

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ФІЗИКО-ОРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ І ВУГЛЕХІМІЇ
ім. Л.М.Литвиненка**

ІЛЬКЕВИЧ НАТАЛІЯ СЕРГІЇВНА

УДК 547.83:541.128

**ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА БУДОВА РЯДУ ІМІНО-ПОХІДНИХ
ГОСИПОЛУ**

02.00.04 – фізична хімія

**Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата хімічних наук**

Донецьк – 2011

Дисертація є рукописом.

Робота виконана в Інституті фізико-органічної хімії і вуглехімії
ім. Л.М.Литвиненка НАН України.

Науковий керівник доктор хімічних наук, професор
Рибаченко Володимир Іванович,
Інститут фізико-органічної хімії і вуглехімії
ім. Л.М. Литвиненка НАН України, головний
науковий співробітник

Офіційні опоненти: Матвієнко Анатолій Григорович, д.х.н., с.н.с.,
Донецький національний медичний університет
ім. М. Горького МОЗ України,
завідувач кафедри фармацевтичної
та токсикологічної хімії

Горбань Оксана Олександрівна, к.х.н., доцент,
Донецький фізико-технічний інститут
ім. О.О. Галкіна НАН України,
старший науковий співробітник відділу
фізичного матеріалознавства

Захист відбудеться „___” _____ 2011 р. о ___ годині на
засіданні спеціалізованої вченої ради в Інституті фізико-органічної хімії і
вуглехімії ім. Л.М.Литвиненка НАН України
(83114, м. Донецьк, вул. Р. Люксембург, 70)

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту фізико-органічної хімії
і вуглехімії ім. Л.М. Литвиненка НАН України
(83114, м. Донецьк, вул. Р. Люксембург, 70)

Автореферат розісланий „___” _____ 2011 р.

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради



Г.Ф.Раєнко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність. Поліфеноли рослинного походження давно та інтенсивно досліджуються і як хімічно і як біологічно значимі об'єкти. Серед їхньої величезної кількості - фенолові кислоти, катехіни, флаваноли й т.п., виділяється молекула - жовтий пігмент бавовни - госипол (2,2'-біс(8-форміл-1,6,7-тригідрокси-5-ізопропіл-3-метилнафтален)). Пов'язано це не стільки з особливостями молекулярної структури, що піддається подальшій хімічній модифікації, а скоріше з її різноманітними біологічними проявами, де досить відзначити лише унікальний вплив госиполу (G) на репродуктивну функцію. Разом із тим використання самого G у фармації обмежене через токсичність, носієм якої вважають альдегідні групи. Тому зараз значні зусилля спрямовуються на синтез різних похідних G для того, щоб, зменшивши токсичність, не тільки зберегти корисні властивості базової структури, але й підсилити і різноманітнити їх. Вже показано, що основи Шифа та гідрозони G більш дружні для культур клітин. Серед них знайдені сполуки, які *in vitro* пригнічують розмноження вірусів, ракових клітин, активні як інсектициди та ін. Можна припустити, що корисні властивості G і його імінів обумовлюються не тільки топологічними та структурно-динамічними особливостями відповідних молекул, але й реакційною здатністю функціональних груп, що містять рухливі атоми (O-H, N-H).

Зокрема, є вказівки на те, що біологічна активність госиполу, як і більшості інших природних поліфенолів, значною мірою «реалізується» через антиоксидантні властивості. Як багато поліфенолів, G і його похідні утворюють супрамолекулярні комплекси з іонами металів, що впливає на таутомерні рівноваги й, можливо, також є каналом впливу на реакційні та біологічні властивості.

Тому синтез нових, зокрема, іміно-похідних G, вивчення їхньої будови, супрамолекулярних і фізико-хімічних характеристик, стану в розчинах, реакційної здатності, пошук кореляцій структура-властивість є важливим як у науковому, так і прикладному аспектах.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами та темами. Робота виконана у відділі спектрохімічних досліджень Інституту фізико-органічної хімії та вуглехімії ім. Л.М. Литвиненка НАН України відповідно до плану теми: «Дослідження реакцій за участю O-, P, Si- подандів» (№ державної реєстрації 0106U001197).

Мета й завдання дослідження: Метою роботи було вивчення будови іміно-похідних госиполу, визначення їх комплексоутворюючої та антирадикальної активності, пошук закономірностей, що пов'язують структурні та реакційні характеристики. Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні основні завдання:

1. Одержати ряд нових похідних госиполу з амінами та гідразинами й встановити їхню будову.
2. Вивчити таутомерні перетворення іміно-похідних госиполу.
3. Дослідити будову та властивості комплексів імінів госиполу з катіонами металів.
4. Вивчити взаємодію госиполу та іміно-госиполу з киснем повітря.

5. Дослідити антиоксидантні властивості госиполу і синтезованих імінів підчас взаємодії зі стабільним радикалом 2,2 –дифеніл-1-пікрілгідразилом.
6. Виявити фактори, що впливають на реакційну здатність з ДФПГ і знайти зв'язок між структурними та реакційними характеристиками.
7. Дослідити бавовну української селекції сорту «Придніпровський» як сировину для виділення госиполу.

