

УДК 547.22:541.13:541.8:541.127

О.В. Смирнова, И.В. Ефимова, канд. хим. наук, ст. науч. сотр.,
И.А. Опейда, д-р хим. наук, профессор (Институт физико-органической химии и углехимии им. Л.М. Литвиненко НАН Украины, г. Донецк)

ОСОБЕННОСТИ РАДИКАЛЬНО-ЦЕПНОГО ОКИСЛЕНИЯ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В АПРОТОННОЙ СРЕДЕ

Газоволюмометрическим методом изучен процесс иницированного окисления аскорбиновой кислоты кислородом в апротонной среде в гомофазных условиях. Предложена схема иницированного радикально-цепного окисления аскорбиновой кислоты в апротонной среде.

Ключевые слова: аскорбиновая кислота, радикально-цепное окисление, кинетика.

Среди разнообразных органических соединений, используемых в качестве антиоксидантов, в центре внимания, по-прежнему, остаются вещества природного происхождения. Особый интерес среди природных антиоксидантов вызывает аскорбиновая кислота (АК), которая способна обратимо окисляться в дегидроаскорбиновую кислоту (ДАК). Считается [1, 2], что вместе они представляют эффективную окислительно-восстановительную систему, обладающую высокой витаминной активностью. За последние годы в изучении детального механизма действия этого ингибитора получены новые важные результаты [3-5], согласно которым АК подвергается обратимому окислительно-восстановительному процессу с образованием промежуточных свободных радикалов (схема 1).

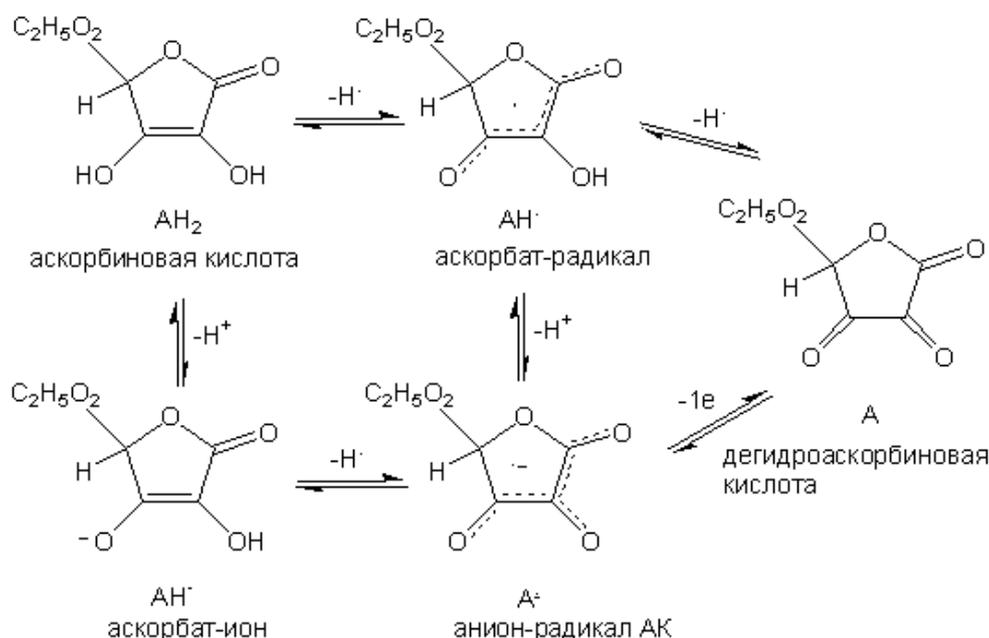
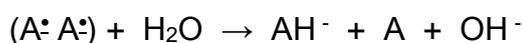
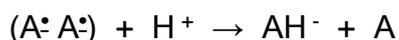
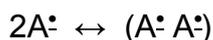


Схема 1. Ионные и радикальные формы АК.

