

На правах рукописи

Башкатова Наталия Владимировна

**Электроаналитические свойства производных
антипирина и бенздиазепина**

02.00.02 — аналитическая химия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Томск — 2007

Работа выполнена на кафедре физической и аналитической химии
Томского политехнического университета

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ:

доктор химических наук,
профессор Карбаинов
Юрий Александрович

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ:

доктор химических наук,
доцент Ковалева
Светлана Владимировна

кандидат химических наук,
с.н.с. Джабарова
Наиля Кашафовна

ВЕДУЩАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ:

НИИ безопасности
жизнедеятельности республики
Башкортостан

Защита диссертации состоится 25 июня 2007 г. в 16.30 на заседании диссертационного совета Д 212.269.04 при Томском политехническом университете по адресу: 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-технической библиотеке Томского политехнического университета по адресу: г.Томск, ул. Белинского, 53

Автореферат разослан: «25» мая 2007 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
канд. хим. наук, доцент

Гиндуллина
Татьяна Михайловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Одним из главных направлений развития современной электроаналитической химии является разработка эффективных методов исследования и анализа органических соединений. Исследования в этом направлении имеют теоретическое и практическое значение для дальнейшего поиска наиболее эффективных путей осуществления аналитических определений данных веществ. Электрохимические методы характеризуются высокой чувствительностью, точностью, экспрессностью, поэтому они находят все более широкое применение как для определения, так и для исследования свойств органических соединений, имеющих фармацевтическое значение, и создают разумную альтернативу традиционным хроматографическим методам анализа.

Азотсодержащие гетероциклические соединения ряда антипиринов, бенздиазепинов и антипириламидов зарекомендовали себя как эффективные болеутоляющие и психотропные средства, широко используемые в медицинской практике во всем мире. Появляются новые препараты этого класса, к контролю их качества предъявляются все более серьезные требования. Поэтому разработка новых чувствительных, доступных и удобных в работе методик их определения представляется актуальной задачей, от решения которой зависит эффективность и безопасность предлагаемых на рынке лекарственных препаратов. Необходимо подчеркнуть при этом, что использование препаратов с антиоксидантными свойствами находит все более широкое применение в медицине в профилактических и лечебных целях при патологических состояниях свободнорадикальной природы.

Цель работы: исследовать электроаналитические свойства производных антипиринов, бенздиазепинов и антипириламидов.

В соответствии с этим в работе были поставлены следующие **задачи**:

1. Исследовать электроаналитические свойства, рассмотреть влияние ряда факторов (природы фонового электролита, материала электрода) на потенциалы окисления и восстановления исследуемых веществ методом вольтамперометрии.

2. Рассмотреть закономерности процессов окисления и восстановления указанных препаратов на твердых электродах. Рассчитать кинетические параметры этих процессов.

3. Исследовать взаимосвязь между электрохимическими свойствами и квантово – химическими параметрами изучаемых веществ.

4. Используя метод катодной вольтамперометрии и модельную реакцию электровосстановления кислорода, исследовать антиоксидантные свойства антипиринов, бенздиазепинов и антипириламидов для выяснения их роли в механизмах взаимодействия с кислородом и его активными радикалами.

5. Разработать методику количественного химического определения антипириламида стеариновой кислоты как перспективного лекарственного препарата, используя метод вольтамперометрии.

Научная новизна. Впервые рассмотрены теоретические закономерности обратимого процесса окисления и восстановления антипириламидов на твердых электродах для двух последовательных электрохимических реакций. Предложен способ оценки коэффициентов диффузии и константы диффузионного тока указанных веществ.

Рассчитаны квантово – химические параметры исследуемых веществ. Впервые выведены корреляционные уравнения между расчетными квантово-химическими параметрами и экспериментально полученными потенциалами окисления производных антипирина и антипириламида.

Проведено определение антиоксидантной активности исследуемых веществ методом катодной вольтамперометрии в неводных средах.

Практическая значимость.

Разработана методика количественного химического определения антипириламида стеариновой кислоты, как перспективного лекарственного препарата, используя метод вольтамперометрии.

Проведено определение антиоксидантной активности исследуемых соединений в сравнении со стандартными антиоксидантами методом катодной вольтамперометрии в неводных средах.

Предложен способ оценки потенциалов окисления органических соединений на основании расчетных квантово – химических параметров и выведенного корреляционного уравнения между ними.

На защиту выносятся:

1. Способ количественного химического определения антипириламида стеариновой кислоты методом вольтамперометрии.
2. Способ оценки потенциалов окисления органических соединений на основе их расчетных квантово – химических параметров.
3. Результаты определения антиоксидантных свойств исследуемых соединений в сравнении со стандартными антиоксидантами методом катодной вольтамперометрии в неводных средах.
4. Способ определения коэффициентов диффузии и константы диффузионного тока органических соединений для двух обратимых последовательных электрохимических реакций на твердых электродах.

Апробация работы. Основные результаты диссертационной работы в период их выполнения докладывались на российских и международных конференциях и симпозиумах: на Всероссийской научной конференции “Актуальные проблемы аналитической химии” (Москва, 2002); Региональной научно-практической конференции “Химия и технология лекарственных препаратов и полупродуктов” (Новокузнецк, 2002); 7th International Conference / Workshop on Pharmacy and Applied Physical Chemistry, (Innsbruck (Austria), 2003); V Всероссийской научной конференции “Экоаналитика-2003” (Санкт-Петербург, 2003); 15th International Symposium “Pharmaceutical and Biomedical Analysis” (Florence (Italy), 2004); 10th International Conference on

Electroanalysis (Galway (Ireland), 2004); VII Всероссийской научной конференции “Аналитика Сибири и Дальнего Востока” (Новосибирск, 2004).

По материалам диссертации опубликовано 5 статей и 7 тезисов докладов.

Диссертация выполнена при поддержке гранта Минобразования РФ № А03-2.11-795 “Исследование связи между окислительной способностью и антиоксидантной активностью лекарственных препаратов”.

Объем и структура диссертации.

Диссертационная работа изложена на 168 страницах, содержит 36 таблиц, 35 рисунков и библиографию из 155 наименований. Работа состоит из введения, шести глав, обсуждения результатов, выводов, списка литературы и приложений.

Во введении раскрыта актуальность темы, определены цели и задачи исследования, сформулированы научная новизна и практическая значимость работы.

В первой главе приведен литературный обзор, характеризующий возможности вольтамперометрии и квантово-химических расчетных методов в исследовании электрохимических и антиоксидантных свойств органических соединений.

Во второй главе рассмотрены теоретические закономерности двух последовательных электрохимических реакций в вольтамперометрии для обратимого электродного процесса на твердых электродах, предложен способ оценки коэффициентов диффузии и константы диффузионного тока исследуемых веществ. Исследованы зависимости между расчетными квантово – химическими и экспериментальными электрохимическими параметрами ряда производных карбазола и антипирина.