Об'єкт дослідження – госипол та його іміно-похідні.

Предмет дослідження – будова іміно-похідних госиполу, структура комплексів основи Шифа госиполу з катіонами, реакції взаємодії госиполу та його іміно-похідних з 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразилом (ДФПГ), реакція окислення госиполу та діаніліногосиполу.

Методи дослідження: ІЧ-спектроскопія – для ідентифікації сполук, вивчення будови нових сполук, їх комплексів і продуктів окислювання.

УФ-спектроскопія - для визначення концентрацій ДФПГ під час дослідження антиоксидантної активності госиполу та його похідних.

ЯМР-спектроскопія - для ідентифікації синтезованих сполук, вивчення таутомерних рівноваг, з'ясування структури комплексів і продуктів окислювання.

Мас-спектроскопія - для дослідження складу комплексів основи Шифа госиполу.

Газоволюмометрія - для вивчення кінетики поглинання кисню розчинами госиполу та діаніліногосиполу.

Квантово-хімічні розрахунки – для моделювання структур і таутомерних рівноваг госиполу та його іміно-похідних, визначення будови комплексів основи Шифа з катіонами металів, віднесення ІЧ-спектрів.

Наукова новизна отриманих результатів. Отримано низку нових іміно-похідних госиполу, встановлено їх структуру та стан у розчинах. Запропоновано схему взаємодії госиполу з киснем повітря. Вперше зроблено кількісну оцінку антиоксидантної активності вивчених сполук у реакції з ДФПГ і показано, що вивчені сполуки мають дуже високу антиоксидантну активність, особливо гідрозони госиполу. Вперше на прикладі основи Шифа та гідрозону госиполу оцінено вплив катіонів металів на антиоксидантну активність вивчених сполук. Вперше визначено вміст «вільного» госиполу в насіннях бавовни сорту «Придніпровський» української селекції.

Практичне значення отриманих результатів. Встановлення зв'язку між модифікованими структурами відомих природних сполук і їхньою біологічною активністю є основою для створення препаратів з високою ефективністю та вибірковістю дії. Отримані дані дозволяють розташувати похідні госиполу за ефективністю антиоксидантної дії та передбачити їх ефективність в умовах, що змінюються. Нові іміно-похідні госиполу є потенційними лікарськими засобами. Кількісні характеристики антиоксидантної активності досліджених сполук являють собою важливий довідковий матеріал.

Особистий внесок автора. Екстракція госиполу з насінь бавовни, синтез іміно-похідних госиполу, отримання комплексів GTDA з однозарядними катіонами, очистка розчинників і реагентів, проведення досліджень методом УФ-

спектроскопії, розрахунок та інтерпретація коливальних спектрів, обробка й інтерпретація отриманих результатів, огляд і аналіз літературних даних.

Співавтори опублікованих робіт з теми дисертації: В.І. Рибаченко – науковий керівник, планування експерименту, обговорення результатів; К.Ю. Чотій - планування експерименту, обговорення результатів; G. Schroeder – обговорення результатів; Н.І. Борисенко – обговорення результатів деяких кінетичних вимірів; О.Ф. Дмитрук – квантово-хімічні розрахунки, обговорення результатів кінетичних вимірів; В. Brzezinski – обговорення результатів; P.Przybylski – напівемпіричні розрахунки; F. Bartl - запис ІЧ-спектрів у далекій ІЧ-області; М.Г. Касянчук - проведення волюмометричних вимірів; О.М. Зарічна - квантово-хімічні розрахунки, В.А. Боровик - обговорення результатів.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень повідомлені на наступних конференціях: VIII Международном семинаре по магнитному резонансу (спектроскопия, томография и экология), Ростов на/Д, 11 – 16 сентября 2006 г., IV Международной конференции по новым технологиям и приложениям современных физико-химических методов (ЯМР, хроматография/масс-спектрометрия, ИК-Фурье спектроскопия и их комбинации) для изучения окружающей среды, Ростов на/Д, 18 – 22 сентября 2007 г.; III Міжнародній конференції з сучасних проблем фізичної хімії, Донецьк, 31 серпня – 3 вересня 2007 р.; IV Всероссийской научной конференции по новым достижениям в химии и химической технологии растительного сырья, Барнаул, 21 – 23 апреля 2009 г.; X Международном семинаре по магнитному резонансу (спектроскопия, томография и экология), Ростов на/Д, 1 – 5 июня 2009 г. – Ростов на/Д, 2009 г.

Публікації. Результати дисертації викладені в 7 опублікованих статтях і в 6 тезах конференцій:

Структура і обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, 3 розділів, висновків та списку літератури. Загальний обсяг роботи 141 друкарська сторінка. Дисертація містить 46 рисунків та 30 таблиць.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ

У вступі обґрунтовано актуальність теми, сформульовано мету і задачі проведених досліджень, визначено наукову новизну отриманих результатів та їх практичне значення.

Перший розділ містить огляд літератури щодо будови, фізико-хімічних та біологічних властивостей госиполу та його похідних.

У другому розділі наведено методику екстракції госиполу, методики синтезу деяких реагентів, зокрема іміно-похідних госиполу та фізико-хімічних експериментальних досліджень і розрахунків.