Необычные биологические свойства АК, направленные на защиту от свободно-радикальной деструкции, скорее всего, связаны с эффективностью АК в качестве ловушки радикалов и стабильностью ее анион-радикала (А^{·-}). Анион-радикал АК реагирует преимущественно с самим собой и таким образом прекращает развитие свободно-радикальных реакций. Авторами [6] предложен механизм рекомбинации анион-радикала АК в протонных средах:



Эта схема подтверждается несколькими исследованиями [7-9], которые продемонстрировали, что анион-радикал АК является основным продуктом при взаимодействии АК с несколькими окислительно-восстановительными системами в протонных средах. Также показано, что АК является хорошим восстановителем и ее анион-радикал наиболее стабильный радикал в каждой из исследуемых систем. Из-за своей стабильности анион-радикал АК является одной из немногих частиц, наблюдаемой методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) в тканях [10]. Вместе с тем в апротонных системах процесс окисления АК остается малоизученным.

Целью настоящего исследования является процесс инициированного радикально-цепного окисления АК молекулярным кислородом в апротонной среде.

Экспериментальная часть

Радикально-цепное окисление АК изучали в смеси диметилсульфоксида (ДМСО) и хлорбензола (ХБ), так как в хлорбензоле АК слабо растворима и для обеспечения гомофазных условий проведения процесса в качестве реакционной среды использовали ДМСО, в котором АК полностью растворима в выбранном диапазоне концентраций. Кроме этого известны [11] спектральные характеристики образующихся в ДМСО форм АК. В качестве инициатора использовали азодиизобутиронитрил (АИБН). Концентрация АИБН в исследуемых системах составляла $2,00 \cdot 10^{-2}$ моль/л, концентрация АК варьировалась в пределах 0,01-0,3 моль/л. В работе использовались АИБН, ХБ, ДМСО, очищенные согласно методике [12], АК (ФС 42-2668-89), удельное вращение $+ 20,9 \pm 0,4$.

За кинетикой процесса окисления следили газовойолунометрически, измеряя количество поглощенного кислорода исследуемыми системами при постоянной температуре 348 К и постоянном парциальном давлении кислорода 760 мм. рт. ст. на установке, описанной в [13]. Изучение процесса в гомогенных условиях проводилось в кинетической области, где скорость реакции перестает зависеть от скорости перемешивания. Скорость поглощения кислорода исследуемой системой определяли по тангенсу угла наклона кинетической кривой.

Продукты окисления АК идентифицировали ЯМР-спектроскопическим методом. Спектры ЯМР ^{13}C регистрировали на приборе Bruker DRX-400 (100 МГц) в ДМСО-d₆, используя остаточные сигналы растворителя в качестве внутреннего стандарта (40,0 м. д. для ядер ^{13}C).

Результаты и их обсуждение

Как уже отмечалось выше, за последние несколько десятилетий появился ряд работ, касающихся механизмов окисления органических веществ в жидкой фазе. Кроме того, в литературе [14–16] описано окисление АК системами, содержащими анион-радикал кислорода, и предложены механизмы окисления АК в водных и апротонных средах, согласно которым супероксид анион образовывается как промежуточный продукт.

Основываясь на литературных данных можно предложить схему радикально-цепного инициированного окисления аскорбиновой кислоты в апротонной среде состоящую из последовательности свободно-радикальных реакций, которые описываются следующими уравнениями:



Согласно приведенной схеме, поглощение кислорода исследуемой системой происходит только по реакциям 2 и 4. Данную схему можно дополнить уравнениями, описывающими образование анион-радикала кислорода и его взаимодействие с AH_2 и AH^{\bullet} [16]. Но мы считаем это не целесообразным, так как реакции преобразований супероксид-аниона не учитывают поглощение кислорода исследуемой системой, и потому не входят в уравнение для расчета скорости окисления АК кислородом. Кроме того, тест на гидропероксиды, которые образуются по реакциям 5 и 6, отрицателен. Это обусловлено гибелью гидропероксидов на молекулах растворителя по реакции 8.

В данной работе ЯМР-спектроскопическим методом идентифицированы продукты окисления АК в апротонной среде. В таблице 2 приведены данные по ^{13}C ЯМР спектрам L-аскорбиновой кислоты (L-АК), L-дегидроаскорбиновой кислоты (L-ДАК) и дикетогулоновой кислоты (ДКГК), которая получается при дальнейшем окислении ДАК, а также исследуемой системы до окисления (исходная АК) и окисленной системы (продукт). Как видно из таблицы 2, полученный в ходе эксперимента продукт имеет схожие химические сдвиги с L-ДАК, предполагая аналогичную структуру. Таким образом, доказано, что в данных условиях АК окисляется только до ДАК.