В третьей главе описаны условия эксперимента, способы приготовления растворов и электродов, представлены данные об используемом оборудовании и объектах исследования.

Четвертая глава посвящена исследованию электроаналитических свойств производных антипирина, бенздиазепина и антипириламида.

В пятой главе представлены результаты определения антиоксидантной активности изучаемых соединений.

В шестой главе разработана методика количественного химического определения антипириламида стеариновой кислоты, определены ее метрологические характеристики.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследования проводили на полярографе ПУ-1 с двухкоординатным самописцем ЛКД – 4 и вольтамперометрическом анализаторе ТА-2 в комплекте с ПК. В работе использовали метод катодной и циклической вольтамперометрии.

Вольтамперограммы исследуемых растворов регистрировали на стационарных электродах с линейной разверткой потенциала со скоростью 20 мВ/с. Для измерений использовали индикаторные ртутнопленочный (РПЭ) и

стеклоуглеродный (СУЭ) электроды. В качестве электрода сравнения применяли хлоридсеребряный электрод. Вспомогательным электродом служил стеклоуглеродный электрод.

Квантово-химические расчеты конформаций молекул и зарядов на атомах в исследуемых соединениях проводили с помощью программного пакета HyperChem 6.02 фирмы HyperCube полуэмпирическим методом AM1.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Электрохимические свойства исследуемых веществ изучены методом циклической вольтамперометрии, полученные вольтамперограммы представлены на рис. 1.

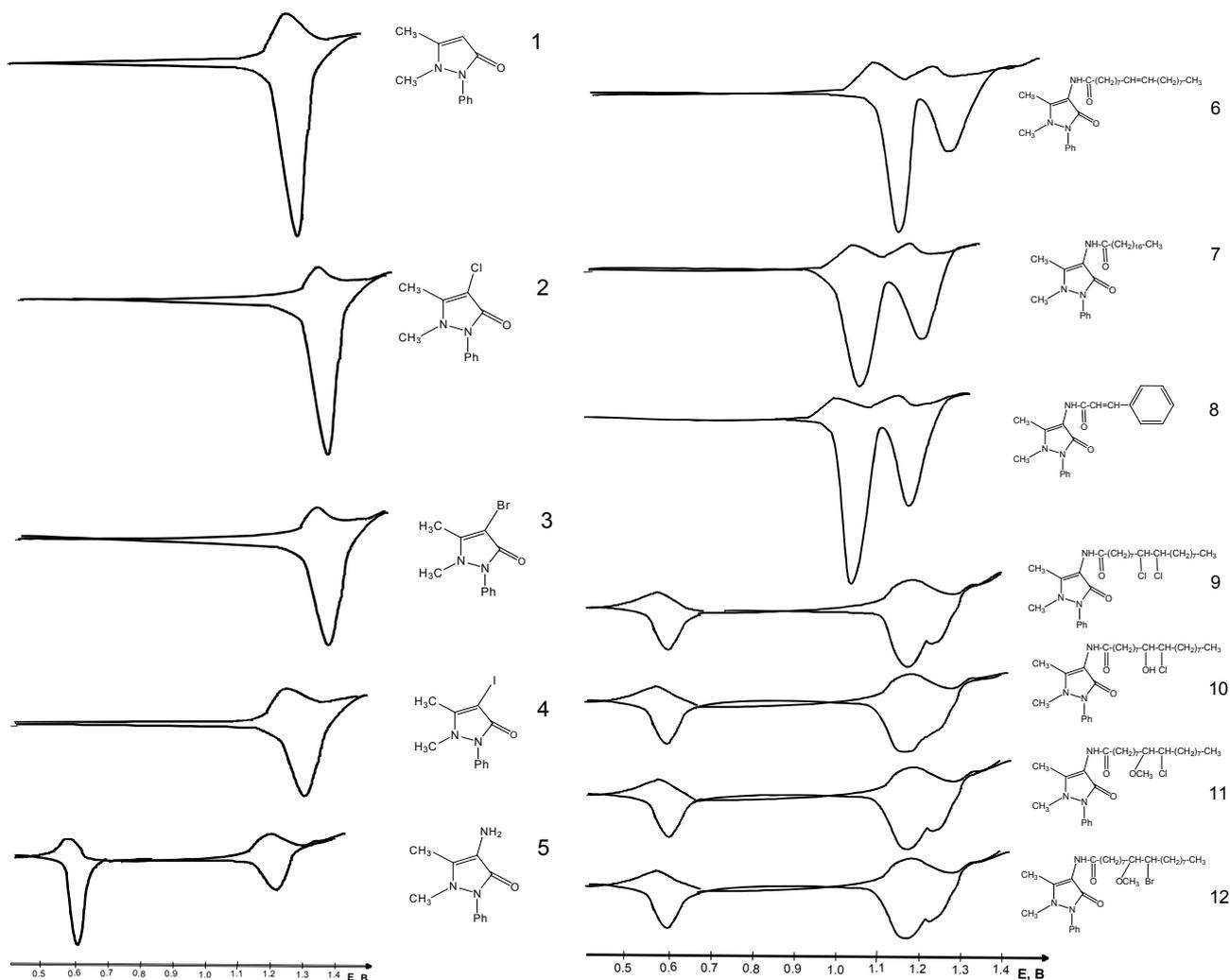
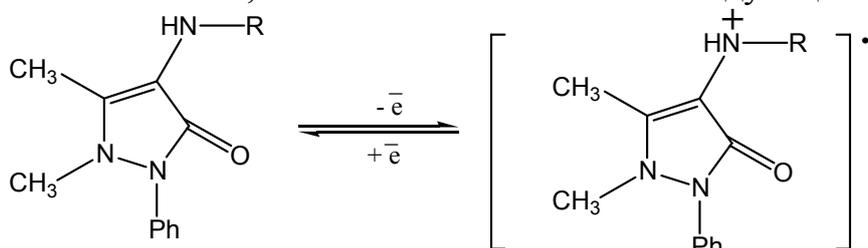


Рис. 1. Циклические вольтамперограммы на СУЭ в фоновом электролите 0.1 М NaClO₄ в C₂H₅ОН: 1 – антипирина, 2 – хлорантипирина, 3 – бромантипирина, 4 – йодантипирина, 5 – аминоантипирина, 6 – антипириламида олеиновой кислоты (АПОК), 7 – антипириламида стеариновой кислоты (АПСК), 8 – антипириламида коричной кислоты (АПКК), 9 – 8,9-дихлорида антипириламида олеиновой кислоты (ДХАО), 10 – 8,9-гидрохлорида антипириламида олеиновой кислоты (ГХАО), 11 – 8,9-метоксихлорида антипириламида олеиновой кислоты (МХАО), 12 – 8,9-метоксибромида антипириламида олеиновой кислоты (МБАО).

Как видно из рис. 1, процесс окисления и восстановления антипирина и его галогенпроизводных имеет обратимый характер, легче всего окислению и восстановлению подвергается антипирин, затем йод-, бром- и хлор-производные, что хорошо согласуется с литературными данными.