Госипол отримано екстракцією з насіння бавовни. Встановлено, що вміст «вільного» госиполу в насінні бавовни сорту Придніпровський становить 0,25%.

Визначено молярний коефіцієнт екстинкції ДФПГ у розчині етанолу $\varepsilon = 1,25 \times 10^4 \text{ л} \times \text{моль}^{-1} \times \text{см}^{-1}$. Типові кінетичні криві витрачання ДФПГ в

присутності основи Шифа госиполу з 1-(2-амінопропіл)-3,5-диметилпіразолом (GAPP) наведені на рис. 1.

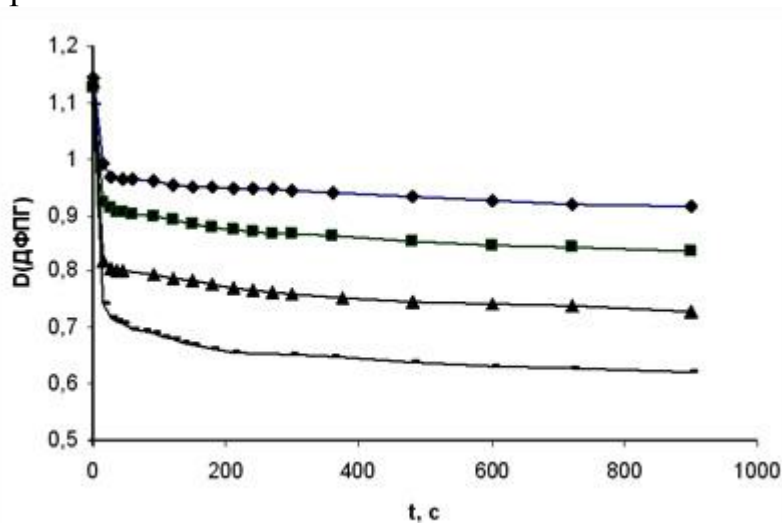


Рис. 1. Зміна оптичної густини розчину ДФПГ в етанолі в присутності GAPP ($C_{0 \text{ДФП}} \approx 1,8 \times 10^{-4}$ моль/л; ◆ - $C_{0 \text{GAPP}} = 1,15 \times 10^{-5}$ моль/л; ■ - $C_{0 \text{GAPP}} = 1,69 \times 10^{-5}$ моль/л; ▲ - $C_{0 \text{GAPP}} = 2,44 \times 10^{-5}$ моль/л; — - $C_{0 \text{GAPP}} = 2,67 \times 10^{-5}$ моль/л)

Залишковий вміст ДФПГ (%ДФПГ) у реакційній суміші оцінювали згідно з формулою (1):

$$\% \text{ДФПГ} = (D_t/D_0) \times 100, \quad (1)$$

де D_0 – оптична густина розчину в стані $t=0$, D_t – оптична густина в деякий момент часу.

На рис. 2. наведено типовий графік залежності %ДФПГ від концентрації GAPP у реакційній суміші. Отримуємо величину $EC_{50} = 3,11 \times 10^{-5}$ моль/л.

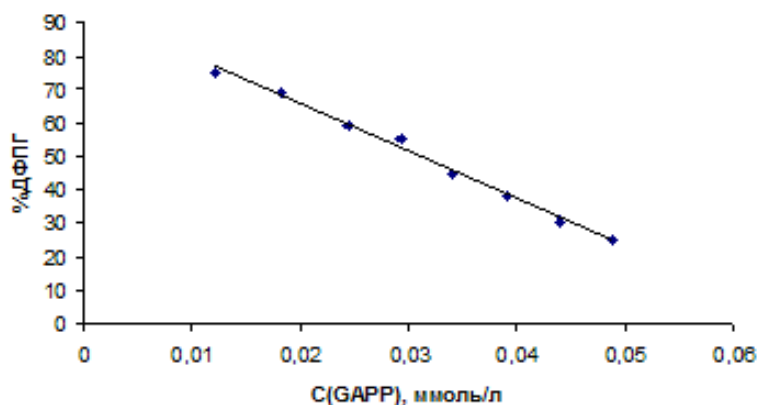


Рис. 2. Розрахунок величини EC_{50}^a для реакції GAPP з ДФПГ ($EC_{50} = 3,11 \times 10^{-5}$ М; $C_0 \text{ДФПГ} = 1,86 \times 10^{-4}$ М)

Третій розділ присвячено аналізу отриманих експериментальних даних.

Структуру можливих таутомерних форм госиполу та його синтезованих іміно-похідних наведено на рис. 3. GAPP, GGCP і GGCP синтезовані вперше.

Отримані спектроскопічні величини іміно-похідних госиполу наведені в табл. 1.

