

Высокомолекулярные соединения

Серия А

ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ, Серия А, 1997, том 39, № 10, с. 1573–1577

СИНТЕЗ И ХИМИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ

УДК 541.64:543.943:547.565

Антиокислительные свойства полимерных пространственно-затрудненных фенолов на основе сополимеров N-венилпирролидона

© 1997 г. Н. С. Домнина*, Е. А. Комарова*, Д. В. Арефьев*, О. В. Назарова**,
И. С. Кошеткова**

* Санкт-Петербургский государственный университет. Химический факультет
198904 Санкт-Петербург, Петродворец, Университетский пр., 2

** Институт высокомолекулярных соединений Российской академии наук
199004 Санкт-Петербург, Большой пр., 31

Поступила в редакцию 27.02.97 г.
Принята в печать 19.03.97 г.

Исследована антиокислительная активность и активность в отношении радикала дифенилпикрилгидразила водорастворимых полимерных производных пространственно-затрудненных фенолов на основе функциональных сополимеров N-венилпирролидона. Показано, что скорость взаимодействия свободных радикалов с указанными полимерными производными определяется типом связи полимер-фенол и природой реакционной среды. Найдено, что ММ изученных полимеров и содержание в них фенола существенно не сказываются на скорости реакции с радикалами.

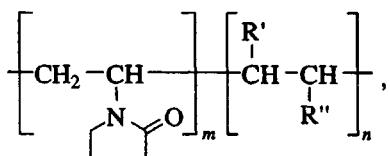
Интенсивность свободнорадикальных процессов, непрерывно протекающих во всех тканях живого организма, играет важную роль при старении и в развитии ряда патологических состояний – росте злокачественных опухолей, радиационном поражении, мутагенезе, действии некоторых отравляющих веществ и т.д. В биологических объектах регуляция свободнорадикальных процессов осуществляется с помощью антиоксидантных систем, способных к взаимодействию с радикалами разного типа [1].

Известно, что применение полимерных форм биологически активных веществ позволяет варьировать их биотранспортные и фармакокинетические свойства, создавать высокие локальные концентрации активного вещества близи мишени его действия, использовать и другие преимущества макромолекулярных систем [2]. Вместе с тем производные антиоксидантов на основе гидрофильных полимеров изучены мало. Так, водорастворимым полимерным антиоксидантам из класса пространственно-затрудненных фенолов (ПЗФ) посвящены работы [3–9], однако оценка важнейшей характеристики синтезированных полиантиоксидантов, их способности к взаимодей-

ствию со свободными радикалами проведена лишь для производных ПЗФ на основе поликарболовой кислоты [8] и сополимера диметилдиаллиламмонийхлорида с акриловой кислотой [7].

Настоящая работа посвящена исследованию антиокислительной активности и активности в отношении радикала дифенилпикрилгидразила (ДФПГ) водорастворимых полимерных ПЗФ на основе функциональных сополимеров N-венилпирролидона (ВП).

В качестве полимеров-носителей использовали сополимеры ВП с кротоновой кислотой, акрилоном, виниламином



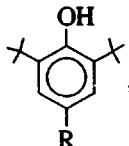
где $\text{R}' = \text{H}, \text{CH}_3$; $\text{R}'' = -\text{COOH}, -\text{COH}, -\text{NH}_2$.

Полимерные производные антиоксидантов получали взаимодействием указанных сополимеров и

Таблица 1. Антиокислительная активность полимерных ПЗФ

Опыт	ПЗФ	Исходные сополимеры ВП			Полимерные антиоксиданты			
		реактивное звено	содержание, мол. %	$M \times 10^{-3}$	тип связи полимер–ПЗФ	содержание ПЗФ	N	
мас. %	мол. %							
1	—	Кротоновая кислота	11.5	11	—	—	0	
2	АМФ	То же	11.5	11	$\text{O}=\text{C}-\text{NH}-$	4.5	1.9	
3	ГФ	»	11.5	11	$\left\{ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C}-\text{NH}-\text{NH}-\text{C} \end{array} \right.$	7.7	3.1	
4	ГФ	»	13.8	105	$\left\{ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C}-\text{NH}-\text{NH}-\text{C} \end{array} \right.$	7.4	2.9	
5	—	Акролеин	14.0	40	—	—	0	
6	АМФ	»	14.0	40	$\text{CH}=\text{N}-$	5.5	2.3	
7	ГФ	»	14.0	40	$\text{CH}=\text{N}-\text{NH}-\text{C}=\text{O}$	2.8	1.0	
8	—	Виниламин	15.2	41	—	—	0.41	
9	АЛФ	»	15.2	41	$\text{N}=\text{CH}-$	2.3	1.1	
10	АЛФ	»	15.2	41	$\text{NH}-\text{CH}_2-$	2.3	1.1	
11	Феноксан	—	—	—	—	—	0.72	

