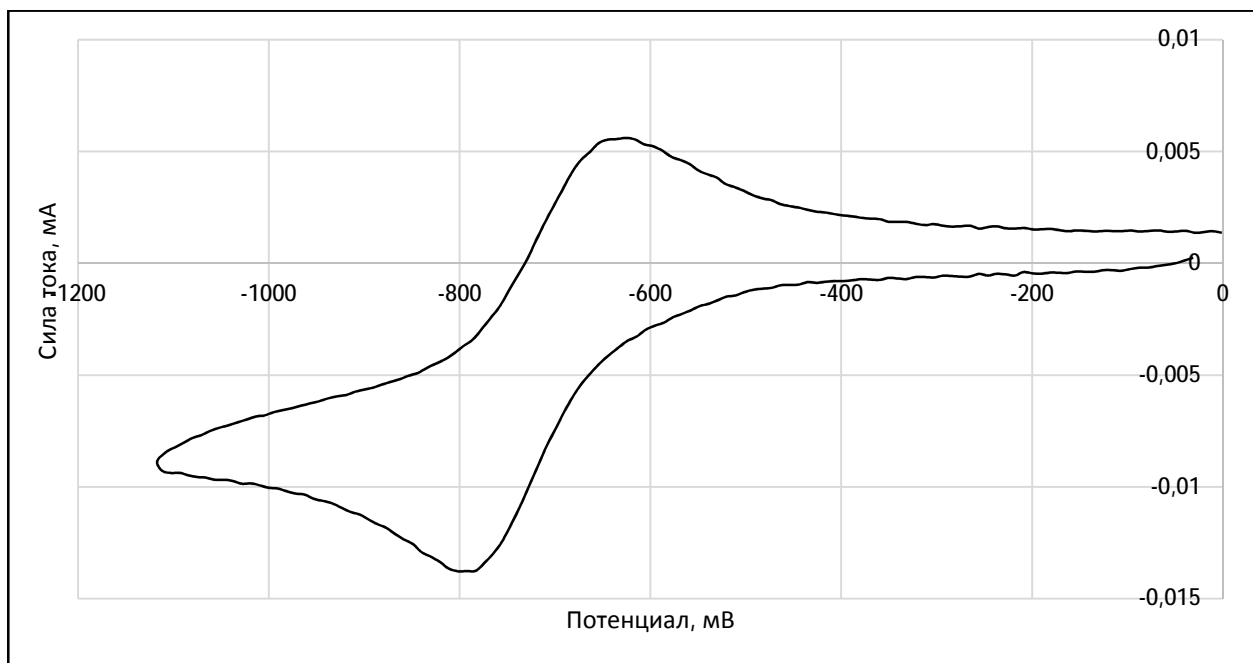
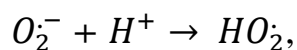


Рисунок 3.41 – Циклическая вольтамперограмма обратимой реакции образования анион-радикала кислорода, скорость развертки потенциала 100 мВ/с

Витамин С, как видно из рисунка 3.42, взаимодействует с анион-радикалом кислорода, о чем можно судить по уменьшению высоты пика окисления анион-радикала. Также мы наблюдаем образование пика в более положительной области на вольтамперограмме, что может говорить о процессе протонирования анион-радикала по схеме:



что вполне справедливо, поскольку мы добавляем в раствор аскорбиновую кислоту, являющейся донором протонов. Высота волны протонированной формы анион-радикала увеличивается с ростом концентрации донора протонов.

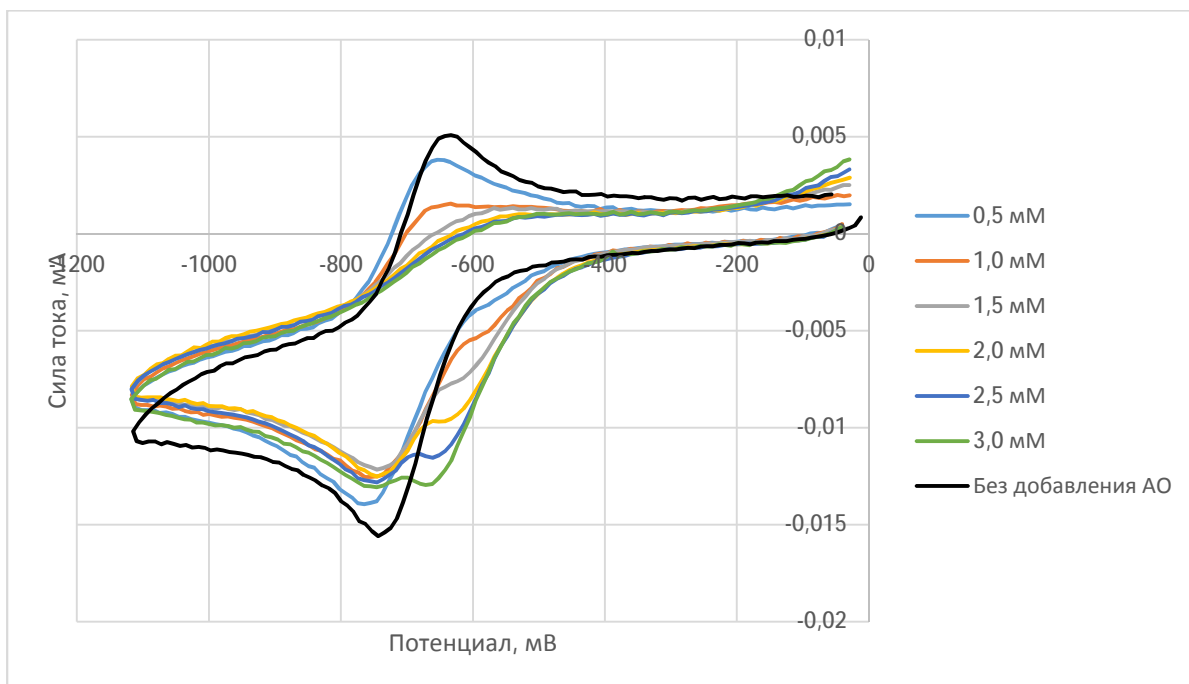


Рисунок 3.42 – Изменение формы кривой ЦВА с увеличением концентрации витамина С. Также показана ЦВА для обратимой реакции образования анион-радикала кислорода без добавления антиоксиданта

Витамин Е также реагирует с анион-радикалом кислорода, о чем можно судить по уменьшению пика окисления анион-радикала (рисунок 3.43).

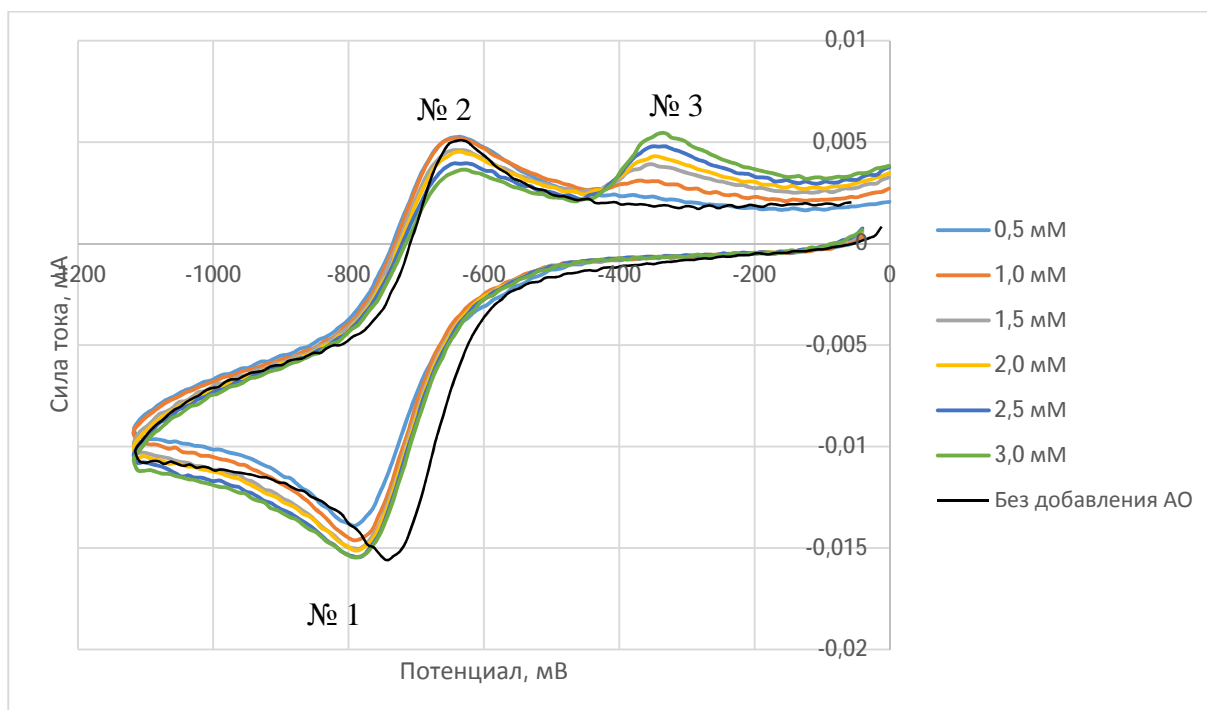


Рисунок 3.43 – Изменение формы ЦВА-кривой кислорода с увеличением концентрации витамина Е

На рисунках ниже показаны зависимости i_p^c восстановления (пик № 1) и i_p^a окисления (пики № 2 и № 3) от концентрации токоферола.