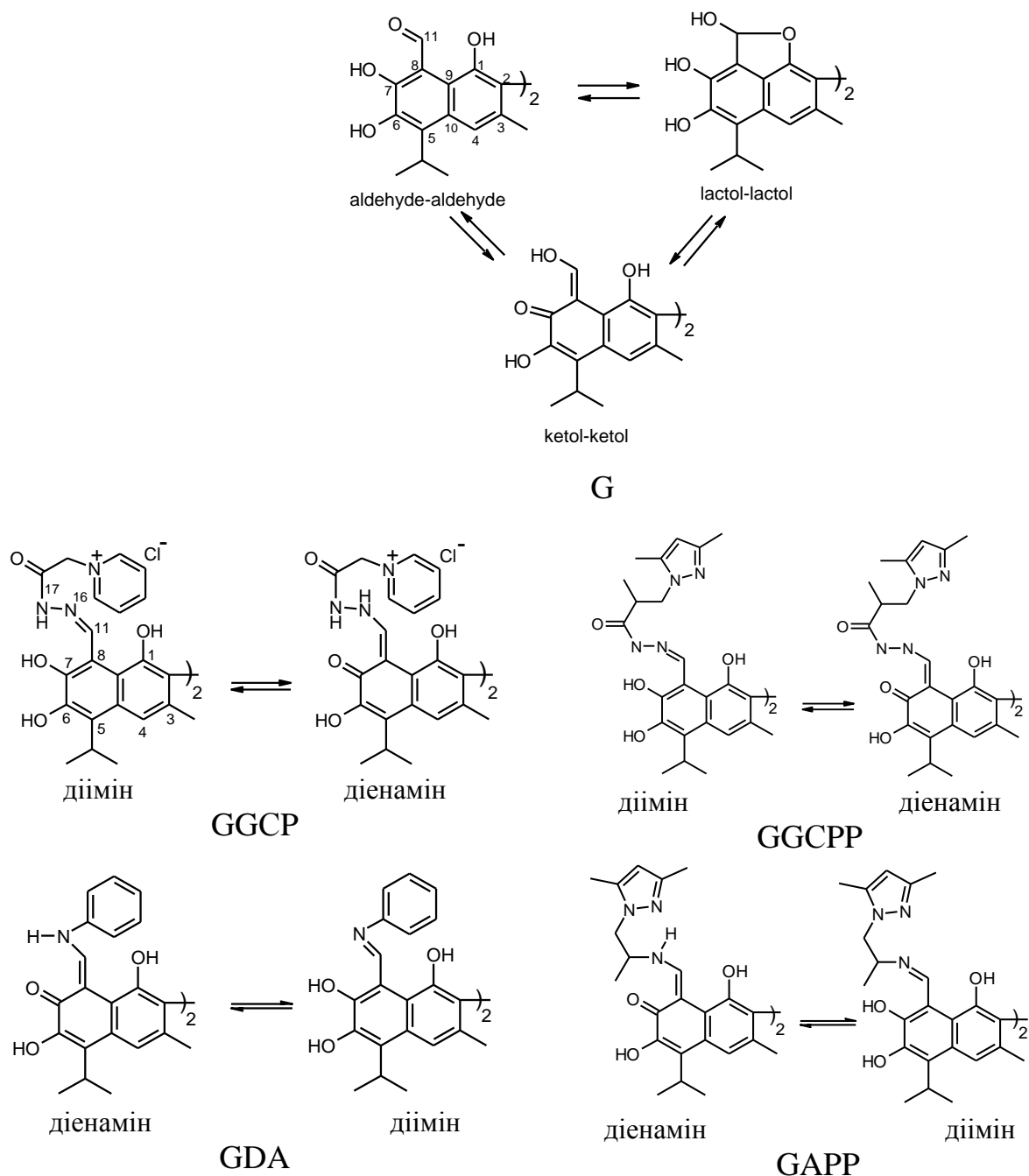


Рис. 3. Структура таутомерів і нумерація атомів молекули госиполу G та іміно-похідних госиполу: GGCP - дигідразон з 1-гідразинокарбонілметилпіридиній хлоридом; GGCPP - дигідразон з 1-(2-гідразинокарбонілпропіл)-3,5-диметил-1H-піразолом; GDA – діаніліногосипол; GAPP - основа Шифа з 1-(2-амінопропіл)-3,5-диметилпіразолом

В ІЧ-спектрах госиполу реєструється інтенсивне поглинання карбонільної групи, а в ЯМР – значно більша (~3 рази) величина сигналу C_{11} -H протонів, ніж O_1 -H. Це свідчить, що в ДМСО доміантною таутомерною формою госиполу є лактольна. В спектрах GDA та GAPP чітко розрізняються сигнали протонів O_1H , O_6H , $C_{11}H$, $N_{16}H$ груп і реєструється смуга середньої інтенсивності, що відповідає

коливанням зв'язку C=C. Дані ІЧ- та ЯМР-спектрів свідчать про те, що основи Шифа госиполу існують виключно в діенамінній таутомерній формі.