ПЗФ, содержащих функциональные группы – аминную, гидразидную или альдегидную [5]:



где $R = -(CH_2)_3NH_2$ (АМФ), $-(CH_2)_2CONHNH_2$ (ГФ), $-CHO$ (АЛФ), $-(CH_2)_2COO^-K^+$ (феноксан). Водорастворимым низкомолекулярным аналогом не растворимых в воде АМФ, ГФ и АЛФ служил феноксан.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Полиантиоксиданты синтезировали, выделяли, очищали от низкомолекулярных соединений и характеризовали по методикам [5].

Антиокислительную активность полимерных ПЗФ определяли по методике [10], основанной на окислении в водных растворах Твина-80 (полиоксиэтиленсорбитанмоноолеата) кислородом воздуха в присутствии двухвалентного железа и аскорбиновой кислоты и последующем фотометрическом определении (спектрофотометр СФ-56) количества образовавшегося малонового альдегида. Антиокислительную активность N полимерных антиоксидантов характеризовали по уменьшению интенсивности поглощения комплекса малонового альдегида с 2-тиобарбитуровой кислотой при 532 нм ($\epsilon = 1.56 \times 10^5$ л/моль см)

в растворах, содержащих антиоксидант, по сравнению с контрольными опытами, согласно уравнению

$$N = 1 - a/b, \quad (1)$$

где a и b количество малонового альдегида, образовавшегося соответственно в анализируемом растворе и в контрольном опыте. Использовали Твин-80 фирмы "Ferak" с $M = 1.3 \times 10^3$.

Для оценки антирадикальной активности полимерных антиоксидантов в отношении свободного радикала ДФПГ рассчитывали константы скорости реакции ПЗФ с указанным радикалом. За скорость процесса следили по уменьшению во времени поглощения ДФПГ-радикала в его смесях с антиоксидантами при 520 нм [11, 12]. Реакцию проводили в термостатируемых кюветах спектрофотометра СФ-56 при 20°C. Концентрация ДФПГ в растворах составляла 2×10^{-5} моль/л, ПЗФ – 5×10^{-4} моль/л. В водно-диоксановых смесях $\epsilon_{\text{ДФПГ}} = 10200$ л/моль см. Использовали диоксан, очищенный непосредственно перед работой по методике [13], и ДФПГ фирмы "Aldrich".

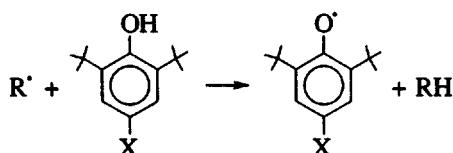
РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее [5] нами описан синтез на основе сополимеров ВП водорастворимых полимерных ПЗФ, различающихся типом и прочностью связей антиоксидант–полимер. Для определения возможности использования таких полимерных производных в качестве биоантиоксидантов представляло

интерес изучить их способность к взаимодействию с радикалами разных типов, в частности активность в ингибировании окислительных процессов и способность к реакциям со стабильными радикалами.

В табл. 1 приведены характеристики исходных полимеров-носителей, полученных на их основе полимерных ПЗФ и найденные значения антиокислительной активности. Видно, что исходные сополимеры ВП с кротоновой кислотой и акролеином (опыты 1 и 5), как и ожидалось, антиоксидантных свойств не проявляют, значения a и b в формуле (1) для этих сополимеров одинаковы. Для сополимера ВП с виниламином, однако, обнаружено (опыт 8) уменьшение значения a по сравнению со значением b в контрольном опыте, в то время как известно, что алифатические амины антиоксидантами не являются. Обнаруженный эффект, по-видимому, обусловлен побочным взаимодействием аминогрупп полимера с молекулами компонентов окислительной системы или 2-тиобарбитуревой кислоты.