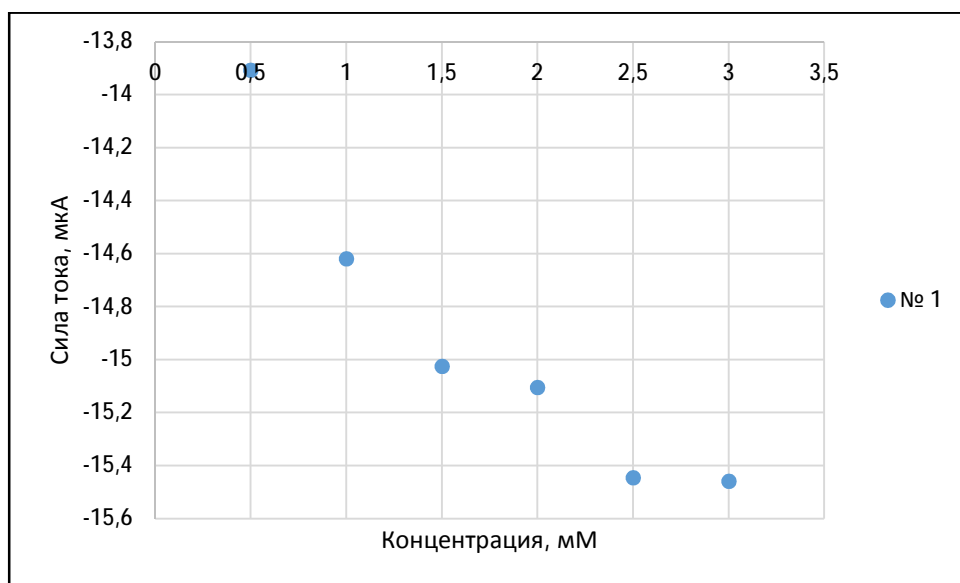


Рисунок 3.44 – Зависимость i_p^c восстановления кислорода от концентрации витамина Е

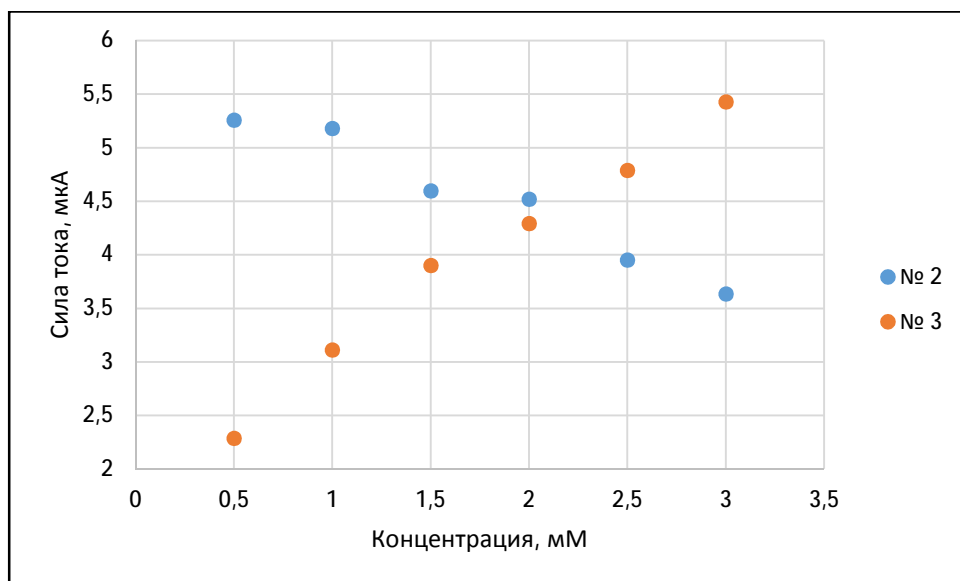


Рисунок 3.45 – Зависимость i_p^a окисления анион-радикала кислорода и продукта его реакции с витамином Е от концентрации витамина Е

Ток восстановления кислорода уменьшается нелинейно при увеличении концентрации токоферола, также уменьшается ток окисления анион-радикала кислорода. Зависимость i_p^a окисления продукта взаимодействия витамина Е и анион-радикала кислорода увеличивается линейно от концентрации витамина.

При потенциале -350 мВ (относительно НКЭ) наблюдается образование пика, высота которого растет с увеличением концентрации витамина Е, образование этого пика можно объяснить окислением продукта реакции.

Пик окисления аниона при -350 мВ становится частично обратимым с увеличением скорости наложения потенциалов до 500 мВ/с (рисунок 3.46).

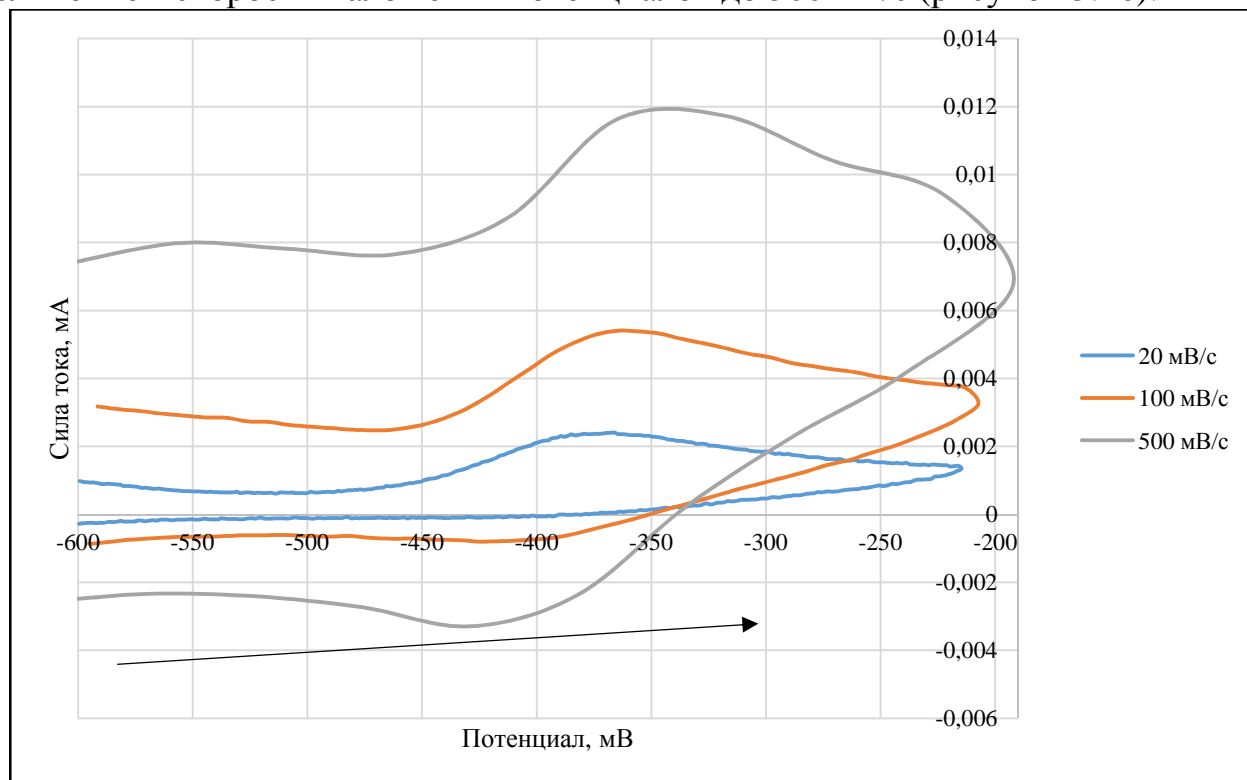
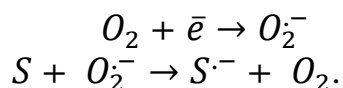


Рисунок 3.46 – Изменение формы ЦВА кривой в области потенциалов окисления аниона токоферола с увеличением ν . Стрелкой показано направление поляризации рабочего электрода

Можно предполагать, что при окислении такого аниона образуется короткоживущий радикал с локализацией неспаренного электрона на кислороде.