Таблиця 1

Хімічні зсуви (м.д.) протонів і частоти характеристичних коливань госиполу та його похідних

Сполука	δ , м.д. (розчини в DMSO-d ₆)						ν , см ⁻¹ (таблетки в KBr)		
	O ₁ H	O ₆ H	O ₇ H	C ₁₁ H	N ₁₆ H	N ₁₇ H	C=O	C=N	C=C
G	5,60	8,40	9,95	11,20	-	-	1619	-	1573
GDA	5,63	8,62	-	10,42	14,90	-	1615	-	1541
GAPP	5,69	8,33	-	9,20	13,25	-	1611	-	1554
GGCP	5,76	6,78	14,12	10,18	-	6,18	1694	1569	1635 1569
GGCPP	5,80	6,89	14,22	9,90	-	6,22	1606	1565	1570

В спектрах гідразонів (GGCP і GGCPP) проявляються сигнали всіх трьох ОН груп остова госиполу, сигнал протонів C₁₁-Н, зсунутий у слабке поле сигнал протонів групи N₁₇-Н, коливання ν (C=O) гідразидного фрагменту та азометинового C=N-зв'язку. Все це вказує на те, що гідразони госиполу, на відміну від азометинів, існують у розчинах як дііміни. На рис. 4 та 5 наведено експериментальні та розраховані методом РМЗ ІЧ-спектри госиполу та його іміно-похідних.

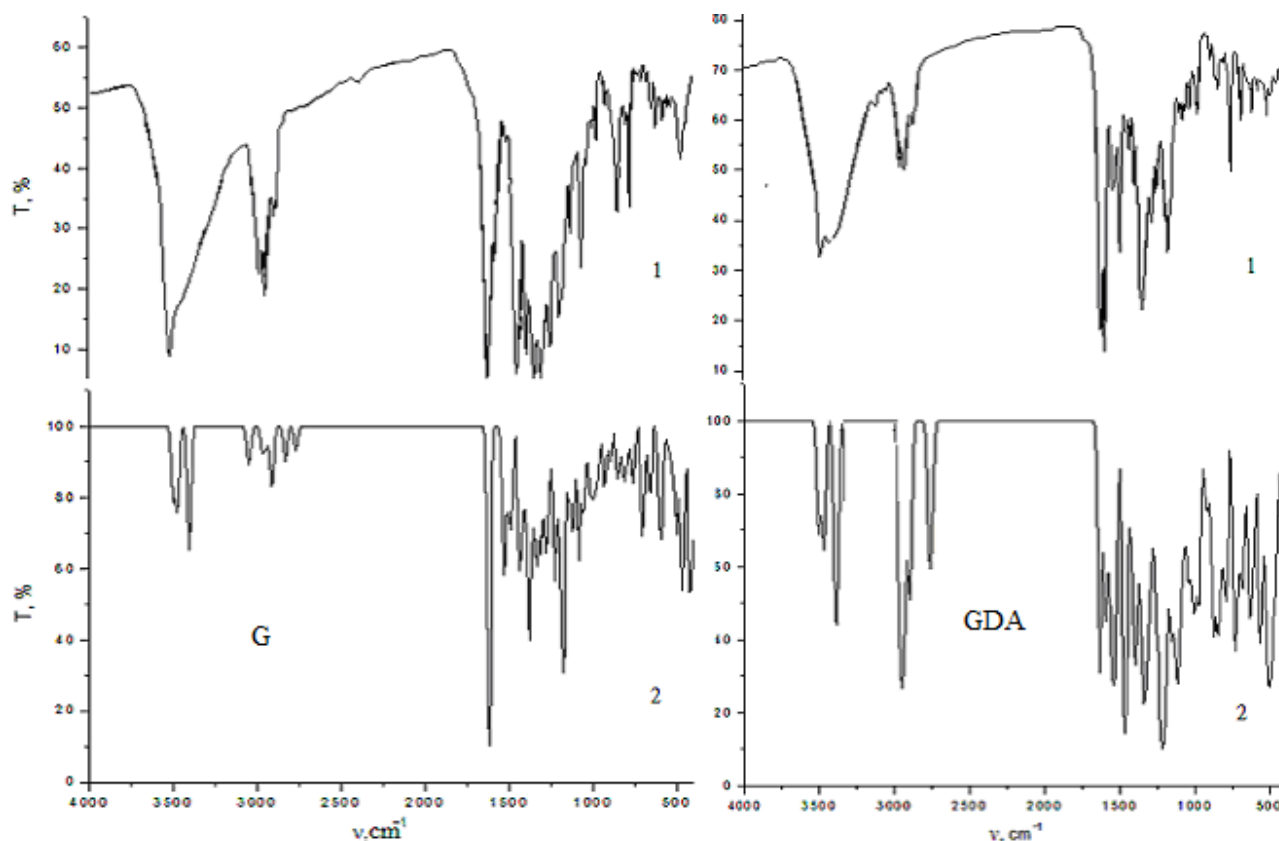


Рис. 4. ІЧ-спектри госиполу та GDA (1 – експериментальні, 2 – теоретичні)