Найдено, что введение АМФ и ГФ в состав сополимеров ВП-кротоновая кислота и ВП-акролеин сопровождается появлением у полимеров антиокислительных свойств. Известно [14], что взаимодействие ПЗФ со свободными радикалами сопровождается образованием малоактивных феноксильных радикалов, что и определяет ингибирующие свойства этих соединений в radicalных процессах:



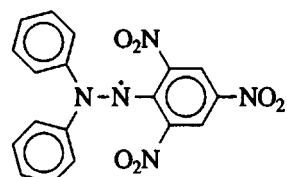
Как видно из табл. 1, полимерные ПЗФ значительно различаются по своей антиокислительной активности. Производные с амидными или диацилгидразинными связями полимер-антиоксидант (опыты 2–4) обладают значительно более низкой активностью, чем производные с азометиновыми связями (опыты 6, 7), причем активность последних приближается к значениям N низкомолекулярного водорастворимого аналога ГФ и АМФ – феноксана (опыт 11). Ранее [5] нами было показано, что полимерные ПЗФ с лабильными азометиновыми связями полимер-антиоксидант в отличие от ПЗФ с прочными диацилгидразинными связями подвергаются в водных растворах гидролизу с отщеплением низкомолекулярного антиоксиданта от полимерной цепи. Очевидно, более низкая антиокислительная активность полимерных ПЗФ с прочными негидролизуемыми связями между антиоксидантом и полимером обусловлена тем, что в водных растворах эти ПЗФ сохраняют свою макромолекулярную природу. Возможно, конформационные состояния исследуемых поли-

мерных цепей в водных растворах таковы, что доступ свободных радикалов к фенольным фрагментам затруднен, по-видимому, вследствие гидрофобных взаимодействий последних, что и понижает N .

Следует отметить, что значения антиокислительной активности, найденные для производных АМФ и ГФ как с прочными, так и с гидролизуемыми связями, близки для обоих ПЗФ (опыты 2, 3 и 6, 7). Величина ММ полимеров также заметно не сказывается на величине N (опыты 3, 4).

Для обоих полимерных производных АЛФ на основе сополимера ВП-виниламина как с лабильной азометиновой связью (опыт 9), так и с прочной связью $-\text{C}-\text{N}-$ (опыт 10) (полученного гидрированием полимера с азометиновой связью), рассчитанные по формуле (1) величины N несколько выше, чем у исходного сополимера ВП-виниламин, но практически совпадают между собой. По-видимому, в этом случае уже отмеченная выше некорректность использованной методики для аминосодержащих полимеров не позволяет адекватно оценить их антиокислительную активность.

В качестве модели для изучения активности производных ГФ на основе сополимеров ВП с кротоновой кислотой по отношению к радикалам использовали ДФПГ-радикал



ДФПГ-радикал не растворим в воде, поэтому предстояло решить проблему подбора растворителя. В работах [11, 12] изучено взаимодействие ДФПГ-радикала в неполярных средах – бензоле, четыреххлористом углероде, гексане. Некоторые авторы [15, 16] использовали в качестве растворителя этанол, однако известно [17], что

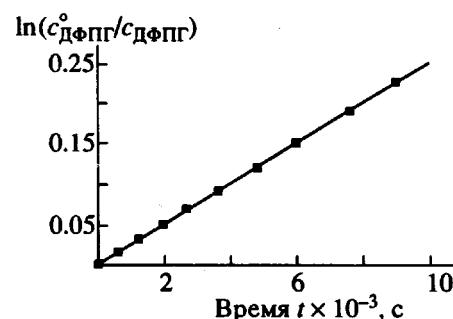


Рис. 1. Полулогарифмическая анаморфоза кинетической кривой расходования ДФПГ-радикала при его взаимодействии с низкомолекулярным ГФ в смеси вода : диоксан = 1 : 4. $[\text{ГФ}] = 5 \times 10^{-4}$, $[\text{ДФПГ}] = 2 \times 10^{-5}$ моль/л.