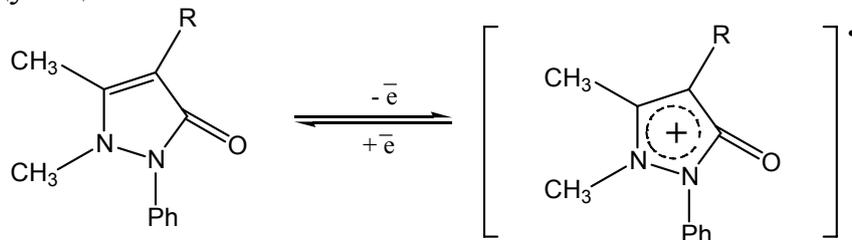
Форма циклических вольтамперных кривых и близость потенциалов анодных и катодных пиков, указывают на обратимость процесса окисления и восстановления аминокантипирина и антипириламидов. Полученные вольтамперограммы позволяют сделать ряд предположений по механизму окисления и восстановления исследуемых соединений:

- 1) наличие анодного пика при $E = +0.6$ В у аминокантипирина связано с окислением амино-группы;
- 2) введение длинного кислотного остатка (олеиновой, стеариновой и коричной кислот) приводит к сдвигу потенциала окисления амидной группы до $E = +1.05 \div +1.13$ В в АПОК, АПСК и АПКК согласно следующей схеме:

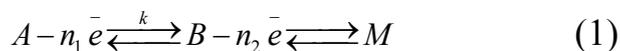


- 3) наличие анодного пика при $E = +0.6$ В у ДХАО, ГХАО, МХАО и МБАО также связано с окислением амино-группы, которому предшествует гидролиз амидной связи;

- 4) пики окисления в диапазоне потенциалов $+1.2 \div +1.4$ В у всех изучаемых соединений, по-видимому, связаны с окислением антипиринового кольца согласно следующей схеме:



Поскольку процесс окисления и восстановления данных веществ имеет обратимый характер, рассмотрена схема обратимого электродного процесса для двух последовательных электрохимических реакций типа $E_1 - E_2$ в циклической вольтамперометрии в условиях нестационарной диффузии на твердых электродах. Рассмотрим схему электродного процесса, когда в результате электрохимической реакции одно соединение переходит в другое, которое, в свою очередь, являясь электрохимически активным, превращается в новое соединение:



Сформулируем соответствующую краевую задачу для этого случая:

$$\frac{\partial C_A(x,t)}{\partial t} = D_A \frac{\partial^2 C_A(x,t)}{\partial x^2} \quad (2)$$

$$\frac{\partial C_B(x,t)}{\partial t} = D_B \frac{\partial^2 C_B(x,t)}{\partial x^2} \quad (3)$$

$$\frac{\partial C_M(x,t)}{\partial t} = D_M \frac{\partial^2 C_M(x,t)}{\partial x^2} \quad (4)$$

Для системы уравнений (2) и (3):

$$\text{при } t = 0, C_A(x,0) = C_A^0; C_B(x,0) = 0 \quad (5)$$

$$\text{при } t > 0 \text{ и } x \rightarrow \infty, C_A(\infty,t) \rightarrow C_A^0 \quad (6)$$

Кроме того

$$\frac{C_B^S(x,t)}{C_A^S(x,t)} = \exp\left[\frac{(E_{нач} - E^0)n_1F}{RT}\right] \cdot \exp\left[(-wt)\frac{n_1F}{RT}\right] \quad (7)$$

$$D_A \frac{\partial C_A(x,t)}{\partial x}\bigg|_{x=0} = -D_B \frac{\partial C_B(x,t)}{\partial x}\bigg|_{x=0} \quad (8)$$

Кроме того допускаем, что с погрешностью не более 5 % диффузионный поток вещества А у поверхности электрода пропорционален

$$D_A \frac{\partial C_A(x,t)}{\partial x}\bigg|_{x=0} = k [C_A^0 - 0.95C_A(0,t)] \quad (9)$$

где $C_A(0,t)$ и есть концентрация вещества А у поверхности электрода, моль/см³ или моль/мл.

При решении краевой задачи получено следующее уравнение для предельного тока:

$$i_{пред} = zFSD_A C_A^0 \left(\frac{\sqrt{w}}{\sqrt{\pi D_A E_{пред}}} - \frac{0.95k}{D_A} \right) \quad (10)$$

Это уравнение позволяет из экспериментальных данных зависимости $i_{пред} = f(\sqrt{w})$ оценить значения константы диффузионного тока k и коэффициента диффузии D_A вещества А. Линейный характер данной зависимости можно рассматривать как доказательство механизма и диффузионного ограничения процесса.

На рис. 2 приведены графики зависимости $i_{пред} = f(\sqrt{w})$ на СУЭ для антипириламидов олеиновой, стеариновой и коричной кислот. Из тангенса угла наклона полученных прямых по уравнению (10) определены значения коэффициентов диффузии D исследуемых веществ, представленные в табл. 1. Для сравнения в табл. 1 приведены значения коэффициентов диффузии D , рассчитанные по уравнению Рендлса – Шевчика:

$$I_n = 0.446zFSC_A^0 \sqrt{\frac{zFwD}{RT}} \quad (11)$$

Константы диффузионного тока k определены по уравнению (10) из отрезка, отсекаемого зависимостью $i_{пред} = f(\sqrt{w})$ на оси ординат.

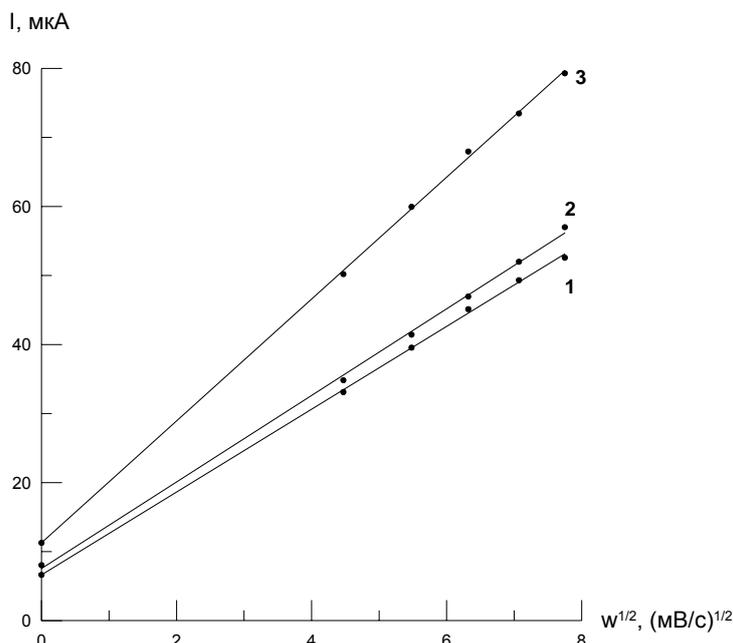


Рис 2. Зависимость тока окисления АПОК (1), АПСК (2) и АПКК (3) от скорости развертки потенциала.

