Методы и объекты химического анализа, 2006, т. 1, № 1, С. 67–72.

Электроокисление, квантово-химические расчеты и электрохемилюминесценция производных дигидропиридина

Е.М. Белаш, Н.Н. Рожицкий

Харьковский национальный университет радиоэлектроники,
кафедра биомедицинских электронных приборов и систем; пр. Ленина, 14, 61166, Харьков, Украина;
e-mail: rzh@kture.kharkov.ua

В работе исследованы электродные анодные реакции ряда производных дигидропиридина (ДГП), изучены их электрохемилюминесцентные (ЭХЛ) свойства и проведены квантово-химические расчеты свойств молекул и катион-радикалов производных ДГП, таких, как распределение плотности р-электронов, энергии ионизации в вакууме и некоторые другие. Также установлены корреляции между потенциалами электроокисления и потенциалами ионизации изученных соединений.

Исследование реакций в растворах, включая большое число электроорганических процессов, сопровождающихся образованием промежуточных свободных радикалов (СР) – интермедиатов – проводится различными физико-химическими методами – спектроскопия, электрохимия, электронный парамагнитный резонанс [1]. Термином "свободный радикал" обычно обозначают частицу с неспаренным электроном и конечным временем жизни, допускающим ее непосредственное обнаружение указанными методами или захват какой-либо подходящей химической "спиновой ловушкой", например, нитронами – иминовыми оксидами. Присутствие СР R I также определяют, изучая природу продуктов реакции (например, димеров R-R), кинетику и особенности поведения свободно-радикальных реакций в исследуемой системе при различных внешних воздействиях, изменении условий опыта и т.д. Однако до настоящего времени не разработано вполне удовлетворительных физико-химических методов регистрации СР при низких концентрациях, которые, в частности, характерны для подавляющего большинства электрохимических реакций органических соединений. При их протекании отмечено присутствие промежуточных лабильных продуктов – СР, идентификация которых позволяет получать достаточно труднодоступную информацию о механизмах и кинетике таких электродных (*E*) трансформаций, осложнённых химическими (*C*) стадиями – процессы *EC*, *ECE*. Отмеченные и иные методы изучения лабильных парамагнитных частиц с неспаренным спином, способствующие идентификации механизма процесса весьма сложны при рутинных исследованиях, требуют, например, использования аппаратуры магниторезонансной спектроскопии с предварительным накоплением реагентов в электрохимической ячейке, размещаемой в резонаторе. Эти методы или рассчитаны на высокие концентрации радикалов, или применимы в случае небольшой номенклатуры радикалов, обладающих специфическими свойствами [1]. Отсюда следует актуальность разработок новых высокоточных, надежных и достаточно простых физико-химических методов идентификации лабильных радикальных интермедиатов электроорганических реакций.

Электрохемилюминесцентный (ЭХЛ) метод и технологии обладают уникальными аналитическими возможностями по сравнению с электрохимическими и люминесцентными аналитическими методами в силу специфики явления [2]. Наблюдается бурный рост разработок ЭХЛ-технологий для анализов в жидких матрицах, включая биожидкости, с использованием систем MEMS, NEMS, "Lab-on-Chip" [3–6]. При проведении исследования или анализа органических веществ-аналитов *A*, не обладающих ЭХЛ-свойствами, можно использовать предложенный нами метод "световых спиновых ловушек" – испускание ЭХЛ в результате рекомбинации электрогенерированных ион-радикалов электрохемилюминофора-индикатора *D* с радикальными интермедиатами реакций типа E, EC [7–9]. Принцип использования ЭХЛ для этой цели основан на перехвате радикальных интермедиатов исследуемого процесса, которые генерируются в химической стадии механизма *EC*, ион-радикалом $D^{\cdot +}$, который образуется на противоэлектроде или том же самом электроде, см. ниже. Тем самым

© Е.М. Белаш, Н.Н. Рожицкий

достигается "световая" идентификация лабильных радикальных интермедиатов.

В настоящей работе предложено использовать, дополнительно к стандартным электрохимическим и квантово-химическим подходам, метод электрохимической люминесценции (ЭХЛ) для изучения механизмов электродных реакций окисления в системах с производными 1,4-дигидропиридина (ДГП), рис.1, табл. 1.