Таблица 2 Данные по ^{13}C ЯМР спектрам L-аскорбиновой кислоты (L-АК), L-дегидроаскорбиновой кислоты (L-ДАК) и дикетогулоновой кислоты (ДКГК), а также исследуемой системы до окисления (исходная АК) и окисленной системы (продукт)

Идентифицируемое вещество	Химические сдвиги, δ, м. д.						Л-ра
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	
L-АК	173,8	118,3	156,1	76,7	69,4	62,6	[17]
исходная АК	170,68	117,23	152,95	74,59	68,31	61,95	эксп.
L-ДАК	173,6	91,4	105,7	87,6	73,0	76,2	[17]
ДКГК	174,5	94,7	94,4	74,6	68,6	62,5	[17]
продукт	171,28	92,21	102,97	84,59	69,78	75,15	эксп.

На рисунке 1 представлены характерные кинетические кривые поглощения кислорода изучаемой системой АИБН – АК – ХБ – ДМСО. Зависимость объема поглощенного кислорода окисляемой смесью от времени носит линейный характер на протяжении всего времени измерения кинетики окисления. Наблюдается увеличение скорости поглощения кислорода реакционной смесью с ростом концентрации АК в ее составе в пределах 0,01-0,30 моль/л.

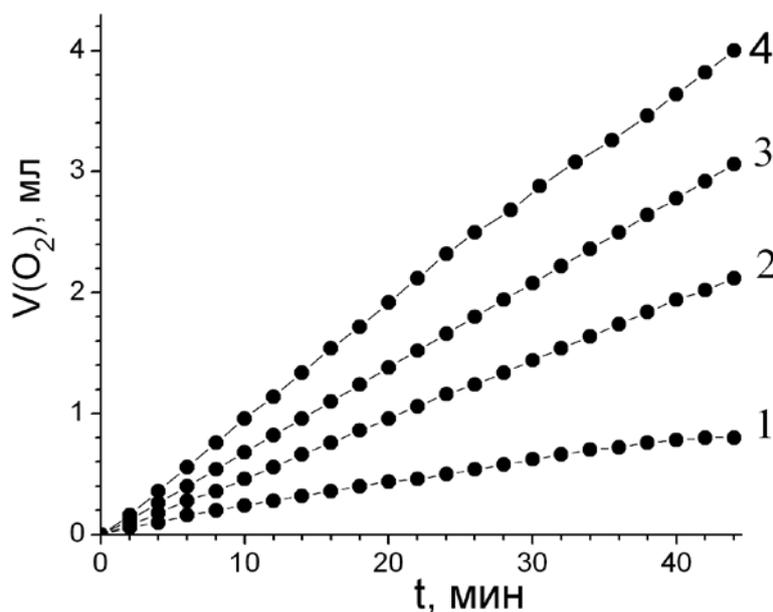


Рис. 1. Кинетические кривые поглощения кислорода системой АИБН - ХБ - АК – ДМСО при варьировании концентрации АК в диапазоне 0,01 - 0,3 моль/л:
1 - 0,02 моль/л, 2 - 0,10 моль/л, 3 - 0,20 моль/л, 4 - 0,24 моль/л.
[АИБН] = $2,00 \cdot 10^{-2}$ моль/л, ДМСО – ХБ [1:1], 348 К.

Зависимость скорости поглощения кислорода исследуемой системой от концентрации АК носит линейный характер и с высокой точностью описывается уравнением:

$$W_{[O_2]} \cdot 10^6 = 11,69 \cdot [АК] + 0,36$$

Скорость поглощения кислорода, определяемая газовойолюмометрическим методом, равна [13]:

$$W_{[O_2]} = W - W_i/e + 2W_i$$

Величина W_i/e – поправка на выделение азота при распаде инициатора АИБН (реакция 1), e – выход радикалов инициатора из клетки, $e_{348} = 0,54$ [18]. Вторая поправка $2W_i$ обусловлена поглощением кислорода радикалами инициатора по реакции 2. Учитывая обе поправки, уравнение скорости окисления АК имеет вид:

$$W = W_{[O_2]} - 0,15W_i \quad (9)$$

Скорость инициирования (W_i) составляет $1,811 \cdot 10^{-6}$ моль/(л·с). Используя полученное уравнение 9, можно рассчитать скорость (W) окисления АК. Полученные результаты приведены в таблице 2.