Таблица 2. Антирадикальная активность низкомолекулярного ГФ и его полимерных производных на основе сополимеров ВП-квасцовую кислоту

Опыт	Полимерное производное ГФ		Объемное соотношение вода : диоксан	k , л/моль с
	содержание ГФ	$M \times 10^{-3}$		
	мас. %	мол. %		
12	3.3	1.3	11	1 : 4 0.25
13	7.7	3.1	11	1 : 4 0.25
14	8.7	3.5	11	1 : 4 0.22
15	7.4	2.9	105	1 : 4 0.26
16	7.7	3.1	11	1 : 1 1.19
17	Низкомолекулярный ГФ		Диоксан	0.17
18	То же			1 : 4 0.25
19	»			1 : 1 2.76

ДФПГ-радикал вступает с ним во взаимодействие. Нами в контрольных опытах показано, что радикал ДФПГ устойчив в растворах диоксана и в смесях вода-диоксан, его концентрация в указанных растворителях не изменяется не менее 48 ч, оставаясь постоянной и при непрерывном воздействии на растворы излучения с $\lambda = 520$ нм (в течение не менее 3 ч). Сополимеры ВП не растворяются в диоксане, поэтому для изучения кинетики их взаимодействия с радикалом ДФПГ использовали водно-диоксановые смеси, в которых растворимы оба реагента.

Кинетику взаимодействия полимерных ПЗФ с ДФПГ-радикалом изучали в условиях псевдопервого порядка, используя 20-кратный избыток ПЗФ, при степени конверсии ДФПГ-радикала не выше 20%.

На рис. 1 в качестве примера приведена кинетическая кривая расходования ДФПГ-радикала при его взаимодействии с ГФ. Как видно, полученная зависимость $\ln c_{\text{ДФПГ}}^0/c_{\text{ДФПГ}}$ от времени взаимодействия в выбранных условиях соответствует кинетике псевдопервого порядка, т.е. выполняется уравнение

$$v = k' c_{\text{ДФПГ}} \quad (2)$$

Коэффициент корреляции при этом составляет 0.9998. Константы скорости реакции вычисляли по формуле

$$k = k'/c_{\text{ПЗФ}} \quad (3)$$

В табл. 2 представлены условия взаимодействия ДФПГ-радикала с полимерными производными ГФ и найденные значения констант скорости реакции. При этом установлено, что исходные сополимеры ВП-квасцовую кислоту не вступают во взаимодействие с радикалом ДФПГ, т.е. $k = 0$. Из данных таблицы следует, что в случае исполь-

зования в качестве растворителя смеси вода : диоксан = 1 : 4 (по объему), значения k для низкомолекулярного и связанного с полимером ГФ близки (опыты 13 и 18). Повышение содержания воды в смеси сопровождается ростом значений k (опыты 13, 16 и 17–19), но при этом константа скорости реакции низкомолекулярного ГФ увеличивается в большей степени, чем константа скорости реакции полимерного ПЗФ, и при соотношении вода : диоксан = 1 : 1 превышает последнюю более, чем в 2 раза (опыты 16 и 19). С ростом содержания диоксана в смеси снимаются, по-видимому, гидрофобные взаимодействия фенолсодержащих звеньев в полимерных ПЗФ, и тем самым скорости взаимодействия низкомолекулярного и полимерного ГФ с ДФПГ-радикалом сближаются. Повышение содержания воды сопровождается, очевидно, уменьшением энергии сольватации гидрофобных реагентов, что приводит к уменьшению энергии активации и, следовательно, к увеличению скорости реакции как немодифицированного, так и полимерного ГФ. Вместе с тем возрастание роли гидрофобных взаимодействий в случае полимерных производных ГФ может приводить к конформациям, препятствующим свободному доступу радикалов к фенольным фрагментам, и понижать скорость реакции ДФПГ-радикала с полимерными ГФ.

Содержание ГФ в полимерных производных и величина их ММ существенно не влияет на значения k исследованных полимеров (опыты 12–15).

Таким образом, проведенное исследование показывает, что синтезированные полимерные ПЗФ на основе сополимеров ВП способны эффективно взаимодействовать с радикалами разных типов. Их антиокислительная и антирадикальная активность определяется типом связи полимер–антисадант и конформационными состояниями макромолекул в растворе.