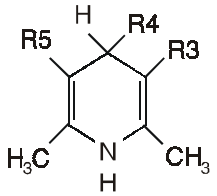

Рис. 1. Структурная схема молекулы ДГП (в α-положениях заместители CH_3, в β-положениях – R3, R5, в γ-положении – R4)

Актуальность изучения данных систем обусловлена биологической значимостью ряда производных ДГП, используемых как высокоэффективные коронародилататоры, гипотензивные и антиоксидантные средства [10,11]. Электрохимическое поведение ряда замещенных ДГП, отличающихся от приведенных в данной работе, изучено ранее [10,11]. Был предложен *ECE*-механизм двухэлектронного окисления ДГП, включающий промежуточные радикальные продукты. Однако полученные результаты являются неполными, нуждающимися в дополнительных экспериментальных и теоретических исследованиях, в том числе с привлечением квантово-химических расчетов.

Целью данной работы является исследование электродных анодных реакций ряда производных ДГП, изучение их ЭХЛ-свойств и проведение квантово-химических расчетов свойств молекул и катион-радикалов производных ДГП. Для достижения поставленной цели необходимо решить ряд экспериментальных и теоретических задач: исследовать электрохимические и возможные ЭХЛ-свойства замещенных ДГП; в случае необходимости подобрать индикатор D; рассчитать распределение плотности π-электронов и потенциал ионизации в вакууме; установить вероятные центры нуклеофильных и электрофильных атак; провести корреляционный анализ потенциалов полуволн и ионизации; на основании полученных данных установить вероятные механизмы электрохимического поведения замещенных ДГП.

Таблица 1. Потенциалы полуволн окисления исследованных производных ДГП

№ соединения	R3	R5	R4	$E_{1/2}$, В
1	$COOC_2H_5$	$COOC_2H_5$	H	0,89
2	$COOC_2H_5$	$COOC_2H_5$	CH_3	0,96
3	$COOC_2H_5$	$COOC_2H_5$	C_6H_5	1,08
4	$COOC_2H_5$	$COOC_2H_5$	p-$C_6H_5NO_2$	1,18
5	$COSC_2H_5$	$COOC_2H_5$	CH_3	1,06
6	$COSC_2H_5$	$COOC_2H_5$	C_6H_5	1,10
7	$COSC_2H_5$	$COOC_2H_5$	$C_6H_5NO_2$-p	1,18
8	$COSCH_2C_6H_5$	$COOC_2H_5$	CH_3	1,06
9	$COSCH_2C_6H_5$	$COOC_2H_5$	C_6H_5	1,10
10	$COSC_2H_5$	$COSC_2H_5$	H	0,97
11	$COSC_2H_5$	$COSC_2H_5$	CH_3	1,08
12	$COSC_2H_5$	$COSC_2H_5$	C_6H_5	1,10
13	$COSC_2H_5$	$COSC_2H_5$	p-$C_6H_5NO_2$	1,20
14	$COOCH_2C_6H_5$	$COOCH_2C_6H_5$	H	0,85
15	$COOCH_2C_6H_5$	$COOCH_2C_6H_5$	C_6H_5	1,06
16	$COSCH_2C_6H_5$	$COSCH_2C_6H_5$	H	0,93
17	$COSCH_2C_6H_5$	$COSCH_2C_6H_5$	C_6H_5	1,11
18	$COSC_2H_5$	$COSC_2H_5$	H	0,83
19	$COSC_2H_5$	$COSC_2H_5$	CH_3	0,93
20	$COSC_2H_5$	$COSC_2H_5$	C_6H_5	0,98
21	$COSC_2H_5$	$COSC_2H_5$	p-$C_6H_5NO_2$	1,06
22	$CSSC_2H_5$	$CSSC_2H_5$	H	0,81
23	$CONH_2$	$COOC_2H_5$	C_6H_5	1,00
24	$CONHC_6H_5$	$COOC_2H_5$	C_6H_5	1,00
25	$CONH_2$	$COOC_2H_5$	C_6H_5	0,96
26	$CONHC_6H_5$	$COOC_2H_5$	C_6H_5	0,93

Методика эксперимента

Электрохимические и ЭХЛ-исследования были выполнены с помощью разработанного нами приборного комплекса "ЭЛАН-2м", который обладает рядом преимуществ по сравнению с комплексом "ЭЛАН-2" [2,12]. В частности, диапазон скорости вращения дискового электрода (ВДЭ) или диска с кольцом (ВДЭК) (диск – стеклоуглерод, диаметр 2,0 мм, кольцо – платина,