Таблица 2 Кинетические параметры ($W_{[O]}$, W) окисления системы АИБН – ХБ - АК – ДМСО в зависимости от концентрации аскорбиновой кислоты ($[AK]$)

$[AK] \cdot 10^2$, моль/л	$W_{[O]} \cdot 10^6$, моль/(л·с)	$W \cdot 10^6$, моль/(л·с)
0	0	0
1,28	0,35±0,03	0,08±0,01
1,87	0,49±0,05	0,22±0,03
9,71	1,47±0,07	1,20±0,07
14,25	2,05±0,08	1,78±0,08
19,14	2,62±0,10	2,35±0,10
23,70	3,11±0,12	2,84±0,12
25,00	3,20±0,14	2,93±0,14

Примечание: $[АИБН] = 2,00 \cdot 10^{-2}$ моль/л, ДМСО – ХБ [1:1], 348 К;
 $W_{[O]}$ - скорость поглощения кислорода, моль/(л·с);
 W - скорость окисления аскорбиновой кислоты, моль/(л·с);

Зависимость скорости окисления АК от концентрации носит линейный характер (рисунок 2) и с высокой точностью описывается уравнением:

$$W \cdot 10^6 = 11,69 \cdot [AK] + 0,09$$

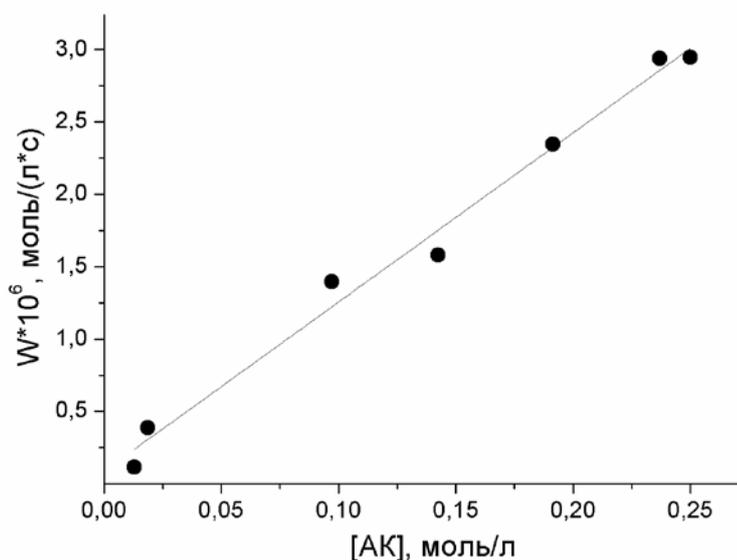


Рис. 2. Зависимость скорости окисления аскорбиновой кислоты (W) от концентрации ($[AK]$).

$[АИБН] = 2,00 \cdot 10^{-2}$ моль/л, ДМСО – ХБ [1:1], 348 К.

Таким образом, изучено инициированное АИБН окисление АК в апротонной среде. Определены кинетические параметры данного процесса. Показано, что при концентрациях выше 0,2 моль/л процесс становится цепным.