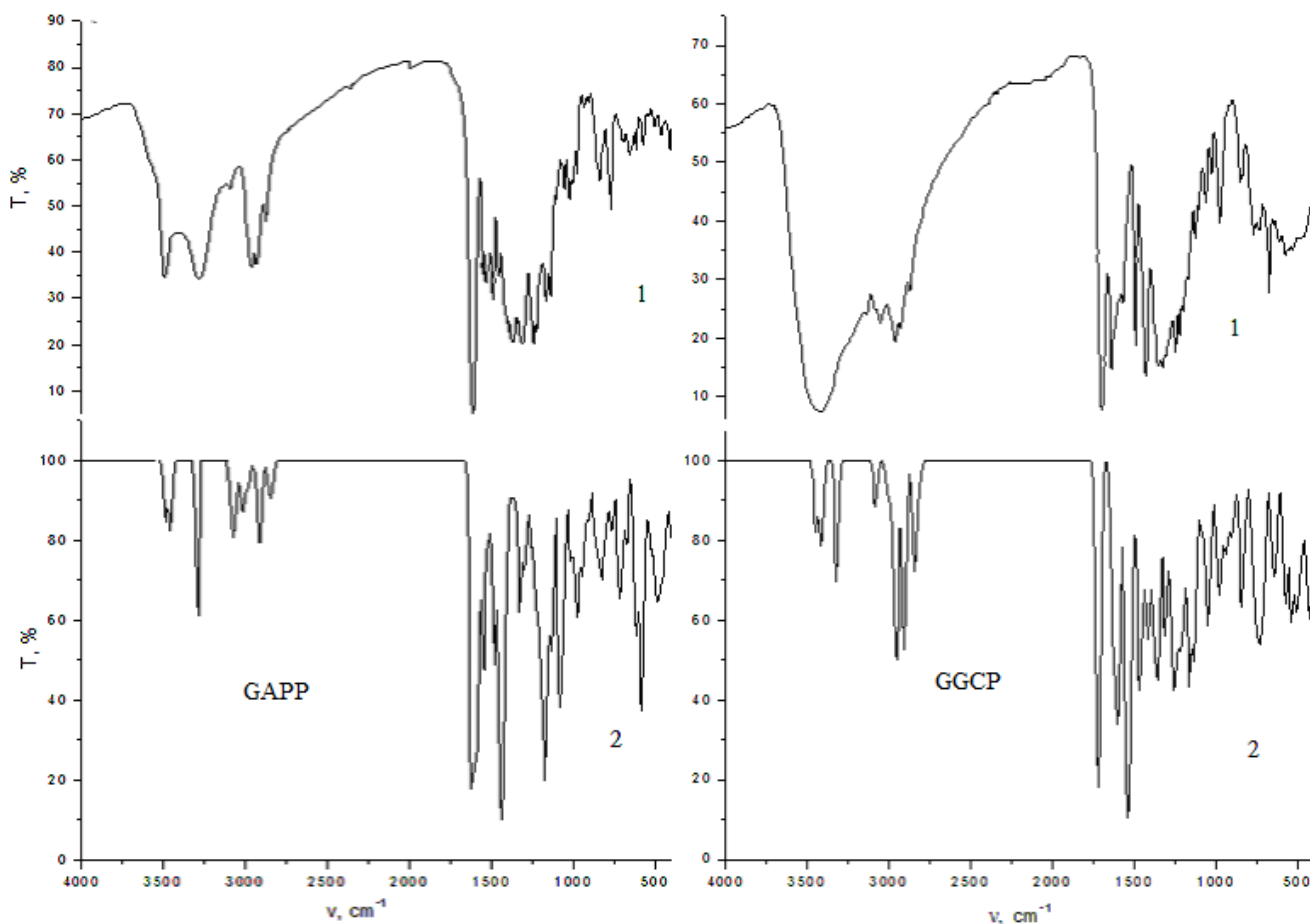


Рис. 5. ІЧ-спектри GAPP та GGCP (1 – експериментальні, 2 – теоретичні)

Повні енергії (E_{tot}) різних таутомерних форм G та GDA наведені в табл. 2. У випадку госиполу домінують дві таутомерні форми – лактольна та альдегідна. Для діаніліногосиполу енергія діенамінної форми менша ніж у діімінної, навіть за умови включення в розрахунки ефектів сольватації (зміна розчинника).

Таблиця 2

Повна енергія ($-E_{\text{tot}}$, ат. ед.) для таутомерних структур госиполу та діаніліногосиполу в різних розчинниках.

Таутомер- на форма	Розчинник				
	vacuum	C_6H_6	$CHCl_3$	CH_3OH	DMSO
$G_{\text{альд}}$	1751,709367	1751,724769	1751,735826	1751,749688	1751,747338
$G_{\text{лактол}}$	1751,698066	1751,718203	1751,733077	1751,751596	1751,749302
$G_{\text{кетол}}$	1751,660011	1751,685304	1751,702971	1751,722677	1751,721405
$GDA_{\text{енам}}$	2170,986352	2171,005081	2171,018457	2171,036631	2171,035489
$GDA_{\text{імін}}$	2170,973474	2170,988866	2171,000825	2171,016954	2171,014095

Структури комплексів основи Шифа госиполу з 3,6,9-триоксодециламіном (GTDA) досліджені за допомогою мас-, ЯМР- та ІЧ-спектроскопії й обраховані методом PM5 з використанням програми MORAC 2003. Структуру та нумерацію атомів молекули GTDA наведено на рис. 6.