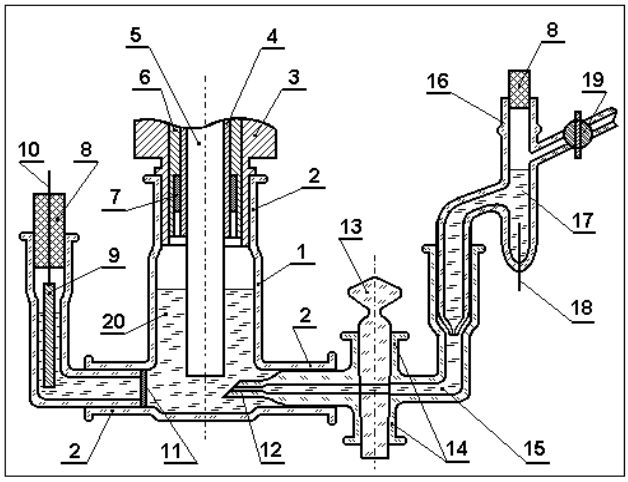

Рис. 2. ЭХЛ-ячейка с ВДЭ(К) из комплекса "ЭЛАН-2м": 1 – стеклянный корпус, объём 15 см^3; 2 – конические шлифовые муфты; 3 – посадочный конус узла вращения; 4 – патрон крепления узла ВДЭ(К); 5 – узел ВДЭ(К); 6 – направляющая втулка; 7,8 – фторопластовые уплотнительная прокладка и пробки; 9 – вспомогательный электрод, пластина из Pt 20×8×1 мм; 10 – электрический контакт подключения электрода 9 к электрохимическому программатору; 11 – перегородка (пористая мембрана); 12 – капилляр Лугина-Габера с краном 13 в конических шлифовых муфтах 14; 15 – солевой мостик (раствор соли электролита фона в растворителе ЭХЛ-композиции); 16 – корпус электрода сравнения (ЭС); 17 – солевой раствор НКЭ $Hg|Hg_2Cl_2|KCl$; 18 – электрический контакт подключения ЭС к бипотенциостату; 19 – кран для заполнения ЭС; 20 – ЭХЛ-композиция [2,12].

толщина – 50 мкм) составляет 50–8000 об/мин, скорость нарастания линейно-изменяющегося напряжения – 1 мВ/с–20 В/с. Кроме того, уменьшена погрешность установки параметров, повышена степень автоматизации комплекса, предусматривающая его сопряжение с ЭВМ.

Исследования проводили в ЭХЛ-ячейке, входящей в состав комплекса "ЭЛАН-2м" и приспособленной для проведения таких работ, рис. 2. Раствор с реагентами и инертный газ для барботирования вводили через соответствующие шлифовые соединения. В качестве электрода сравнения использовали насыщенный каломельный электрод (НКЭ), соединённый с реакционной смесью в рабочей камере солевым мостиком.

Синтез и очистка изученных замещенных ДГП описаны в [11]. Использованные электрохемилюминофоры – 9,10-дифенилантрацен (ДФА), 5,6,11,12-тетрафенилтетрацен (рубрен) и 1,5-дифенил-3-стирилпиразолин очищали перекристаллизацией из неполярного растворителя. Растворители – диметилформамид (ДМФА) и ацетонитрил – обезвоживали и очищали по известным методикам. Фоновым электролитом служил дважды перекристаллизованный тетрабутиламмоний перхлорат (ТБАП).

Аналитические сигналы – ток электролиза или фототок фотоэлектронного умножителя ФЭУ-140, автоматически преобразовываемые в напряжение электронным устройством, входящим в состав "ЭЛАН-2м", регистрировали аналоговым способом с помощью двухкоординатного графопостроителя. Два других двухкоординатных графопостроителя использовались для регистрации кривых "ток электродной реакции–потенциал" при работе в режиме ВДЭК, а в режиме ВДЭ их количество сокращалось до одного. Каждое измерение проводили не менее трёх раз, определяя среднюю величину и относительное стандартное отклонение аналитического сигнала. В случае необходимости аналитические сигналы получали в цифровом виде с помощью аналогово-цифровых преобразователей.