Интересен тот факт, что добавление небольших концентраций токоферола приводит к увеличению тока восстановления кислорода и тока окисления его анион-радикала. Это можно объяснить следующей гипотезой. Известно [53], что анион-радикал кислорода может выступать в роли переносчика электрона на субстрат в объеме раствора. В данном случае, возможно, анион-радикала кислорода вступает в реакцию с токоферолом, в ходе которой электрон от анион-радикала кислорода переходит к токоферолу с образованием анион-радикала теперь уже токоферола и молекулярного кислорода:



Концентрация кислорода в результате этой реакции в приэлектродном слое увеличивается, тем самым увеличивая сигнал. Однако, нельзя утверждать, что эта реакция является основной в данных условиях: увеличение тока пика не превышает 10%. А с ростом концентрации витамина Е пик окисления АР кислорода заметно уменьшается, что свидетельствует о преимущественном протекании реакции

протонирования АР кислорода. Таким образом, можно предполагать протекание двух параллельных реакций анион-радикала кислорода с добавленным в раствор антиоксидантом – токоферолом

Витамин А вступает в реакцию с анион-радикалом кислорода, что сопровождается уменьшением тока восстановления анион-радикала (рисунок 3.47). Пик окисления АР кислорода исчезает при полуторократном избытке витамина А. При высоких концентрациях витамина А наблюдается предволна у пика восстановления кислорода, что можно объяснить образованием комплекса анион-радикала кислорода с субстратом. Поскольку сдвиг потенциала ЭВ при этом незначительный, можно полагать, что связи в образующемся комплексе не слишком сильны.

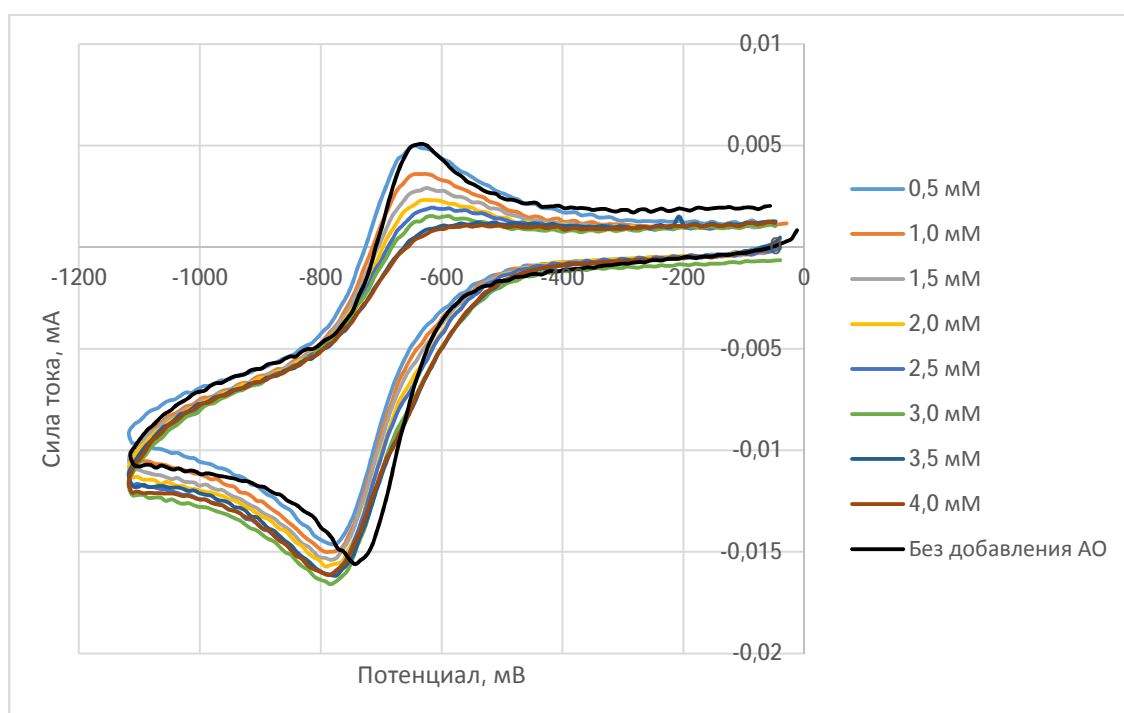
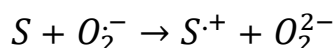


Рисунок 3.47 – Изменение формы циклической вольтамперограммы с увеличением концентрации витамина А

Витамин А, не имея в молекуле подвижных атомов протонов, вероятно, не может рассматриваться в качестве добавленного донора протонов. Реакцией исчезновения АР кислорода может быть передача электрона от витамина А к анион-радикалу кислорода с образованием дианиона кислорода:



Примечательно, что дигидрокверцетин реагирует с анион-радикалом кислорода практически аналогично токоферолу. Пик окисления АР кислорода исчезает при эквимолярном соотношении растворенного кислорода и добавленного дигидрокварцетина. Мы наблюдаем увеличение сигнала кислорода с увеличением концентрации антиоксиданта в системе (рисунок 3.48), однако

отсутствует сигнал окисления образующегося продукта при реакции анион-радикала кислорода и дигидрокверцетина, как это наблюдается в случае токоферола. Увеличение концентрации антиоксиданта приводит к увеличению пика окисления (+0,4 В), отвечающему процессу окисления аниона дигидрокверцетина (рисунок 3.52), из чего следует, что возрастание тока кислорода вызвано его протонированием, по этой же причине пропадает пик окисления анион-радикала кислорода.

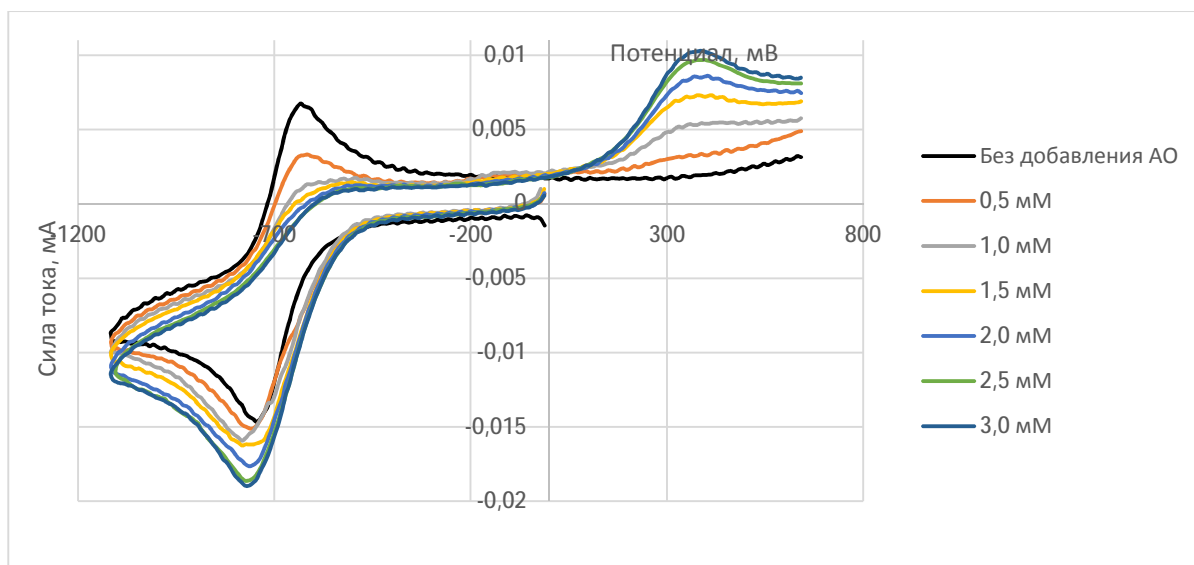


Рисунок 3.48 – Изменение формы ЦВА с увеличением концентрации дигидрокверцетина

Уже другая картина наблюдается в случае мелатонина. Из рисунка 3.49 мы видим, что мелатонин практически не реагирует ни с кислородом, ни с его анион-радикалом.