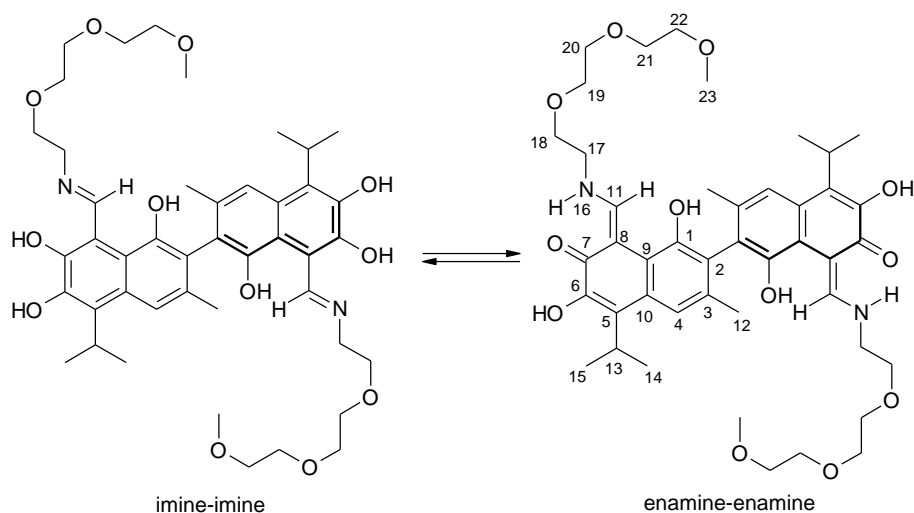


Рис. 6. Структура та нумерація атомів молекули GTDA

В ІЧ-спектрі GTDA в інтервалі $1800\text{-}1500\text{cm}^{-1}$ помітна інтенсивна смуга при 1624cm^{-1} . Наявність цієї смуги вказує на існування GTDA в діенамінній таутомерній формі. Згідно з даними мас-спектрів, GTDA з протоном, Li^+ і Na^+ утворює комплекси як 1:1, так і 1:2. З іонами K^+ , Rb^+ та Cs^+ утворюються лише комплекси 1:1. В разі присутності у розчині GTDA п'ятикратного надлишку кожного з катіонів металів, утворюються тільки комплекси з Li^+ та Na^+ .

ІЧ-спектри комплексу GTDA з H^+ (рис. 7) свідчать про те, що відбувається протонування атомів азоту молекули, яке призводить до зміни таутомерної форми з діенамінної на діімінну (смуга при 3150cm^{-1} відповідає валентним коливанням $\nu(=\text{N}^+\text{-H})$).

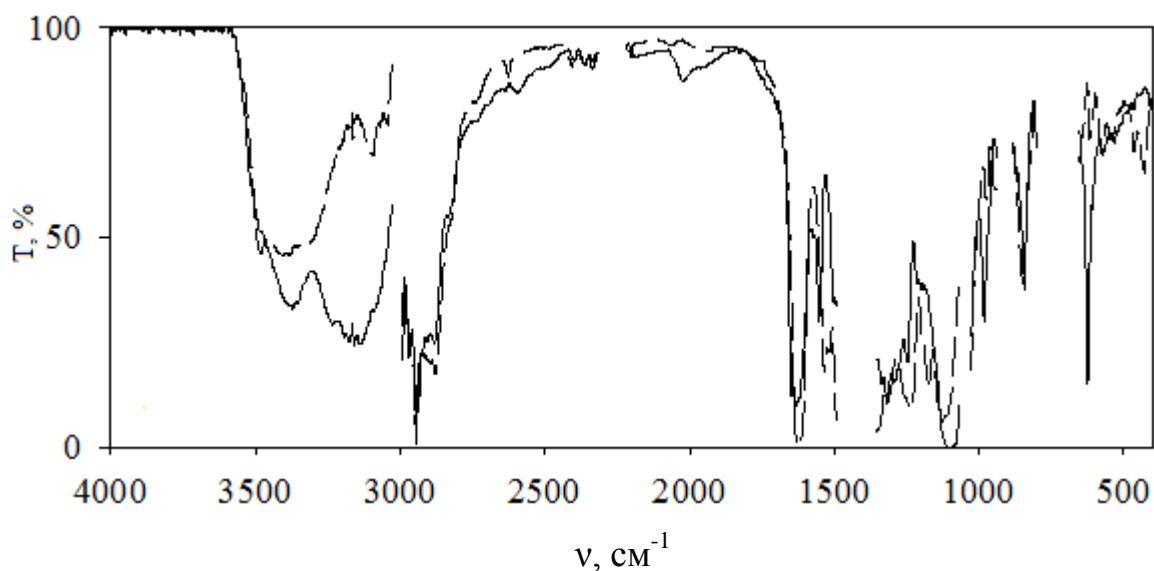


Рис. 7. ІЧ-спектр GTDA + 2H⁺ (—) та GTDA (----) в ацетонітрилі.