Таблица 1.

Коэффициенты диффузии и константы диффузионного тока антипириламидов ($n = 5, P = 0.95$)

Название	$z = 2.22 \frac{RT}{F(E_a - E_k)} = \frac{0.058}{E_a - E_k}$	$D^* \cdot 10^6, \text{ см}^2/\text{с}$	$D^{**} \cdot 10^6, \text{ см}^2/\text{с}$	$k \cdot 10^4, \text{ см}/\text{с}$
АПОК	1	0.55 ± 0.03	0.90	0.81 ± 0.07
АПСК	1	0.79 ± 0.05	1.61	1.25 ± 0.08
АПКК	1	1.49 ± 0.09	2.07	1.37 ± 0.06

Примечание: D^* – коэффициенты диффузии, рассчитанные по уравнению (10); D^{**} – коэффициенты диффузии, рассчитанные по уравнению Рендлса – Шевчика (11).

Для изучения зависимости между электрохимическими свойствами органических веществ и расчетными значениями квантово – химических параметров полуэмпирическим методом АМ1 для 73 производных карбазола определены разность теплот образования молекул и их катион – радикалов ($\Delta\Delta H$), энергии ВЗМО ($E_{ВЗМО}$).

На графике, представленном на рис. 3, отображены значения потенциала полуволны окисления в зависимости от энергии ВЗМО для 73 производных карбазола.

Рассмотрена зависимость потенциала полуволны окисления карбазолов от разности теплот образования субстрата и его катион – радикала, представленная на рис. 4.

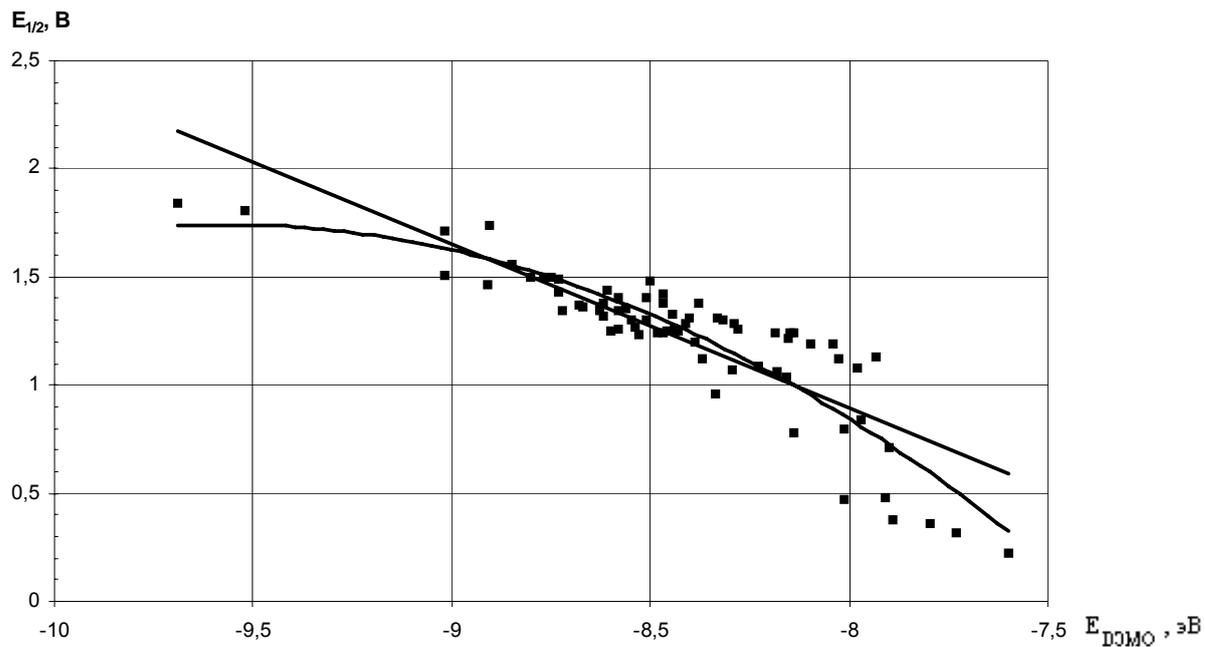


Рис. 3. Зависимость потенциала полуволны окисления от энергии ВЗМО для производных карбазола.

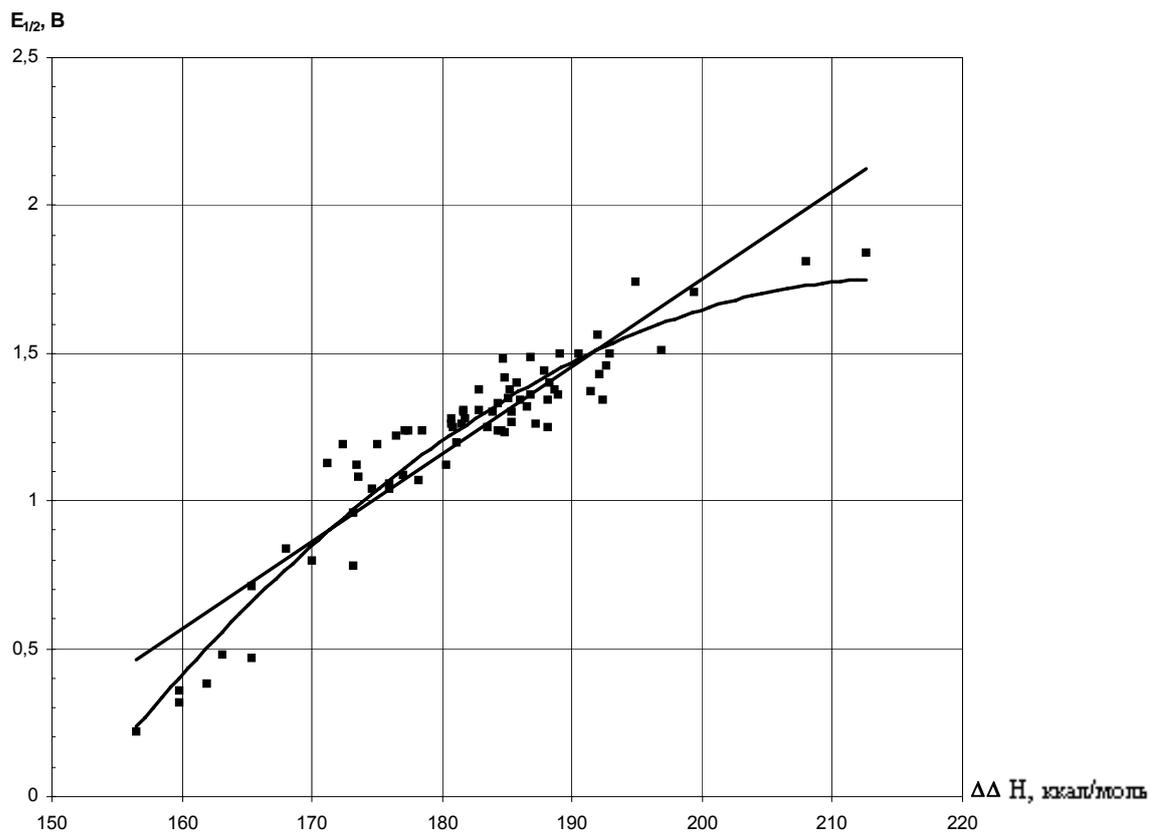


Рис. 4. Зависимость потенциала полуволны окисления от разности теплот образования субстрата и его катион-радикала для производных карбазола.