Список использованной литературы

1. Fotia M.C. Non-phenolic radical-trapping antioxidants [Text] / M.C. Fotia, R. Amorati // J. Pharm. Pharmacol. — 2009. — Vol. 61. — P. 1435–1448.
2. Liu Y.C. Radical intermediates and antioxidant activity of ascorbic acid [Text] / Y.-Ch. Liu, Z.-L. Liu, Zh.-X. Han // Reviews of Chemical Intermediates. — 1988. — Vol. 10. — P. 269–289.
3. Kinetics and Mechanism of the Oxidation of Ascorbic Acid in Aqueous Solutions by a trans-Dioxoruthenium (VI) Complex [Text] / Y.-N. Wang, K.-Ch. Lau, W.W.Y. Lam [et al] // Inorg. Chem. — 2009. — Vol. 48, № 1. — P. 400–406.
4. Hyperpolarized $[1-^{13}\text{C}]$ -Ascorbic and Dehydroascorbic Acid: Vitamin C as a Probe for Imaging Redox Status in Vivo [Text] / S.E. Bohndiek, M.I. Kettunen, D. Hu [et al] // J. Am. Chem. Soc. — 2011. — Vol. 133. — P. 11795–11801.
5. Bielski B.H.J. Chemistry of Ascorbic Acid Radicals [Text] / B.H.J. Bielski // Ascorbic Acid: Chemistry, Metabolism, and Uses; Advances in Chemistry; American Chemical Society: Washington, D.C. — 1982. — P. 81-100.
6. Bielski B.H.J. Mechanism of Disproportionation of Ascorbate Radicals [Text] / B.H.J. Bielski, A.O. Allen, H.A. Schwarz // J. Am. Chem. Soc. — 1981. — Vol. 103. — P. 3516-3518.
7. Kirino Y. Electron spin resonance spectra of radicals related to the intermediates in the oxidation of ascorbic acid. Radical produced from γ -methyl- α -hydroxytetronic acid [Text] / Y. Kirino, Robert H. Schuler // J. Am. Chem. Soc. — 1973. — Vol. 95, № 21. — P. 6926–6928.
8. Cabelli D.E. Kinetics and Mechanisms for the Oxidation of Ascorbic Acid / Ascorbate by HO_2/O_2^- Radicals. A Pulse Radiolysis and Stopped-Flow Photolysis Study [Text] / D.E. Cabelli, B.H.J. Bielski // J. Phys. Chem. — 1983. — Vol. 87. — P. 1809–1814.
9. Kinetics and Mechanism of the Oxidation of Ascorbic Acid in Aqueous Solutions by a trans-Dioxoruthenium (VI) Complex [Text] / Y.-N. Wang, K.-Ch. Lau, W.W.Y. Lam [et al] // Inorg. Chem. — 2009. — Vol. 48, № 1. — P. 400–406.
10. Yuan J.-P. Degradation of Ascorbic Acid in Aqueous Solution [Text] / J.-P. Yuan, F. Chen // J. Agric. Food Chem. — 1998. — Vol. 46, № 12. — P. 5078–5082.
11. Skotland T. Direct spectrophotometric detection of ascorbate free radical formed [Text] / T. Skotland, T. Ljones // Biochim. Biophys. Acta. — 1980. — Vol. 630, № 1. — P. 30–35.
12. Armarego W.L.F. Purification Of Laboratory Chemicals [Text] / W.L.F. Armarego, C.L.L. Chai. — Elsevier Science, 2003. — 608 p.
13. Эмануэль Н.М. Роль среды в радикально-цепных реакциях окисления органических соединений [Текст] / Н.М. Эмануэль, Г.Е. Заиков, З.К. Майзус. — М.: Наука, 1973. — 379 с.
14. Sawyer D.T. Oxidation by Superoxide Ion of Catechols, Ascorbic Acid, Dehydrophenazine, and Reduced Flavins to Their Respective Anion Radicals. A Common Mechanism via a Sequential Proton – Hydrogen Atom Transfer [Text] / D.T. Sawyer, T.S. Calderwood, C.L. Johlman // J. Org. Chem. — 1985. — Vol. 50. — P. 1409–1412.
15. Афанасьев И.Б. Анион-радикал кислорода O_2^- в химических и биохимических процессах [Текст] / И.Б. Афанасьев // Успехи химии. — 1979. — Т. 48. — С. 977–1014.
16. Afanas'ev I.B. Kinetics and Mechanism of the Reactions of Superoxide Ion in Solution. Part 5.t Kinetics and Mechanism of the Interaction of Superoxide Ion with Vitamin E and Ascorbic Acid [Text] / I.B. Afanas'ev, V.V. Grabovetskii, N.S. Kuprianova // J. CHEM. SOC. PERKIN TRANS. II. — 1987. — Vol. — P. 281–285.
17. Tolbert B.M. Chemistry of Ascorbic Acid Radicals [Text] / B.M. Tolbert, J.B. Ward // Ascorbic Acid: Chemistry, Metabolism, and Uses; Advances in Chemistry; American Chemical Society: Washington, D.C. — 1982. — P. 101-123.
18. Денисов Е.Т. Константы скорости гомолитических жидкофазных реакций [Текст] / Е.Т. Денисов. — М.: Наука, 1971. — 712 с.