Результаты исследований

Методами ВДЭ и ВДЭК были изучены электрохимическое поведение на аноде и ЭХЛ-способность каждого из замещенных ДГП, причем для наблюдения ЭХЛ использовали электрохемилюминофор рубрен, потенциал полуволны $\varphi^a_{1/2}$ окисления которого (0,8 В отн. НКЭ в ДМФА) ниже, чем у практически всех изученных соединений ДГП. Это исключало вовлечение молекул ДГП в электрохимические процессы на индикаторном аноде ранее молекул рубрена. Принцип метода ВДЭК состоит в "перехвате" индикаторным кольцевым электродом генерируемых на диске продуктов. При исследовании механизма и кинетики электрохимических и ЭХЛ-реакций потенциал кольцевого электрода с помощью бипотенциостата устанавливали равным потенциалу анодной реакции электрохемилюминофора-детектора, а потенциал другого (кольцевого) электрода в анодной области изменяли по линейному закону, как в методе ВДЭ. В области кольца ион-радикальные формы рекомбинируют с образованием эмиттеров ЭХЛ.

В табл. 1 приведены формулы заместителей изученных соединений ДГП и потенциалы полуволн, а на рис. 3, в качестве примера – вольтамперограмма (зависимость анодного тока ВДЭК от линейно-изменяющегося со скоростью v потенциала) и вольтолюменограмма (зависимость фототока от потенциала) для одного из производных ДГП.

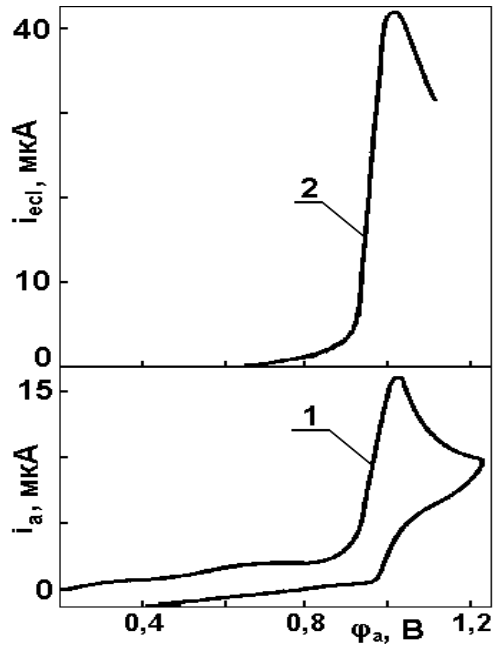

Рис. 3. Вольтамперограмма (ВАГ, 1), вольтолюминограмма (ВЛГ, 2) для производного ДГП № 1(табл. 1). Концентрации ДГП $5 \cdot 10^{-4}$ М, рубрена – 1 мМ, тетрабутиламония перхлората – 0,1 М, растворитель – ДМФА. Использован режим вращающегося дискового электрода с кольцом комплекса "ЭЛАН-2м". Скорость вращения 2000 об./мин; v=0,1 В/с.

Методика и результаты квантово-химических расчетов

При проведении расчетов использовали подход, изложенный нами ранее в [13]. Расчеты распределения электростатического потенциала по поверхности электронного облака молекул ДГП и спиновой плотности в катион-радикалах ДГП проводились с помощью полуэмпирического квантово-химического метода AM1 [14], реализованного в прикладном программном продукте HyperChem 7.01. Оптимизация геометрии молекул проводилась с помощью итерационного метода Полака-Рибира [15].

Статистическую обработку результатов исследований, полученных при экспериментальных измерениях потенциалов полуволн окисления и расчете энергии ионизации в изученных рядах молекул ДГП, проводили с применением средств Microsoft Excel 2003.

В результате корреляционного анализа [16] двух рядов веществ были получены зависимости, приведенные на рис. 7.

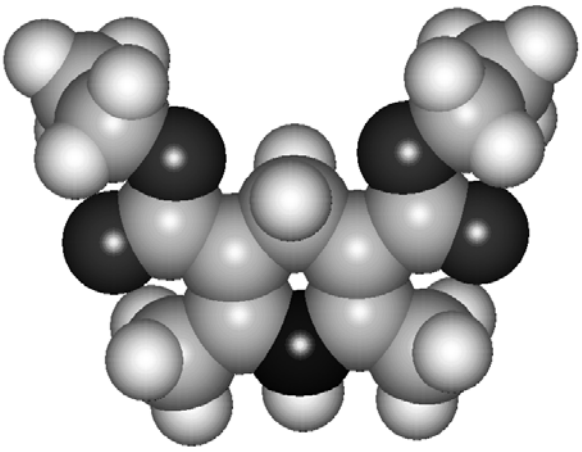

Рис. 4. Шариковая модель молекулы ДГП (№ 1, табл.1). На рисунке черные сферы – атомы азота и кислорода, темно-серые – углерод, светло-серые – водород.