Анализ полученных результатов показывает, что существуют достаточно тесные взаимосвязи между исследуемыми параметрами в координатах $E_{1/2} - E_{ВЗМО}$ и $E_{1/2} - \Delta\Delta H$. В табл. 2 сведены несколько общих зависимостей. Отдельно выделены фрагменты соединений с $E_{1/2} < 1.1$ В, где наблюдается наиболее тесная связь.

Таблица 2.

Зависимость между величинами $E_{1/2}$, энергиями ВЗМО и $\Delta\Delta H$ производных карбазола по уравнениям $E_{1/2} = a + bx + cx^2$

№	x = $\Delta\Delta H$ (ккал/моль)				№	x = $E_{ВЗМО}$ (эВ)			
	a	b	c·10 ⁴	r		a	b	c	r
1	-4.161	0.0296	0	0.93	5	-5.18	-0.76	0	0.85
2	-18.378	0.1867	-4.333	0.96	6	-31.94	-7.05	-0.371	0.90
3	-6.59	0.0435	0	0.97	7	-9.77	-1.312	0	0.85
4	-18.63	0.187	-4.281	0.97	8	-55.50	-12.767	-0.717	0.86

Примечание: уравнения 1,2,5 и 6 для полной выборки соединений «1» – «73»; уравнения 3, 4, 7 и 8 для соединений с значениями $E_{1/2} < 1.1$ В (17 точек)

Данные табл. 2 показывают, что существенно лучшие корреляции наблюдаются между $E_{1/2}$ и разницей теплот образования карбазолов и соответствующих им катион-радикалов $\Delta\Delta H$, нежели между $E_{1/2}$ и энергиями ВЗМО карбазолов. Таким образом, изменение энтальпий при переходе от субстрата к его катион-радикалу $S^{+\bullet}$ более адекватно отражает влияние структуры субстрата на процесс электрохимического окисления, нежели оценка энергии ВЗМО одного субстрата. Кроме того, само наличие достоверных корреляций с $\Delta\Delta H$ указывает, по-видимому, на обратимость рассматриваемой стадии электрохимического окисления (без учета дальнейших превращений катион-радикалов в последующих стадиях).

Кроме карбазолов предложенная модель использована для описания ряда производных антипирина. С этой целью проведены квантово-химические расчеты антипирина, его галогенпроизводных, антипириламида и соответствующих им катион-радикалов. Для всех веществ вычислены значения разницы теплот образования самой молекулы и ее катион-радикала $\Delta\Delta H$. На основе выведенного корреляционного уравнения 1 (табл. 2) рассчитаны значения потенциалов окисления производных антипириламида, которые представлены в табл. 3.

Данные табл. 3 показывают, что расчетные величины потенциалов окисления удовлетворительно совпадают с их экспериментальными значениями. Это подтверждает возможность практического использования уравнения 1 (табл. 2) для приближенной оценки величин окислительных потенциалов гетероциклических соединений иных классов, чем карбазолы.

Таблица 3.

Окислительные потенциалы и вычисленные ΔH
для антипирина и его производных

Название	ΔH , кДж/моль	$E_{\text{расч}}$, В	$E_{\text{эксп}}$, В	Δ , %
антипирин	766.0	1.26	+1.29±0.03	2.3
хлорантипирин	787.8	1.41	+1.39±0.05	1.4
бромантипирин	787.0	1.40	+1.39±0.04	0.7
йодантипирин	784.0	1.38	+1.31±0.03	5.3
АПОК	749.9	1.14	+1.13±0.03	0.9
АПСК	751.2	1.15	+1.05±0.03	9.5
АПКК	741.3	1.08	+1.05±0.03	2.9
ДХАО	745.1	1.11	+1.18±0.03	5.9
ГХАО	750.9	1.15	+1.18±0.03	2.5
МХАО	756.4	1.19	+1.18±0.03	0.8
МБАО	756.7	1.19	+1.18±0.03	0.8

Примечание: $E_{\text{расч}}$ – потенциалы окисления, рассчитанные по уравнению 1 (табл. 3).

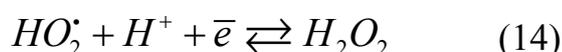
В последнее время проводится широкий поиск и тестирование свойств и активности новых лекарственных средств природного и синтетического происхождения для коррекции антиоксидантного статуса организма.

В этой связи сравнительное исследование оригинальных биологически активных соединений, синтезированных на основе антипирина или с использованием его производных, представляется перспективным направлением поиска новых высокоэффективных препаратов антиоксидантного действия.

В данной работе изучены антиоксидантные свойства как уже известных лекарственных препаратов группы антипиринов (например, йодантипирин), так и впервые синтезированных соединений этого класса, потенциально обладающих биологической активностью (производные антипириламида).

Для определения антиоксидантной активности использовался метод катодной вольтамперометрии.

В данном способе рассматривается одноэлектронное восстановление кислорода с образованием активных кислородных радикалов, согласно следующей схемы:



Соединение, имеющее восстановительную природу, реагирует с активными радикалами кислорода на поверхности рабочего электрода, что визуально отражается в уменьшении катодного тока одноэлектронного восстановления

кислорода на ртутно-пленочном электроде в области потенциалов от 0 до – 0.8 В относительно хлоридсеребряного электрода сравнения. Степень уменьшения тока электровосстановления кислорода относительно концентрации антиоксидантов в растворе служит критерием оценки антиоксидантной активности образца (15):

$$K = \frac{I_i}{I_0} \cdot \frac{1}{C} \quad (15)$$

где I_i -ток ЭВ O_2 в присутствии АО в растворе, мкА, I_0 -ток ЭВ O_2 в отсутствии АО в растворе, мкА; C – концентрация АО в растворе, г/мл.

Данный критерий отражает степень изменения концентрации кислорода и его активных радикалов в зависимости от концентрации АО в растворе.

На рис. 5 (на примере антипирина) представлены вольтамперограммы предельного тока ЭВ O_2 в зависимости от концентрации АО в объеме раствора. Аналогичные зависимости были получены для всего ряда исследуемых веществ.