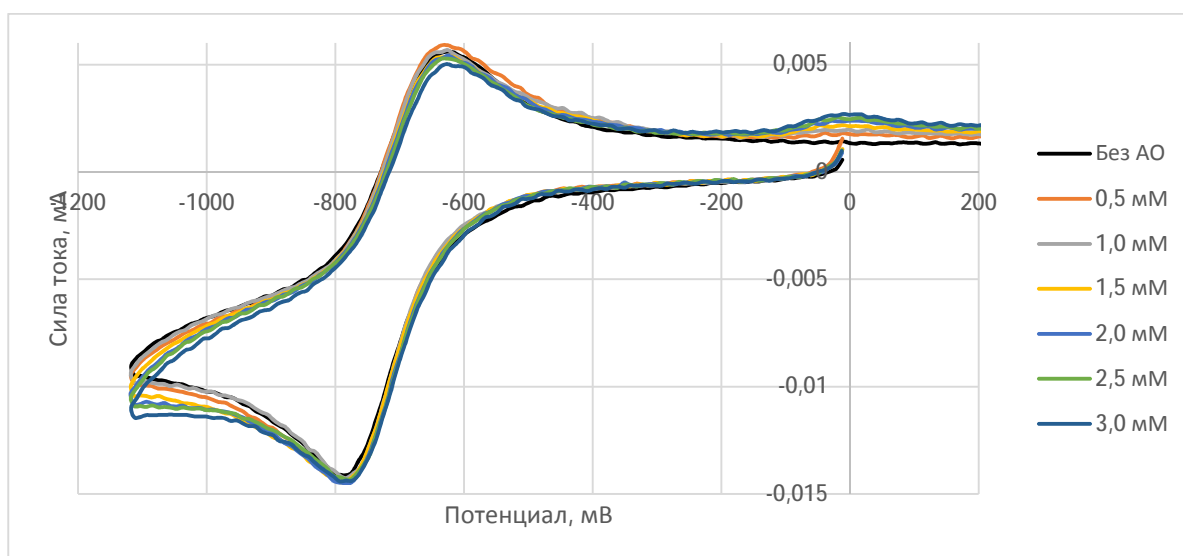
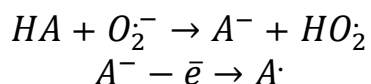


Рисунок 3.49 – Изменение формы ЦВА с увеличением концентрации мелатонина

Реакция мелатонина с анион-радикалом кислорода приводит к образованию продукта, пик окисления которого наблюдается при $E = 0$ В. Согласно рисунку 3.52 при этом потенциале идет окисление аниона мелатонина, отсюда делаем вывод, что взаимодействие мелатонина и анион-радикала кислорода все же имеется и происходит путем протонирования анион-радикала. Схема возможной реакции имеет вид:



Липоевая кислота активно взаимодействует с анион-радикалом кислорода, что следует из уменьшения тока восстановления анион-радикала с увеличением концентрации липоевой кислоты в системе (рисунок 3.50). Наряду с уменьшением тока окисления анион-радикала мы наблюдаем увеличение тока восстановления кислорода, что также можно объяснить протонированием анион-радикала кислорода.

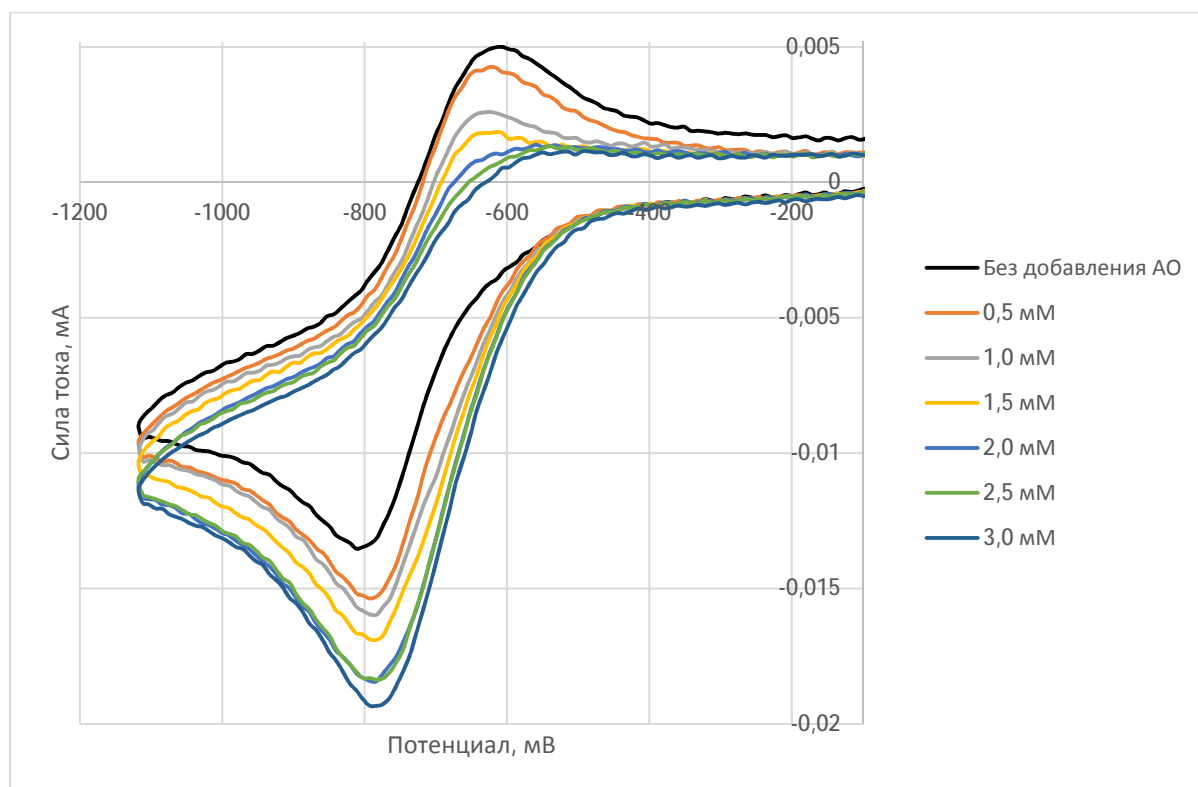


Рисунок 3.50 – Изменение формы ЦВА кислорода с увеличением концентрации липоевой кислоты

Как следует из вольтамперограмм на рисунке 3.51, селексен вызывает сдвиг потенциала восстановления кислорода в катодную область и увеличение тока окисления анион-радикала кислорода. В этих условиях, скорее всего, идет образование ассоциата селексена и кислорода.

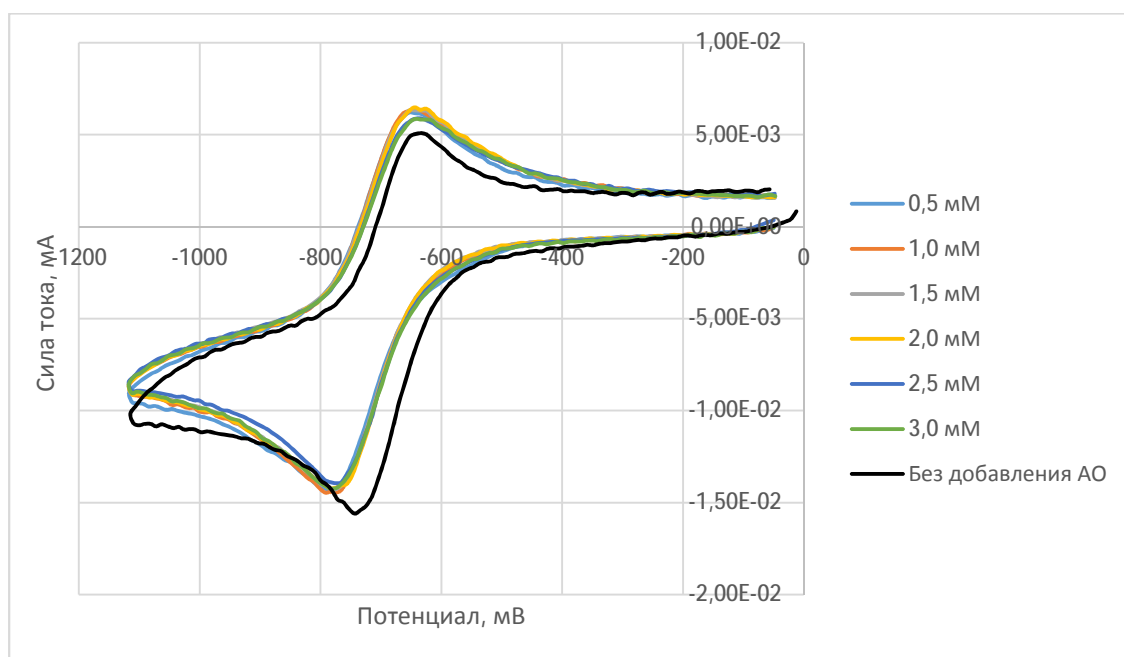


Рисунок 3.51 – Кривые ЦВА в присутствии селексена

Аскорбиновая кислота, мелатонин, липоевая кислота и дигидрохверцетин имеют подвижные протоны, благодаря чему возможна диссоциация этих антиоксидантов с образованием аниона, а в случае мелатонина – дианиона. На рисунке 3.52 приведены вольтамперограммы электроокисления антиоксидантов в присутствии эквимолярного количества щелочи (тетрабутиламмония гидроксида). Цифрами 1 обозначены процессы электроокисления однозарядных анионов, цифрой 2 окисление дианиона мелатонина, буквой S показаны процессы окисления непродиссоциировавших субстратов.