Авторы выражают благодарность Е.Ф. Панарину за участие в дискуссии и полезные советы и замечания, а также О.П. Горбуновой и И.И. Гавриловой за предоставленные сополимеры ВП-винилами и ВП-акролеин.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бурлакова Е.В. // Успехи химии. 1975. Т. 44. № 10. С. 1871.
- Платэ Н.А., Васильев А.Е. Физиологически активные полимеры. М.: Химия, 1986.
- Бахитова Л.М., Дробченко С.Н. // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1993. № 4. С. 613.
- Бочков А.Ф., Строганова Н.С. А. с. 891702 СССР. 1981 // Б.И. 1981. № 47. С. 113.
- Назарова О.В., Домнина Н.С., Комарова Е.А., Панарин Е.Ф. // Журн. прикл. химии. 1994. Т. 67. № 5. С. 843.

6. Домнина Н.С., Карпова С.В., Комарова Е.Л. // Журн. прикл. химии. 1995. Т. 68. № 3. С. 494.
7. Один А.П., Александрова В.А., Лебедев А.В., Топчев Д.А., Котлярова Е.Б., Шевченко В.А. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1995. Т. 120. № 9. С. 265.
8. Мусатов П.П., Михайлов Д.А., Рогинский В.А. // Тез. докл. IV Всесоюз. конф. "Биоантиоксидант". М., 1993. Т. 1. С. 210.
9. Свиридов Б.Д., Скворцов В.Ю., Атауллаханов Р.И., Некрасов А.В., Мастернак Т.Б., Ларин А.С., Китаева М.Н., Панарин Е.Ф., Иванова А.С., Садовникова И.П., Горянинов Д.А., Наджарян Т.Л. // Иммунология. 1986. № 2. С. 25.
10. Благородов С.Ф., Шепелев А.П., Дмитриева Н.А., Чернавская Л.Н., Коблик А.В., Суздалев К.Ф., Ходлова Н.В., Кузнецов Е.В., Брењ Ж.В., Цхакадзе К.А., Брењ В.А. // Хим.-фармацевт. журн. 1987. Т. 21. № 3. С. 292.
11. Boguth W., Repges R. // Interkat. Z. Vit. Forshung. 1969. B. 39. № 2. S. 292.
12. Лебедев А.В., Богуславская Л.В., Левицкий Д.О., Максимов В.А. // Биохимия. 1988. Т. 53. № 4. С. 598.
13. Органикум. М.: Мир, 1979. Т. 2. С. 361.
14. Ершов В.В., Никифоров Г.А., Володькин А.А. Пространственно-затрудненные фенолы. М.: Химия, 1972.
15. Починок Т.В., Тарховский М.А., Портнягина В.А., Денисова М.Ф., Восняцкий В.А., Александрова А.Н., Мельничук В.А. // Хим.-фармацевт. журн. 1985. Т. 19. № 5. С. 565.
16. Schenk J. // Talanta. 1967. V. 14. № 2. S. 257.
17. Розанцев Э.Г., Шолле В.Д. Органическая химия свободных радикалов. М.: Химия, 1979.

Antioxidative Properties of Polymeric Sterically Hindered Phenols Based on N-Vinylpyrrolidone Copolymers

N. S. Domnina*, E. A. Komarova*, D. V. Aref'ev*, O. V. Nazarova**, and I. S. Kochetkova**

* Department of Chemistry, St. Petersburg State University (Petrodvorets Branch),
Universitetskii pr. 2, Petrodvorets, 198904 Russia

** Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences,
Bol'shoi pr. 31, St. Petersburg, 199004 Russia

Abstract—The antioxidative activity and the activity with respect to a diphenylpicrylhydrazyl radical of water-soluble polymeric derivatives of sterically hindered phenols based on the functional copolymers of N-vinylpyrrolidone were studied. It was shown that the rate of the reaction between the free radicals and the given polymeric derivatives is determined by the type of polymer–phenol bond and the nature of the reaction medium. It was found that the molecular masses of the studied polymers and the content of phenol in these polymers insignificantly affect the rate of the radical reaction.