Было отмечено, что добавление антипирина и его галогенпроизводных приводит к уменьшению предельного тока ЭВ O_2 (рис. 5), что свидетельствует о проявлении данными веществами антиоксидантных свойств. Для оценки АОА препаратов были построены зависимости относительного изменения предельного тока ЭВ O_2 ($\frac{I_i}{I_0}$) от их концентрации в объеме раствора. По тангенсу угла наклона полученных зависимостей определены коэффициенты антиоксидантной активности препаратов (K , мл/г) (15), которые приведены в табл. 4.

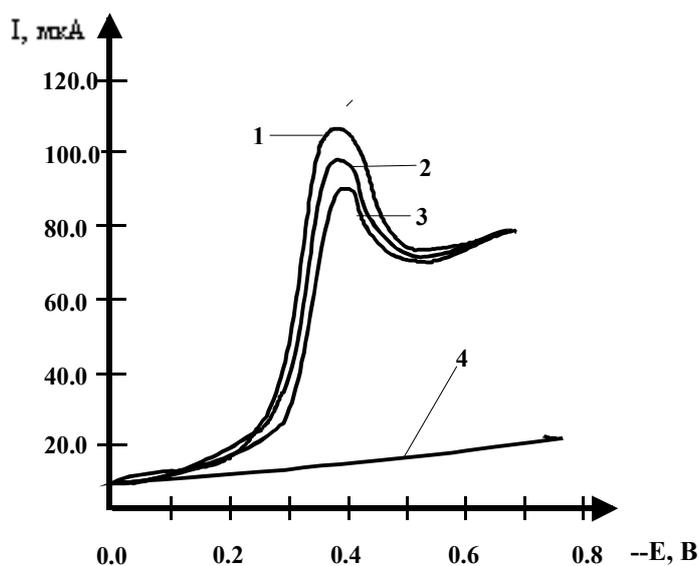


Рис. 5. Вольтамперограммы тока ЭВ O_2 на РПЭ в фоновом электролите 0.1 М $NaClO_4$ в C_2H_5OH в отсутствие (1) и присутствии антипирина 2.91 мг/мл (2) и 4.11 мг/мл (3).

Таблица 4.
Коэффициенты антиоксидантной активности антипирина и его галогенпроизводных ($n = 5, P = 0.95$)

Название	K , мл/г
антипирин	18.9 ± 1.2
Cl-антипирин	20.2 ± 1.3
Br-антипирин	34.9 ± 2.6
I-антипирин	36.4 ± 2.7

Проведенные исследования антиоксидантных свойств антипирина и его галогенпроизводных показывают, что антиоксидантная активность в ряду галогензамещенных антипиринов увеличивается от Cl- к I-производному. Аналогично изучены антиоксидантные свойства антипириламидов, а также исходных для их синтеза соединений, результаты представлены в табл. 5.

Данные табл. 5 показывают, что коэффициент АОА аминокантипина выше, чем у антипина и его галогенпроизводных, это связано с наличием в его структуре NH₂-группы, склонной к легкой отдаче протона – к окислению. Однако по сравнению с синтезируемыми на его основе соединениями (антипириламидами) аминокантипин проявляет не высокую АОА.

Таблица 5.

Коэффициенты антиоксидантной активности антипириламидов (n = 5, P = 0.95)

Название	К, мл/г
АПОК	755±28
АПСК	163±16
АПКК	162±10
ДХАО	79.7±5.9
ГХАО	41.8±4.7
МХАО	63.7±4.0
МБАО	63.3±3.9
аминокантипин	41.2±2.6
олеиновая кислота	146±16
Ионол	495±37

Полученные результаты позволяют выделить из исследуемых соединений наиболее перспективные в плане фармацевтического применения. Это, прежде всего, антипириламид олеиновой кислоты (АПОК), который показал высокую антиоксидантную активность по сравнению со стандартным антиоксидантом ионолом и может быть рекомендован в качестве лекарственного препарата антиоксидантной природы для лечения и профилактики ряда заболеваний, а также антипириламид стеариновой кислоты (АПСК) – известный как стампирин, имеющий применение в качестве противовоспалительного препарата.

Данные по исследованию АОА АПОК методом катодной вольтамперометрии хорошо согласуются с результатами исследования биологической активности препарата *in vivo*. Установлено, что АПОК повышает выживаемость мышей и оказывает защитное (хемопревентивное действие) при воздействии гепатотоксина - четыреххлористого углерода в токсических дозах. LD₅₀ четыреххлористого углерода повышается с 2,5 мл/кг (для интактных животных) до 4,0 мл/кг (для животных получавших

предобработку АПОК) – на 60 %. А также АПОК оказывает выраженное и достоверное антимуtagenное действие у мышей на фоне обработки циклофосфаном. Судя по снижению количества эритроцитов с микроадами АПОК при профилактическом введении (острый опыт и опыт с предобработкой) в дозе 100 мг/кг вызывает практически полное подавление мутагенеза вызываемого введением циклофосфана. Полученные результаты подтверждают наличие у АПОК выраженных антирадикальных, радиопротекторных и гепатозащитных свойств.

Одним из главных направлений развития современной электроаналитической химии является разработка эффективных методов исследования и анализа. Электрохимические методы определения и вольтамперометрия, в частности, характеризуются высокой чувствительностью, экспрессностью и простотой в аппаратном оформлении. Они успешно применяются для количественного химического определения веществ органической и неорганической природы.

Лекарственные препараты в этом ряду имеют особое значение, т.к. от точности измерения их концентрации зависит и дозировка данных препаратов и их лечебное воздействие на организм.

Полученные пики окисления исследуемых веществ можно использовать в качестве аналитических сигналов для разработки методик их количественного определения методом вольтамперометрии. Антипириламид стеариновой кислоты (АПСК) известен как противовоспалительный препарат стампирин, прошел клинические испытания и допущен к применению. До настоящего времени количественное определение АПСК проводили методом кислотно-основного титрования после предварительного гидролиза препарата. Использование метода вольтамперометрии позволяет исключить длительную стадию пробоподготовки и повысить чувствительность количественного определения АПСК. В связи с этим на основании полученных результатов была разработана методика количественного химического определения АПСК методом вольтамперометрии, определены ее метрологические характеристики, представленные в табл. 6.

Таблица 6.

Диапазон измерений, значения показателей повторяемости и внутрилабораторной прецизионности методики при доверительной вероятности $P = 0.95$

Диапазон измеряемых концентраций, $C \cdot 10^5$, моль/л	Показатель повторяемости $\sigma_T \cdot 10^5$, моль/л	Показатель внутрилабораторной прецизионности, $\sigma_R \cdot 10^5$, моль/л
От 1.42 до 33.30 включ.	0.15	0.26

Проверена правильность методики КХА антипириламида стеариновой кислоты методом «введено-найдено» (табл. 7).

Таблица 7.