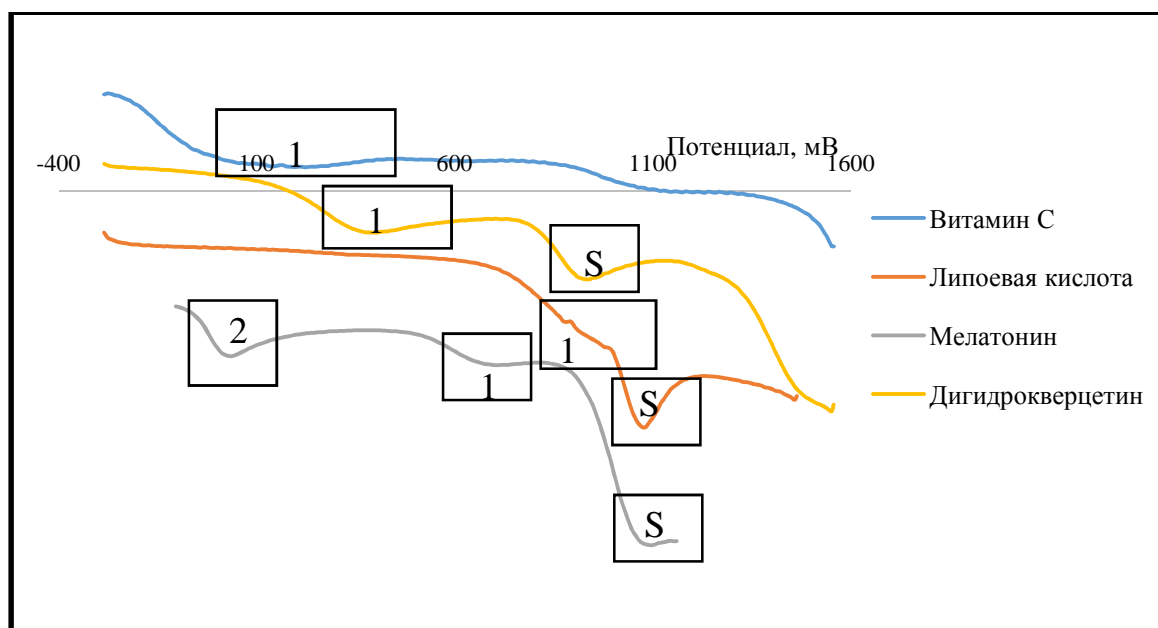


Рисунок 3.52 – Электроокисление витамина С, липоевой кислоты, мелатонина и дигидрохверцетина в присутствии эквимолярного количества тетрабутиламмония гидроксида

С увеличением концентрации щелочи токи окисления анионов растут, в то же время токи окисления субстратов уменьшаются. Потенциал окисления аниона липоевой кислоты близок к потенциалу окисления собственно липоевой кислоты, отчего на ЦВА мы наблюдаем возникновение предволны.

В работе [36] предложены варианты формул для нахождения антиоксидантной активности.

1. Емкостный критерий. Основан на изменении тока восстановления растворенного кислорода в зависимости от концентрации антиоксиданта в системе.

$$K_{\text{емк}} = \frac{I_i}{I_0} \frac{1}{C_{\text{АО}}},$$

где I_i – ток восстановления кислорода в присутствии антиоксиданта в растворе, I_0 – ток восстановления кислорода без присутствия антиоксиданта в системе, $C_{\text{АО}}$ – концентрация антиоксиданта (1,5 мМ).

2. Кинетический критерий. Отражает количество кислорода и активных кислородных радикалов, прореагировавших с антиоксидантом за единицу времени.

$$K_{\text{кин}} = \frac{C_0}{t} \left(1 - \frac{I}{I_0} \right),$$

где I – предельный ток восстановления кислорода в присутствии антиоксиданта в растворе, I_0 – предельный ток восстановления кислорода в отсутствие антиоксиданта в растворе, C_0 – исходная концентрация кислорода в растворе, (приравнивается к растворимости кислорода в исследуемом электролите при н.у., равное 2,2 мМ в ДМФА при парциальном давлении кислорода 0,21 атм.), t – время экспозиции рабочего электрода при постоянном потенциале предельного тока кислорода, характеризующее протекания реакции взаимодействия антиоксиданта с активными кислородными радикалами, мин.

Таблица 3.3 – Значения емкостного и кинетического критериев антиоксидантной активности

Антиоксидант	Емкостный критерий, л/ммоль	Кинетический критерий, ммоль/л·с
Витамин А	0,894	-0,719
Витамин Е	0,695	-0,091
Витамин С	0,611	0,175
Селексен	0,629	0,119
Мелатонин	0,776	-0,345
Липоевая кислота	0,885	-0,691
Дигидрокверцетин	0,875	-0,660

Антиоксидантную активность соединений часто определяют по отношению к стандартному соединению, обычно устойчивому радикалу, например, 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилу (ДФПГ). Весь выбранный ряд антиоксидантов реагирует с анион-радикалом кислорода довольно быстро, поэтому определить кинетику взаимодействия антиоксиданта и анион-радикала в рамках выполненной работы невозможно. Однако, такие антиоксиданты как мелатонин, селексен и витамин А с ДФПГ реагируют медленно, что позволяет электрохимически отслеживать изменение концентрации ДФПГ и построить кинетические зависимости и оценить порядок и константу скорости реакции.

ДФПГ представляет собой устойчивый радикал. Пики окисления и восстановления являются одноэлектронными (сравнение с током ферроцена в тех же условиях). На рисунке 3.53а представлена вольтамперограмма процесса восстановления 6 мМ раствора ДФПГ в ДМФА с 0,1 М тетрабутиламмонием перхлоратом при скорости развертки потенциала 100 мВ/с, на рисунке 3.53б – окисления. Как следует из рисунков, ДФПГ восстанавливается при потенциале +0,28 В, а окисляется при +0,83 мВ относительно НКЭ. Разность потенциалов пиков окисления и восстановления близки к теоретическому значению для обратимого переноса электрона (59 мВ), поэтому окислительный и восстановительный процессы являются полностью обратимыми.

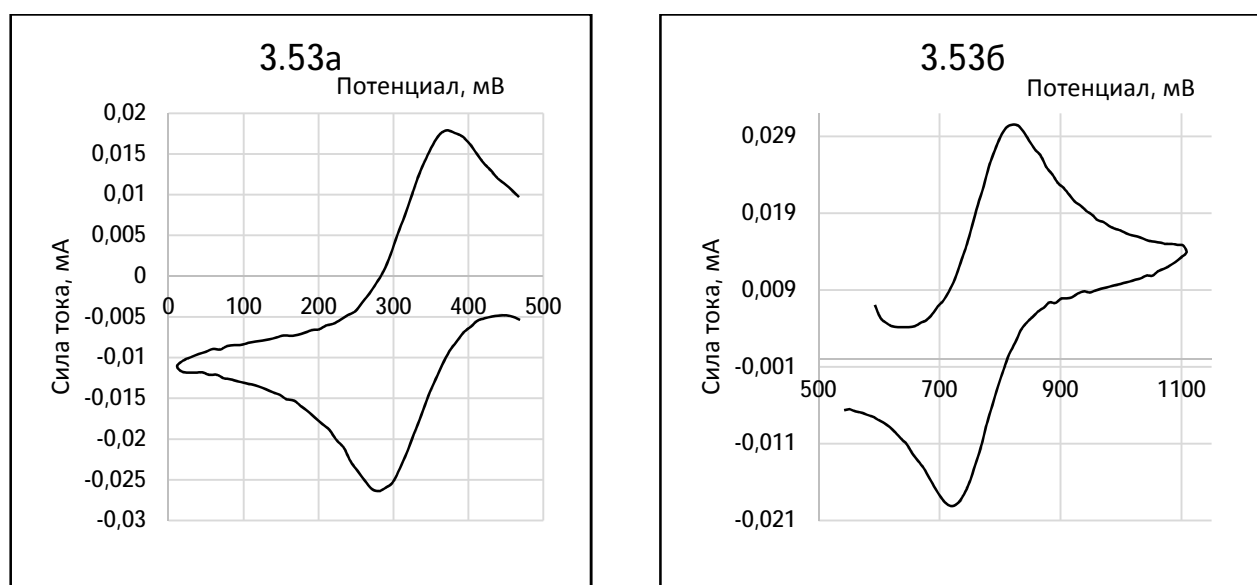


Рисунок 3.53 – Вольтамперограммы восстановления (а) и окисления (б) 6 мМ ДФПГ в ДМФА с 0,1 М Bu_4NClO_4 , скорость сканирования 100 мВ/с