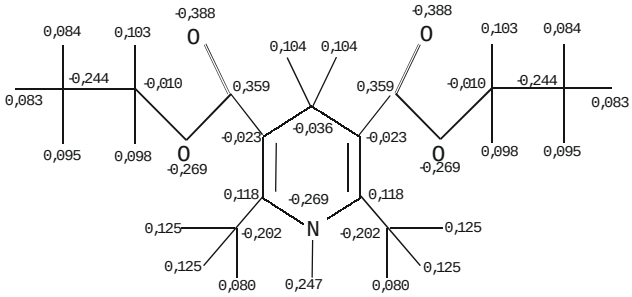

Рис. 5. Распределение плотности заряда π-электронов в молекуле производного ДГП № 1 (табл. 1)

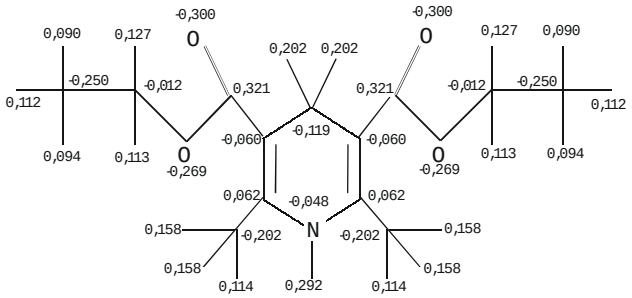

Рис. 6. Распределение плотности заряда π-электронов в катион-радикале производного ДГП № 1 (табл. 1)

Обсуждение результатов исследования

Из анализа данных полученных ВАГ, ВЛГ, электронного строения исследованных в работе молекулярных систем и корреляционных зависимостей (рис. 3–7) можно сделать ряд выводов.

Детектируемые интермедиаты анодных реакций ДГП *R*I и катион-радикалы индикатора $D^{+\bullet}$

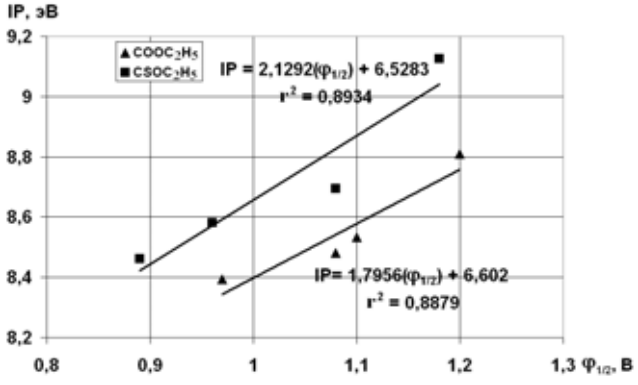

Рис. 7. Зависимость потенциала ионизации IP замещенных молекул ДГП от потенциала полуволны окисления

образуются на диске и кольце при различных анодных потенциалах, а "перехватываются" кольцом, что сопровождается испусканием анодной ЭХЛ. Условия опыта исключают участия анион-радикалов индикатора в "световых" процессах. Такое поведение указывает на: а) нуклеофильность интермедиатов *R*I по отношению к $D^{\bullet}$; высокую экзотермичность реакции "перехвата", достаточную для образования электронно-возбужденных молекул *D*; эффективную конкуренцию процесса "перехвата" с другими возможными последующими реакциями типа *EC* с участием интермедиаты анодных реакций ДГП (косвенное окисление, димеризация и т.п.) [10,11].