Результаты количественного определения антипириламида стеариновой кислоты в модельных растворах ($n = 5$, $P = 0.95$)

Введено, $C \cdot 10^5$, моль/л	Найдено, $C \cdot 10^5$, моль/л	ϵ , %
1.42	1.25 ± 0.20	16
2.84	2.69 ± 0.30	11
4.25	4.11 ± 0.57	14
5.65	5.60 ± 0.54	9.6
7.04	7.10 ± 0.93	13
8.43	8.50 ± 0.89	11
9.80	9.7 ± 1.1	11
11.20	11.20 ± 0.77	6.9
13.90	14.20 ± 0.89	6.3
16.60	16.9 ± 1.0	5.9
19.20	19.60 ± 0.79	4.0
23.20	23.10 ± 0.64	2.8
27.00	27.20 ± 0.87	3.2
33.30	32.80 ± 0.67	2.0

В настоящее время терапия с включением препаратов, обладающих антиоксидантными свойствами, находит все большее применение в лечении и профилактике ряда заболеваний. В связи с этим в работе проведено исследование антиоксидантных свойств транквилизаторов 1,4-бенздиазепинового ряда – нозепама и ФБД-диона (рис. 6). По нашим предположениям, нозепам и продукт его окисления ФБД-дион, имея в своей структуре NH– группу в 1,4-бенздиазепиновом остове, могли бы проявить антиоксидантные свойства.

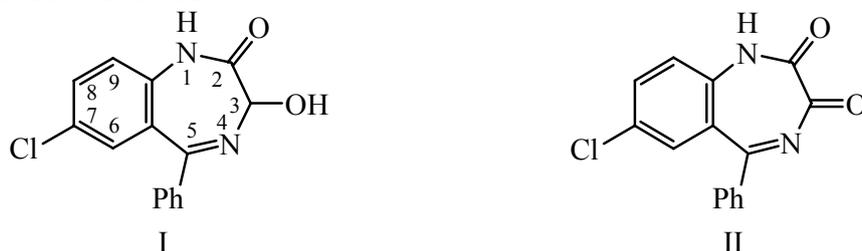


Рис 6. Структурные формулы представителей 1,4-бенздиазепинового ряда: I – нозепам (7-хлор-1,3-дигидро-3-гидрокси-5-фенил-2H-1,4-бенздиазепин-2-он), II - ФБД-дион (7-хлор-5-фенил-1H-1,4-бенздиазепин-2,3-дион).

Полученные результаты подтвердили наше предположение о наличии антиоксидантной активности данных веществ (рис. 7, табл. 8). Нозепам проявляет антиоксидантные свойства, сравнимые с таковыми ионола. Как и

ожидалось, антиоксидантная активность ФБД-диона ниже, чем у нозепама, поскольку в его структуре нет гидроксильной группы, способной к легкой отдаче протона при взаимодействии с радикалами.

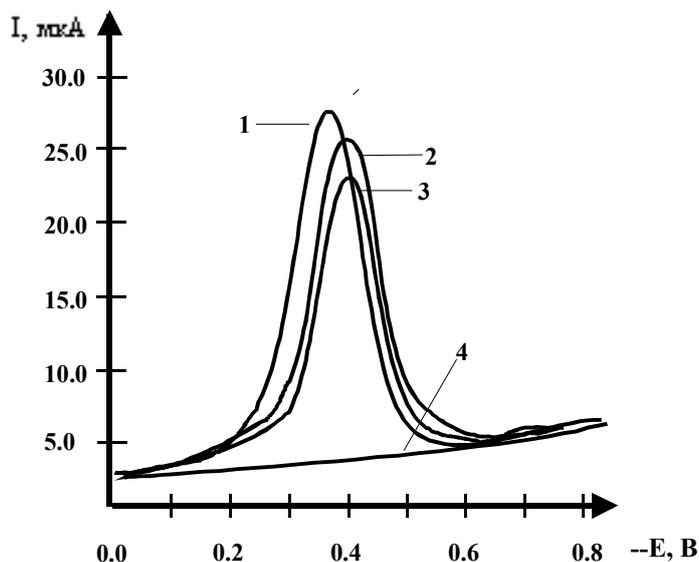


Таблица 8.
Коэффициенты антиоксидантной активности препаратов (n = 5, P = 0.95)

Название	K, мл/г
Нозепам	567±49
ФБД-дион	263±16
Ионол	495±37

Рис. 7. Вольтамперограммы тока ЭВ O₂ на РПЭ в фоновом электролите 0.1 М NaClO₄ в ДМСО в отсутствие (1) и присутствии нозепама 0.12 мг/мл (2) и 0.24 мг/мл (3).

Исследованы электрохимические свойства нозепама и продукта его окисления ФБД-диона. Установлено, что нозепам не проявляет электрохимической активности в данных условиях эксперимента. Для ФБД-диона наблюдается два необратимых пика восстановления при потенциалах: E = -0.6 В и E = -1.05 В (рис. 8).

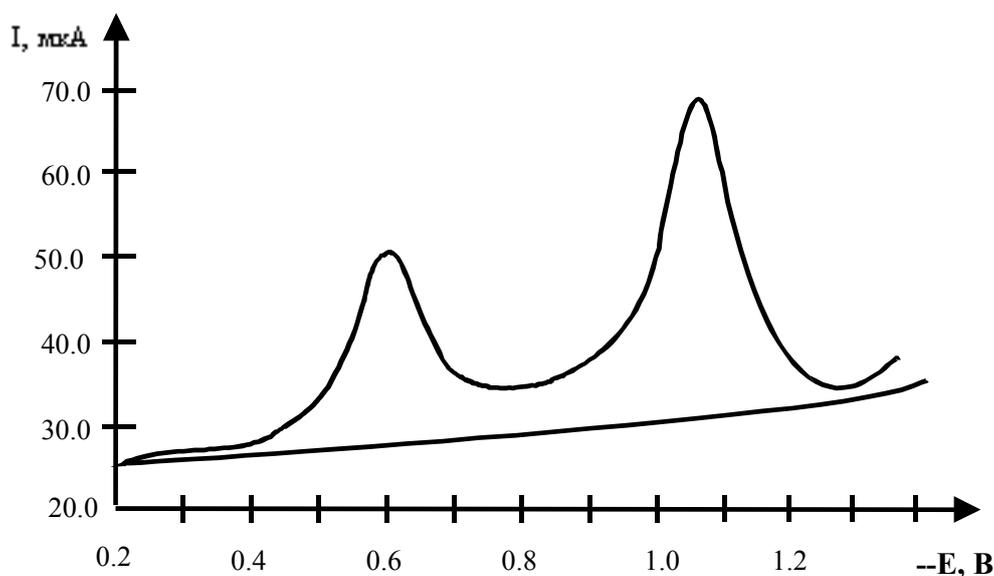


Рис. 8. Вольтамперограмма тока восстановления 7-хлор-5-фенил-1H-1,4-бензодиазепин-2,3-диона (ФБД-диона) II на РПЭ в среде 0.1 М NaClO₄ ДМСО.

Наличие двух пиков восстановления у ФБД-диона возможно связано с лактам-лактимной таутомерией данного вещества в растворе (рис. 9).