На схеме 3.54 показаны процессы окисления и восстановления ДФПГ

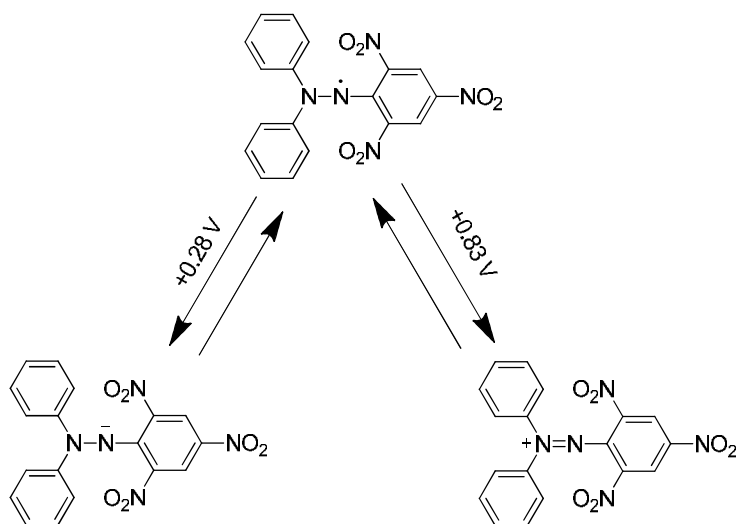


Рисунок 3.54 – Окисление и восстановление ДФПГ

Для определения кинетики приготовлены растворы селексена и мелатонина с концентрацией в 40 раз выше концентрации добавленного к ним ДФПГ. Регистрация сигнала проводилась построением хроноамперограмм при предельном токе восстановления ДФПГ (+250 мВ относительно НКЭ) и бралось значение силы тока при 1 секунде выдерживания при этом потенциале.

В данных условиях селексен взаимодействует с ДФПГ по реакции псевдопервого порядка с константой $1,6 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$ (рисунок 3.55). Следовательно, константа скорости реакции 2-го порядка равна $4 \cdot 10^{-6} \text{ л/моль} \cdot \text{с}$.

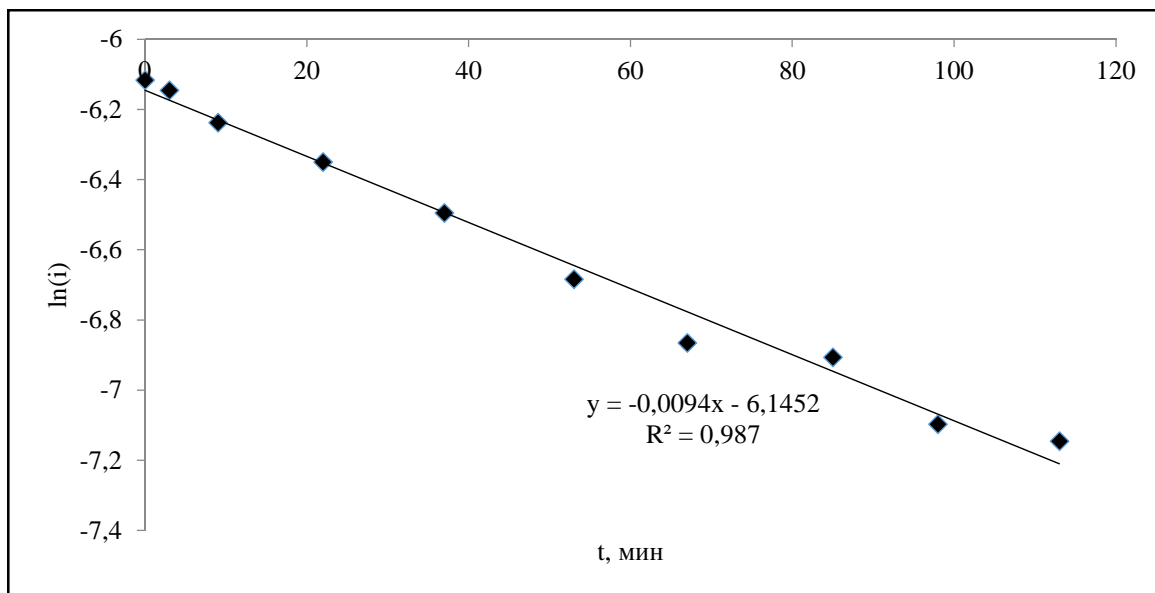


Рисунок 3.55 – Кинетика взаимодействия селексена с ДФПГ при сорокакратном избытке селексена

Аналогичное поведение наблюдается и при реакции мелатонина с ДФПГ. Реакция псевдопервого порядка с константой скорости $1,3 \cdot 10^{-6} \text{ л/моль} \cdot \text{с}$ (рисунок 3.56).

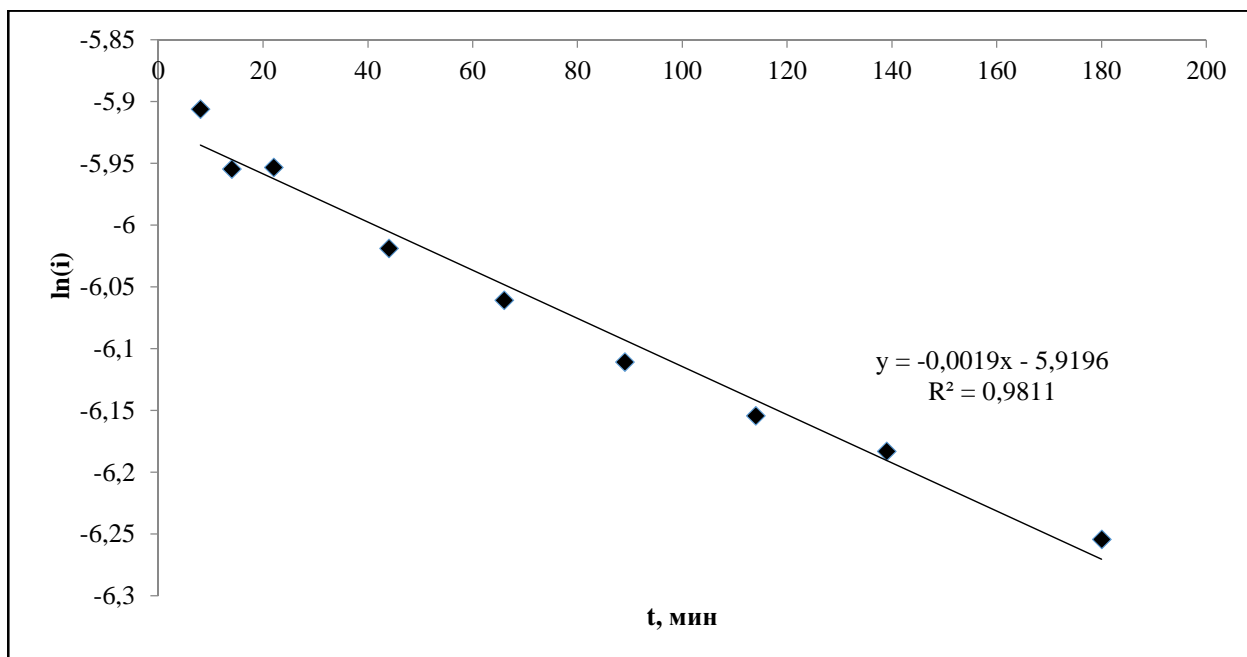


Рисунок 3.56 – Кинетика взаимодействия мелатонина с ДФПГ при сорокакратном избытке мелатонина

2.3 Определение констант устойчивости комплексов антиоксидантов с кислородом и ДФПГ

Обнаружено, что при взаимодействии некоторых антиоксидантов с кислородом и/или ДФПГ наблюдается смещение потенциала пика, что обусловлено комплексообразованием реагирующих частиц. Зная ΔE смещения можно определить константу устойчивости образующегося ассоциата [55].