Квантово-химические расчеты показывают, что, во-первых, в рядах ДГП I, II наблюдается увеличение потенциала ионизации и потенциала окисления молекулы с ростом электронно-акцепторных свойств функциональной группы заместителя, что приводит к перераспределению электронной плотности пиридинового кольца. Для катион-радикала молекулы ДГП наблюдается уменьшение электронной плотности на пиридиновом кольце в области атома азота и углерода в γ-положении (рис. 6). Избыток электронной плотности в области азота молекулы указывает на ее способность к электрохимическому окислению, т.е. определяет реакционный центр, участвующий в переносе электрона. При этом следует отметить, что замещение водорода в γ-положении на электроноакцепторный заместитель (например, фенил) является весьма существенным фактором, влияющим на окисление молекулы, затрудняя его посредством уменьшения локальной π-электронной плотности на пиридиновом кольце, в том числе и атоме азота.

Во-вторых, при замещении кислорода на серу в группировках, расположенных в β-положении молекул ДГП, происходит дополнительное смещение π-электронной плотности с пиридинового кольца, как следствие, затруднение окисления молекулы. Это отражается в увеличении потенциала окисления и потенциала ионизации соответствующих соединений, рис. 7.

Из вышесказанного можно сделать ряд заключений об активном центре молекулы – нуклеофильной области, которая участвует в электрохимических реакциях окисления молекулы до катиона. В данном случае наиболее вероятным центром является атом азота в пиридиновом кольце, что хорошо видно при рассмотрении распределения заряда по скелету молекулы и ее катион-радикала для соединения № 1, рис. 5, 6. Кроме этого из корреляционных кривых, описываемых выражением $IP = k\varphi_{1/2} + b$, где k – резонансный интеграл, b – константа, включающая изменение энергии сольватации при реакции переноса электрона [16–18], имеем практически одинаковые значения b для обеих серий. Это указывает на одинаковую степень влияния растворителя на энергию сольватации, что хорошо согласуется с теорией, поскольку форма и размеры молекул этих рядов весьма схожи и изменения касаются только замещением кислорода в кетонной группировке на серу в β-положении ДГП.

Изменение коэффициента k в корреляционных уравнениях для данных серий (рис. 7), как показывают данные квантово-химических расчетов, наблюдается из-за перераспределения электронной плотности в различных замещенных ДГП.

Коэффициент корреляции для 1-го ряда r^2=0,8934, для 2-го – r^2=0,8879. Неточности в корреляции этих параметров обусловлены погрешностями в нахождении решения уравнения Шредингера численными методами в рамках приближения, принятого в теории самосогласованного поля, а также погрешностями эксперимента.

Исходя из полученных результатов совместного применения экспериментального метода "световых спиновых ловушек" и квантово-химических вычислений можно прийти к заключению о, как минимуме, наличии механизма *EC* в анодных процессах изученных замещенных ДГП, интермедиаты которых *R* I эффективно перехватываются катион-радикалами электрохемилюминофора-индикатора *D* с испусканием квантов ЭХЛ $h\nu_D$ по схеме:

$$A - e \rightarrow A^{\cdot +}, \quad (1)$$

$$D - e \rightarrow D^{\cdot +}, \quad (2)$$

$$A^{\cdot +} \rightarrow R/ + P, \quad (3)$$

$$D^{\cdot +} + R/ \rightarrow D^{*} + R, \quad (4)$$

$$D^{*} \rightarrow D + h\nu_{D}, \quad (5)$$

где А – изученные замещенные 1,4-ДГП, (4) – процесс "перехвата", т.е. "световая спиновая ловушка". Более подробная идентификация достаточно сложного механизма окисления данных соединений требует дополнительных экспериментальных и теоретических исследований, которые авторы планируют провести в дальнейшем.

Выводы

В работе показана перспективность использования метода "световых спиновых ловушек" в ЭХЛ-исследованиях анодных реакций производных ДГП, имеющих важное биологическое и фармакологическое значение. результаты изучения электрохимических, ЭХЛ-свойств молекул и их сопоставление с данными квантово-химических расчетов позволяют прогнозировать реакционную способность молекулы и судить о механизме реакций. Полученные корреляционные зависимости между измеренными потенциалами окисления производных ДГП и их рассчитанными потенциалами ионизации в вакууме, подтверждают адекватность проведенных квантово-химических расчетов. Кроме того, установленные корреляции позволяют на основании квантово-химических расчетов потенциалов ионизации изученных соединений ряда ДГП определять потенциал окисления – важный параметр электрохимических свойств веществ и *vice versa*.

Авторы выражают благодарность аспиранту кафедры БМЭ ХНУРЭ Д.В. Снежко за проведение квантово-химических расчетов и их обсуждение.