Надійшла до редколегії 20.03.2014.

О.В.Смирнова, І.В. Єфімова, Й.О. Опейда ОСОБЛИВОСТІ РАДИКАЛЬНО-ЛАНЦЮГОВОГО ОКИСЛЕННЯ АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ У АПРОТОННОМУ СЕРЕДОВИЩІ.

Газоволюмометричним методом вивчено процес ініційованого окислення аскорбінової кислоти киснем в апротонному середовищі в гомофазних умовах. Запропоновано схему ініційованого радикально-ланцюгового окиснення аскорбінової кислоти в апротонному середовищі.

Ключові слова: аскорбінова кислота, радикально-ланцюгове окиснення, кінетика.

O.V.Smirnova, I.V. Efimova, I.A. Opeida FEATURES OF RADICAL-CHAIN OXIDATION OF ASCORBIC ACID IN APROTIC MEDIA

In recent years, the study of the ascorbic acid (AA) action mechanism obtained important new results, which showed that AA undergoes a reversible redox process with the formation of intermediate free radicals. Unusual biological properties of AA, to protect against free radical destruction, is likely related to the effectiveness of AA as radical scavengers and stability of its radical anion (A^{\bullet}). Radical anion (A^{\bullet}) reacts predominantly with itself and thus stops the development of free-radical reactions. This concept is supported by several studies, which demonstrated that the radical anion A^{\bullet} is a staple in the interaction AA with several redox systems in protic media. However aprotic systems oxidation AA poorly understood. In this connection it is interesting to study the characteristics of the initiated radical chain oxidation of AA in aprotic medium.

In this paper we studied the radical-chain oxidation of AA in dimethyl sulfoxide (DMSO) and chlorobenzene (ChB), as the initiator used azodiisobutyronitrile (AIBN). The kinetics of the oxidation process was monitored volumetric measuring the amount of oxygen absorbed investigated systems at constant temperature 348 K. It shows typical kinetic curves of oxygen absorption by studied system AIBN - AA - ChB - DMSO. Oxygen absorption rate of the reaction mixture increases with its concentration of AA in the range of 0,01-0,30 mol/l. Obtained a linear dependence of the rate of AA oxidation on time.

Oxidation products identified by NMR-spectroscopic method. ^{13}C NMR spectra were recorded on a Bruker DRX 400 (100 MHz) in DMSO- d_6 , using the residual solvent signal as internal standard (40,0 ppm for ^{13}C nuclei). The NMR spectroscopic method identified oxidation products of AA in aprotic medium and proved that under these conditions AA oxidized to dehydroascorbic acid (dehydroAA) only.

We propose a scheme initiated radical chain oxidation of ascorbic acid in an aprotic medium. According to this scheme, the oxygen uptake occurs only in reactions with AA and AIBN. This scheme can be supplemented by the equations describing the formation of the radical anion of oxygen and its interaction with AA and ascorbic acid radical (AH^{\bullet}). But we believe it is not appropriate because of the reaction of superoxide anion changes do not account for the absorption of oxygen and therefore not included in the equation for calculating the rate of oxidation of AA. Furthermore, test hydroperoxides which are formed negative. This is due to the loss of hydroperoxide molecules of the solvent.

Keywords: ascorbic acid, radical chain oxidation, kinetics.

Смирнова Ольга Владимировна – младший научный сотрудник, Институт физико-органической химии и углехимии им. Л.М.Литвиненко Национальной Академии наук Украины, Донецк, Украина, e-mail: osmi79@mail.ru.

Єфімова Ирина Владиславовна – канд. хим. наук, ст. науч. сотр., Институт физико-органической химии и углехимии им. Л.М.Литвиненко Национальной Академии наук Украины, Донецк, Украина, e-mail: irusja.efimova@yandex.ua.

Опейда Иосиф Алексеевич – д-р. хим. наук, профессор, зам. директора по научной работе, Институт физико-органической химии и углехимии им. Л.М. Литвиненко НАН Украины; ул. Р. Люксембург, 70, 83114, г. Донецк, Украина, E-mail: opeida@infou.donetsk.ua.