Пусть в системе протекает реакция:



которой соответствует константа равновесия:

$$K = \frac{[C]}{[A] \cdot [B]}$$

Потенциал вещества А определяется как:

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln[A]$$

Выразив [A] из выражения константы равновесия и подставив в уравнение Нернста получим:

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[C]}{K[B]} = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln K + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[C]}{[B]}$$

$$E^0 + \frac{RT}{nF} \ln[A] = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln K + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[C]}{[B]}$$

$$\frac{RT}{nF} \ln[A] = -\frac{RT}{nF} \ln K + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[C]}{[B]}$$

Обозначив $\frac{RT}{nF} \ln K = E'$, получим:

$$E' = \frac{RT}{nF} \ln \frac{[C]}{[B]} - \frac{RT}{nF} \ln[A] = \frac{RT}{nF} \ln \frac{[C]}{[B] \cdot [A]}$$

$$E' = \frac{RT}{nF} \ln K$$

E' - смещение потенциала.

Тогда константа устойчивости будет находиться по уравнению:

$$K = \exp\left(\frac{E' \cdot nF}{RT}\right)$$

Поскольку при образовании ассоциатов с кислородом идет изменение значения энергий молекулярных орбиталей кислорода, способствующее понижению энергии активации восстановления кислорода, то расчет констант устойчивости проводим для положительного смещения потенциала относительно незакомплексованного кислорода.

Таблица 3.4 – Смещение потенциалов восстановления ДФПГ и кислорода при реакции с антиоксидантами со значением констант устойчивости соответствующих ассоциатов. Единица измерения константы устойчивости [л/моль]

	Кислород	ДФПГ
Витамин Е	–	–0,030 В, (K = 3,1 · 10 ²)
Витамин С	+0,019 В, (K = 2,1 · 10 ³)	+0,110 В, (K = 7,4 · 10 ⁴)
Селексен	–	-0,134 В, (K = 3 · 10 ²)
Мелатонин	–	–
Липоевая кислота	–	+0,016 В, (K = 3,5 · 10 ³)
Дигидрокверцетин	–	+0,103 В, (K = 5,6 · 10 ²)
Витамин А	–	-0,167 В, (K = 0,13)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенных исследований в работе сделаны следующие выводы:

7. Сняты и проанализированы циклические вольтамперограммы растворов антиоксидантов в ДМФА. Определены потенциалы окисления и/или восстановления антиоксидантов. Обнаружено, что электрохимический ряд выбранных антиоксидантов в порядке увеличения восстановительной способности имеет вид: липоевая кислота, мелатонин, селексен, витамин А, дигидрокверцетин, витамин С, витамин Е.
8. Найдены значения чисел переноса электронов с субстрата (окисление) или на субстрат (восстановление) с использованием хроноамперометрии и ферроцена как стандартного вещества.
9. Определены лимитирующие процессы электрохимических реакций у каждого антиоксиданта, диффузионный – мелатонин, липоевая кислота, витамин Е и дигидрокверцетин; кинетический – аскорбиновая кислота, селексен и витамин А.
10. Изучено влияние кислорода и устойчивого радикалаДФПГ на растворы антиоксидантов.
11. Определена антиоксидантная активность с использованием кинетического и емкостного критериев. Согласно критериям, наибольшую активность при реакциях с кислородом проявляют витамин С и селексен, наименее активны с кислородом витамин А, липоевая кислота и дигидрокверцетин.
12. По смещению потенциалов окисления и/или восстановления найдены константы устойчивости комплексов, образующихся при взаимодействии антиоксиданта с кислородом иДФПГ.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- 1 Кирова, Ю.И. Антиоксидантное и антитоксическое действие новых селеноорганических соединений: дис. канд. биол. наук. / Ю.И. Кирова. – Ростов-на-Дону, 2014. – 261 с.
- 2 Медведев, Ю.В. Гипоксия и свободные радикалы в развитии патологических состояний организма / Ю.В. Медведев, А.Д. Толстой –М.: Изд-во ООО Терра, 2000. – 232 с.
- 3 Ягодин, Б.А. Микроэлементы в сбалансированном питании растений, животных и человека / Б.А. Ягодин // Химия в сельском хозяйстве. – 1995. –№ 4. – С. 18–20.
- 4 Кудревич, Ю.В. Хирургическая тактика и лечение больных с местнораспространенными тимоматами: дис. канд. мед. наук. / Ю.В. Кудревич. – СПб, 2008. –179 с.
- 5 Wonh, S.P., Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants / S.P. Wonh, L.P. Leong, J.W. Koh // Food Chemistry. –2006. –V. 99, N 4, –P. 776–783.
- 6 Halliwell, B. Free Radicals in Biology and Medicine (4th edn) / B. Halliwell, J. Gutteridge – Oxford University Press, 2007. – P. 851.
- 7 Чеснокова, Н.П. Общая характеристика источников образования свободных радикалов и антиоксидантных систем / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, М.Н. Бизенкова, // Успехи современного естествознания. –2001. – № 7, –С. 37–41.
- 8 Шольц, Ф. Электроаналитические методы. Теория и практика / Ф. Шольц // Пер. с англ. под ред. В.Н. Майстренко. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. – 2010. – 326 с.
- 9 Janz, GJ, Reference electrodes / DJ. Ives // Academic Press, New York. Southampton electrochemistry group (1985) Instrumental methods in electrochemistry. Ellis Horwood, Chichester, ch. 11
- 10 Колотыркин, Я.М. Электрохимия металлов в неводных растворах / Я.М. Колотыркин // М.: Мир, 1974. –440 с.
- 11 Schleisier, K. Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods / K. Schleisier, M. Harwat, V. Bohm //Free Radic. Res.-2002. –V. 36, -P. 177–187.
- 12 Huang, D. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays / D. Huang, B. Ou, R. L. Prior // Food Chem., –2005. –V. 53, –P.1841–1856.
- 13 Хасанов, В.В. Методы исследования антиоксидантов / В.В. Хасанов, Г.Л. Рыжова, Е.В. Мальцева // Химия растительного сырья. –2004. –№ 3, –С. 63–75.
- 14 Müller, L. Comparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay (aTEAC), DPPH assay and peroxy radical scavenging assay / L. Müller, K. Frühlich, V. Bühm //Food Chemistry. –2011. –V. 129, –P. 139–148.

- 15 Alam, M.N. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity / M.N. Alam, N.J. Bristi, M. Rafiquzzaman // Saudi pharmaceutical. –2013. –V. 21, –P. 143–152.
- 16 Antolovich, M. Methods for testing antioxidant activity / M. Antolovich, P. D. Prenzler, E. Patsalides et al. // Analyst. –2002. –V. 127, –P. 183–198.
- 17 Apak, R. Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity (IUPAC Technical Report) / R. Apak, S. Gorinstein, V. Böhm et al. / Pure Appl. Chem. –2013. –V. 85, N 5, –P. 957–998.
- 18 Alam, M.N. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity / M.N. Alam, N.J. Bristi, M. Rafiquzzaman // Saudi Pharm. J. –2013. –V. 21, –P. 143–152.
- 19 Godbout, J.P. Alphatocopherol reduces lipopolysaccharide-induced peroxide radical formation and interleukin-6 secretion in primary murine microglia and in brain / J.P. Godbout, B.M. Berg, K.W. Kelley et al. // *J Neuroimmunol.* –2004. –V. 149, –P. 101–109.
- 20 Kedare, S.B. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay / S.B. Kedare, R.P. Singh // *J. Food Sci Technol.* –2011. –V. 48, N 4, –P. 412–422.
- 21 Gülçin, İ. Antioxidant activity of food constituents: an overview / İ. Gülçin // *Arch Toxicol.* –2012. –V. 86, –P. 345–391.
- 22 Sendra, J.M. Reduction kinetics of the free stable radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) for determination of the antiradical activity of citrus juices / J.M. Sendra, E.Sentandreu, J.L. Navarro // *Eur. Food Res. Technol.* –2006. –V. 223, –P. 615–624.
- 23 Parry, J. Fatty acid composition and antioxidant properties of cold-pressed marionberry, boysenberry, red raspberry, and blueberry seed oils / J. Parry, L. Su, M. Luther et al. // *J Agric Food Chem.* –2005. –V. 53, –P. 566–573.
- 24 Prior, R.L. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements / R.L. Prior, X. Wu, K. Schaich // *J Agric Food Chem.* –2005. –V. 53, –P. 4290–4302.
- 25 Zhuang, Q. The voltammetric behaviour of solid 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) microparticles / Q. Zhuang, F. Scholz, F. Pragst // *Electrochemistry Communications.* –1999. –V. 1, –P. 406–410.
- 26 Донцов, В.И. Активные формы кислорода как система: значение в физиологии, патологии и естественном старении / В.И. Донцов, В.Н. Крутько, Б.М. Мрикаев и др. // *Труды ИСА РАН.* –2006. –Т. 19, –С. 50–69.
- 27 Gurjar, M.V. Role of reactive oxygen species in IL-1 beta-stimulated sustained ERK activation and MMP-9 induction / M.V. Gurjar, J. Deleon, R.V. Sharms et al. // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* –2001. –V. 281, N 6. –P. H2568–H2574.
- 28 Пат. 2315612 Российская Федерация, МПК51. А61Р 27/06. Средство для лечения заболеваний глаз / В.П. Тихонов, Н.А. Тюкавкина. № 2006131038/15; заявл. 29.08.2006; опубл. 27.01.2008, Бюл. № 3. – 5 с.
- 29 Мизерницкий, Ю.Л. Иммунологические и метаболические особенности детей с частыми заболеваниями органов дыхания и оценка эффективности дифференцированного комплексного оздоровления с включением селексена с