Литература

1. Нонхибел Д., Уолтон Дж. Химия свободных радикалов. Структура и механизм реакций / Перев. с англ. / Под ред. И.П. Белецкой. – М.: Мир, 1977. – 606 с.
2. Рожицкий Н.Н., Бых А.И., Красноголовец М.А. Электрохимическая люминесценция. – Харьков, ХТУРЭ, 2000. – 320 с.
3. Yan K.Y., Smith R.L., Collins S.D. Fluidic microchannel arrays for the electroforetic separation and detection of bioanalytes using electrochemiluminescence // Biomedical Microdevices. – 2000. – **2**, № 3. – P. 221–229.
4. Jifeng Liu, et al. Determination of sulpiride by capillary electrophoresis with end-column electrogenerated chemiluminescence detection // Clinical Chem. – 2002. – **48**, № 7. – P. 1049–1058.
5. Qiu H, et al. Simultaneous electrochemical and electrochemiluminescence detection for microchip and conventional capillary electrophoresis // Electrophoresis. – 2005. – **26**, № 3. – P. 687–693.
6. Jianzhen Kang, et al. Electrochemiluminescence quenching as an indirect method for detection of dopamine and epinephrine with capillary electrophoresis // Electrophoresis. – 2005. – **26**, № 9. – P. 1732–1736.
7. Белаш Е.М., Рожицкий Н.Н. Электрохемилюминесцентный метод "световых спиновых ловушек" – новый метод диагностики лабильных радикалов в различных системах // Радиотехника. – Науч.-техн. сб. – Вып. 111. – Харьков, 1999. – С. 108–117.
8. Belash E.M., Rozhitskii N.N. Study in situ of surface/solution interface by electrochemical luminescence. – Minsk, Proceedings. – Adv. Display Technologies. – 2002. – P. 120–124.
9. Белаш Е.М., Рожицкий Н.Н. Электрохемилюминесцентный (ЭХЛ) метод исследования электродных реакций, осложненных химическими стадиями. Механизмы реакций окисления и анодной ЭХЛ в системах с тетрафенилборатом натрия // Электрохимия. – 1996. – **32**, № 11. – С. 1369–1378.
10. Pragst F., Kaltofen B., Volke J., Kuthan J. Anodic dehydrogenation of 1,4-dihydropyridines // J. Electroanal. Chem. – 1981. – **119**, № 2. – P. 301–314.
11. Vigante B.A., Ozols Ya.Ya., Dubur G.Ya., Belash E.M., Beilis Yu.I. 1,4-Dihydropyridine-3,5-di-and 2-methyl-4-aryl-5-oxo-4,5-dihydro-1H-indeno [1,2-b]pyridine-3-carbothionic acid ethyl esters // Chem. Heterocyclic Comp. – 1984. – **20**, № 2. – P. 170–176.
12. Белаш Е.М., Кукоба А.В., Рожицкий Н.Н., Бых А.И. Аппаратура ЭЛАН-2м для гомогенного и гетерогенного электрохемилюминесцентного анализа // Журн. аналит. химии. – 1994. – **49**, № 9. – С. 1029–1031.
13. Snezhko D.V., Khrustalev K.L., Rozhitskii N.N. Computer model of radical recombination processes in optochemotronic sensors. – Minsk, Proceedings. – Adv. Display Technologies. – 2001. – P. 125–128.
14. Dewar M.J.S., Zoebisch E.G., Healey E.F., Stewart J.J.P., et al. AM1: a new general purpose quantum mechanical model // J. Am. Chem. Soc. – 1985. – **107**. – P. 3902–3909.
15. Press W.H., Flannery B.P., Teukolsky S.A., Vetterling W.T. Numerical recipes: the art of scientific computing. – Cambridge: Cambridge University Press, 1986. – 733 p.
16. Стрейтвизер Э. Теория молекулярных орбит / Перев. с англ. – М.: Мир, 1965. – 435 с.
17. Манн Ч., Барнес К. Электрохимические реакции в неводных системах / Перев. с англ. – М.: Химия, 1974. – 480 с.
18. Hoytink G.J. Cation-anion annihilation of naphthalene, anthracene, and tetracene // Chemiluminescence and Bioluminescence / Eds. M.J. Cormier, D.M. Hercules, J. Lee. – N.Y., London: Plenum Press, 1973. – P. 147–168.