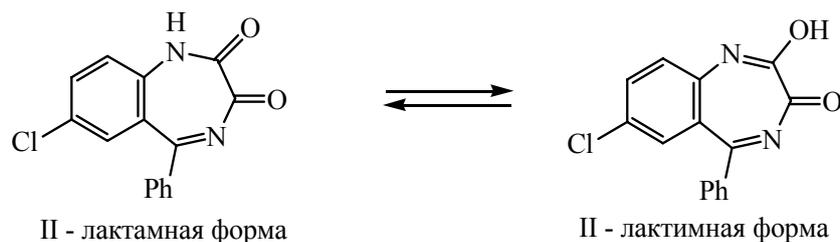


Рис. 9. Лактам-лактимная таутомерия 7-хлор-5-фенил-1*H*-1,4-бензодиазепин-2,3-диона (ФБД-диона) в среде 0.1 М NaClO₄ ДМСО.

ВЫВОДЫ

1. Исследованы электроаналитические свойства производных антипирина, бензодиазепина, антипириламида. Найдены потенциалы окисления и восстановления указанных веществ, показано наличие двух последовательных обратимых электрохимических реакций для производных антипириламида на твердых электродах.
2. Рассмотрены закономерности окисления и восстановления антипириламидов на твердых электродах для двух последовательных электрохимических реакций. Получено уравнение для тока на электрод. Предложен способ расчета коэффициентов диффузии и констант диффузионного тока данных соединений.
3. Проведен расчет квантово – химических параметров производных антипирина и карбазола: энергии ВЗМО, разность теплот образования молекул и их катион – радикалов. Получена корреляционная зависимость между расчетными квантово – химическими параметрами и экспериментальными значениями потенциалов окисления исследуемых веществ.
4. Проведена оценка потенциалов окисления производных антипириламида на основании расчетных квантово – химических параметров и выведенного корреляционного уравнения между ними. Показано удовлетворительное совпадение расчетных данных со значениями, полученными экспериментально.
5. Исследованы антиоксидантные свойства производных антипирина, антипириламида, бензодиазепина, используя метод катодной вольтамперометрии и модельную реакцию электровосстановления кислорода в неводных средах.
6. Разработана методика количественного химического определения антипириламида стеариновой кислоты в модельных растворах методом вольтамперометрии в диапазоне концентраций от $1.42 \cdot 10^{-5}$ до $3.33 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Рассчитаны значения показателей повторяемости и внутрилабораторной прецизионности методики.

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1. Филимонов В.Д., Карбаинов Ю.А., Короткова Е.И., Башкатова Н.В., Воловоденко А.В. Исследование связи между электрохимическими параметрами ряда производных карбазола и антипирина и их квантово-химическими характеристиками // Изв. вузов. Химия и хим. технология. – 2002. – Т.45, № 3. – С. 75 – 79.
2. Карбаинов Ю.А., Фофонова Т.М., Башкатова Н.В., Куташова Е.А. Закономерности электродных процессов, контролируемых последующими химическими реакциями, в тонкопленочных системах в инверсионной вольтамперометрии // Изв. вузов. Химия и хим. технология. – 2002. – Т.45, № 3. – С. 69 – 71.
3. Башкатова Н.В., Короткова Е.И., Карбаинов Ю.А. Определение орто- и пара-положения йодтолуола методом вольтамперометрии // Тез. докл. Всероссийской научной конференции “Актуальные проблемы аналитической химии”. Москва. 2002. С. 41 – 42.
4. Башкатова Н.В., Карбаинов Ю.А., Короткова Е.И., Тимошенко Л.В. Электрохимические характеристики ароматических йодпроизводных // Тез. докл. Региональной научно-практической конференции “Химия и технология лекарственных препаратов и полупродуктов”. Новокузнецк. 2002. С. 93 – 96.
5. Карбаинов Ю.А., Короткова Е.И., Башкатова Н.В. Физико-химические закономерности электродных процессов в инверсионной вольтамперометрии органических соединений с предшествующей реакцией протонизации // Изв. вузов. Химия и хим. технология. – 2003. – Т.46, № 3. – С. 115 – 118.
6. Bashkatova N.V., Korotkova E.I., Karbainov Yu.A., Mamaeva E.A., Bakibaev A.A. Investigation of antioxidant properties of pharmaceuticals by voltammetry // Book of abstr. 7th International Conference / Workshop on Pharmacy and Applied Physical Chemistry. Innsbruck. 2003. P. 14.
7. Короткова Е.И., Карбаинов Ю.А., Юсубов М.С., Башкатова Н.В. Исследование антиоксидантных свойств биологически-активных веществ методом вольтамперометрии // Тез. докл. V Всероссийской научной конференции “Экоаналитика-2003”. Санкт-Петербург. 2003. С. 230.
8. Короткова Е.И., Мамаева Е.А., Башкатова Н.В., Бакибаев А.А. Электрохимическое определение антиоксидантных свойств 1,4-бенздиазепинов // Хим.-фарм. журн. – 2004. – Т.38, №3. – С. 52 – 53.
9. Bashkatova N.V., Korotkova E.I., Karbainov Yu.A., Yagovkin A.Yu., Bakibaev A.A. Investigation of electrochemical and antioxidant properties of pharmaceuticals by voltammetry // Book of abstr. 15th International Symposium “Pharmaceutical and Biomedical Analysis”. Florence. 2004. P. 101.
10. Bashkatova N.V., Korotkova E.I., Karbainov Yu.A., Yagovkin A.Yu., Bakibaev A.A. Investigation of electrochemical properties of antipyrine derivatives

by voltammetry // Book of abstr. 10th International Conference on Electroanalysis. Galway. 2004. P. 167.

11. Башкатова Н.В., Короткова Е.И., Яговкин А.Ю., Бакибаев А.А., Карбаинов Ю.А. Исследование электрохимических свойств антипириламида олеиновой кислоты и его производных // Тез. докл. VII Всероссийской научной конференции “Аналитика Сибири и Дальнего Востока”. Новосибирск. 2004. С. 88.

12. Bashkatova N.V., Korotkova E.I., Karbainov Yu.A., Yagovkin A.Yu., Bakibaev A.A. Electrochemical, quantum-chemical and antioxidant properties of antipyrine and its derivatives // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2005. – V.37. – P. 1143 – 1147.

Автор считает своим долгом выразить искреннюю признательность научному консультанту – к.х.н., доценту кафедры ФАХ ХТФ ТПУ Коротковой Елене Ивановне за помощь при подготовке и написании диссертационной работы; а также д.х.н., зав. кафедрой ОХОС ХТФ ТПУ профессору Филимонову В.Д., магистранту кафедры ОХОС ХТФ ТПУ Воловоденко А.В. за помощь в проведении квантово-химических расчетов; д.х.н., зав. кафедрой ФАХ ХТФ ТПУ профессору Бакибаеву А.А., к.х.н., докторанту кафедры ФАХ ХТФ ТПУ Яговкину А.Ю. за предоставление объектов исследования и плодотворное сотрудничество.