- аскорбиновой кислотой / Ю.Л. Мизерницкий, И.М. Мельникова, Н.Л. Доровская и др. // Пульмонология. –2007. –№ 4, –С. 46–51.
- 30 Мизерницкий, Ю.Л. Клиническая и иммунометаболическая эффективность селен-актива в комплексе восстановительного лечения детей дошкольного возраста с рецидивирующими и хроническими заболеваниями органов дыхания / Ю.Л. Мизерницкий, И. М. Мельникова, Н. Л. Доровская и др. // Российский вестник перинатологии и педиатрии. –2007. –Т. 52, № 2, –С. 24–29.
- 31 Пат. 2414215 Российская Федерация, МПК51. Средство для улучшения и/или восстановления репродуктивной функции / Р.А. Розиев, А.Я. Гончарова, В.К. Подгородниченко и др. № 2009135559/15; заявл. 24.09.2009; опубл. 20.03.2011, Бюл. № 8. – 6 с.
- 32 Пат. 2423054 Российская Федерация, МПК51. Пищевой эмульсионный продукт / Д.А. Самариенкин. № 2007113157/15; заявл. 09.04.2007; опубл. 10.11.2008, Бюл. № 19. – 9 с.
- 33 Пат. 2462544 Российская Федерация, МПК51. Наноэмульсия с биологически активными веществами / О.Н. Пожарицкая, М.В. Карлина, А.Н. Шишков и др. № 2009122076/10; заявл. 08.06.2009; опубл. 10.07.2011, Бюл. № 12. – 5 с.
- 34 Олива, Т.В. Использование препарата «Селексен» при выращивании циплят-бройлеров. / Т.В. Олива, Г.И. Горшков // Вестник Московского государственного областного университета. Серия: естественные науки. –2013. –№ 16, –С. 28–33.
- 35 Гулюшин, С.Ю. Состояние системы антирадикальной защиты у бройлеров при применении селеносодержащих препаратов на фоне токсичных кормов / С.Ю. Гулюшин, В.О. Ковалев // Сельскохозяйственная биология. –2009. –№ 4, –С.14–25.
- 36 Галочкин, В.А. Метаболические трансформации селена и биологическая функция селенопирана / В.А. Галочкин, В.П. Галочкина // Проблемы биологии продуктивных животных. –2008. –№ 4, –С. 3–20.
- 37 Короткова, Е.И. Вольтамперометрический метод определения суммарной активности антиоксидантов в объектах искусственного и природного происхождения: дис. докт. хим. наук. / Е.И. Короткова. – Томск, 2009. – 400 с.
- 38 Маслов, С.Г. Изменение антиоксидантной активности гуминовых и фульвокислот в процессе хранения / С.Г. Маслов, С.А. Кусмауль, О.А. Воронова и др. // Химия растительного сырья. –2013. –№ 4. –С. 193–199.
- 39 Короткова, Е.И. Вольтамперометрический способ определения суммарной антиоксидантной активности объектов / Е.И. Короткова, А.Н. Лукина (Вторушина), Л.А. Гончаров // Материалы научно-практического семинара «Методы оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ лечебного и профилактического назначения». – М., –2004. –С. 182–194.
- 40 Vaz, A.D. Hydrocarbon formation in the reductive cleavage of hydroperoxides by cytochrome P-450 / A.D. Vaz, Coon M.J. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. –1987. – V.84, –P. 1172-1176.

- 41 Cadwell J., Parkash M.K. in Perspective in Medicinal Chemistry, Ed. B.T. esta, Fuhrer W., Kuburtz E, Biger R., Weibhelm N.Y., Basel, Cambridge, 1993, 575.
- 42 Murakami Y., Kikuchi J., Yhisaeda, Hayashida O. Chem Rev. 1996. 96, 721.
- 43 N.A. Macias-Ruvalcaba, D.H. Evans. Study of the effects of ion pairing and activity coefficients on the separation in standard potentials for two-step reduction of dinitroaromatics // J. Phys. Chem. B. – 2005. –V. 109. – P. 14642-14647.
- 44 Takagi, H.D. Mechanistic study of oxidation reactions of hydroquinone, catechol, and L-ascorbic acid by dicyanobis(1,10-phenanthroline)iron(III) in dimethyl sulfoxide / H.D. Takagi, N. Kagayama, M. Matsumoto et al. // J. of Molecular Liquids. –1995. – V. 65. –P. 277–280.
- 45 Бачурин, С.О. Медико-химические подходы к направленному поиску препаратов для лечения и предупреждения болезни Альцгеймера / С.О. Бачурин // Вопросы медицинской химии. –2001. –Т. 47. –С. 155–197.
- 46 Speiser, B. Phenoxy Cations in the Anodic Oxidation of Phenolic Compounds / B. Speiser, A. Rieker // J. Chem. Res. (S), –1977. –P. 314–315.
- 47 Nordberg, J. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system / J. Nordberg, E.S. Arner // Free Radic Biol Med. –2011. –V. 31, N 11. –P. 1287–1312.
- 48 Takagi, H.D. Mechanistic study of oxidation reactions of hydroquinone, catechol, and L-ascorbic acid by dicyanobis(1,10-phenanthroline)iron(III) in dimethyl sulfoxide / H.D. Takagi, N. Kagayama, M. Matsumoto et al. // J. of Molecular Liquids. –1995. – V. 65. –P. 277–280.
- 49 Бачурин, С.О. Медико-химические подходы к направленному поиску препаратов для лечения и предупреждения болезни Альцгеймера / С.О. Бачурин // Вопросы медицинской химии. –2001. –Т. 47. –С. 155–197.
- 50 Sawyer, D. Oxidation of ascorbic acid and dehydroascorbic acid by superoxide ion in aprotic media / D. Sawyer, G. Chiericato, T. Tsuchiya // J. Am. Chem. Soc. –1982. – V. 104, N 23. –P. 6273–6278
- 51 Korotkova, E.I. Study of antioxidant properties of flavonoids by voltammetry / E.I. Korotkova, O.A. Voronova, E.V. Dorozhko // J Solid State Electrochem. -2012. –V. 16. –P. 2435–2440.
- 52 Gagne, R.R. Ferrocene as an internal standard for electrochemical measurements / R.R. Gagne, C.A. Koval, G.C. Lisensky // Inorg. Chem. -1980. –V. 19, N 9. –P. 2854–2855.
- 53 Vasudevan, D. Electroreduction of oxygen in aprotic media / D. Vasudevan, H. Wendt // J. of Electroanalytical Chem. –1995. –V. 392. –P. 69-74.
- 54 Bonifacic M. One-electron redox potentials of $RSSR^{+} - RSSR$ couples from dimethyl disulphide and lipoic acid / M. Bonifacic, K.D. Asmus // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2. –1986. –P. 1808–1809.
- 55 Сыроешкин, М.А. Количественные закономерности электрохимического восстановления изомерных динитробензолов в неводной среде: дис. канд. хим. наук. / М.А. Сыроешкин. – Москва, 2009. – 123 с.