Порівняння спектрів комплексів GTDA з Li^+ та Na^+ (рис. 8) зі спектром самої основи Шифа вказує лише на незначні зміни інтенсивності та положення деяких смуг, що свідчить про незмінність таутомерної форми комплексу та про

координацію катіонів тільки з атомами триоксоалкільного ланцюга. Спектри комплексів з катіонами K^+ , Rb^+ та Cs^+ дуже подібні, та один з них наведено на рис. 9. Зміна інтенсивності та положення смуги при 3350 cm^{-1} , що відповідає валентним коливанням $\nu(O_1-H)$, свідчить про взаємодію цієї групи з катіоном.

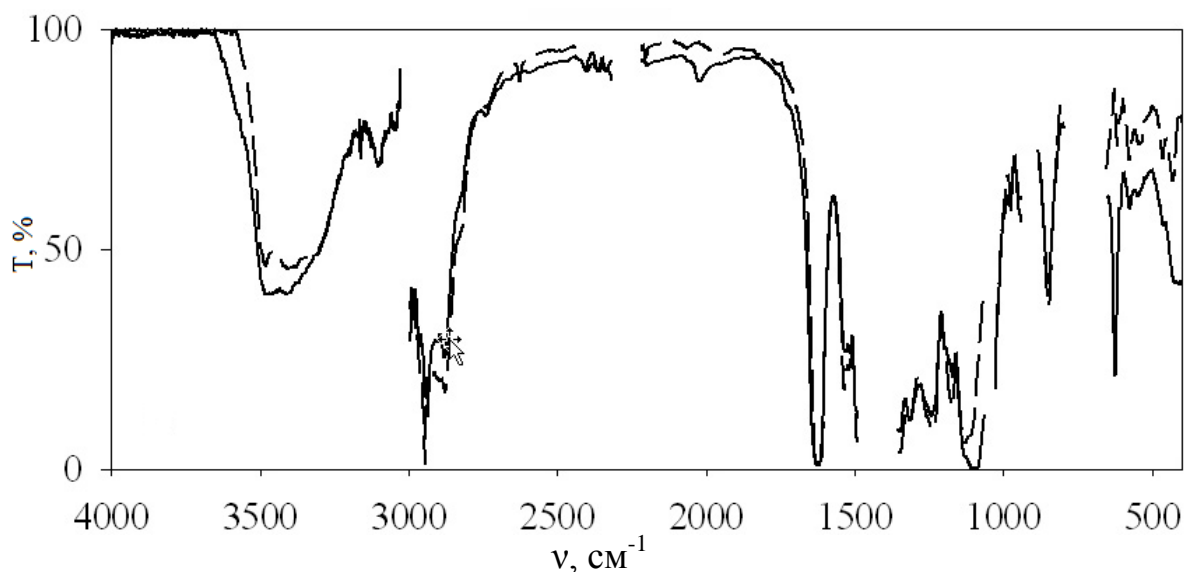


Рис. 8. ІЧ-спектр $GTDA + 2Li^+$ (—) та $GTDA$ (----) в ацетонітрилі.

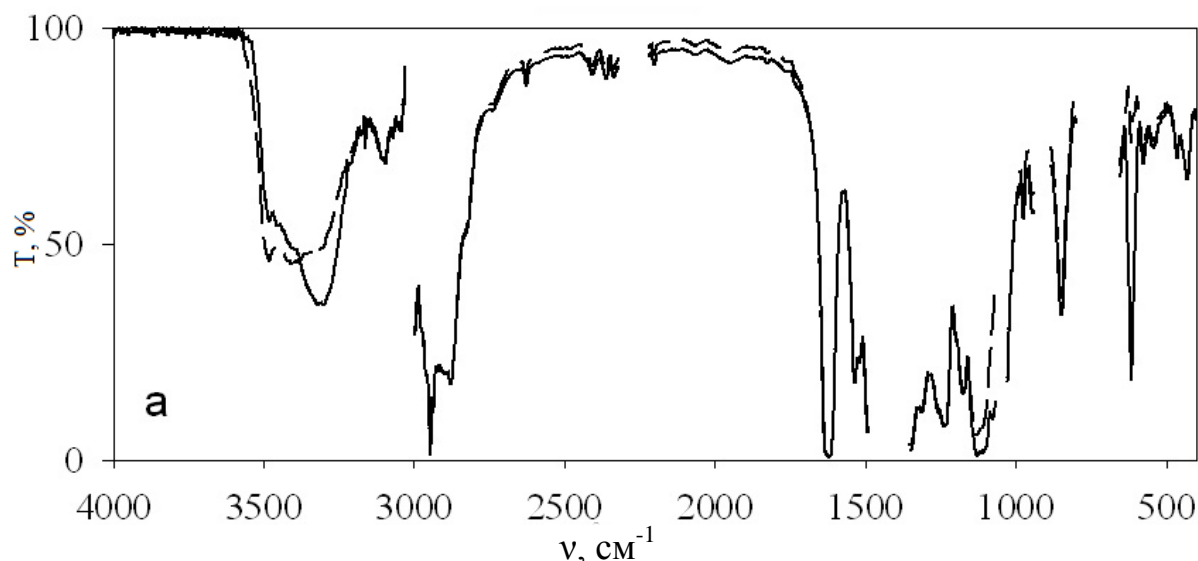


Рис. 9. ІЧ-спектр $GTDA + K^+$ (—) та $GTDA$ (----) в ацетонітрилі.

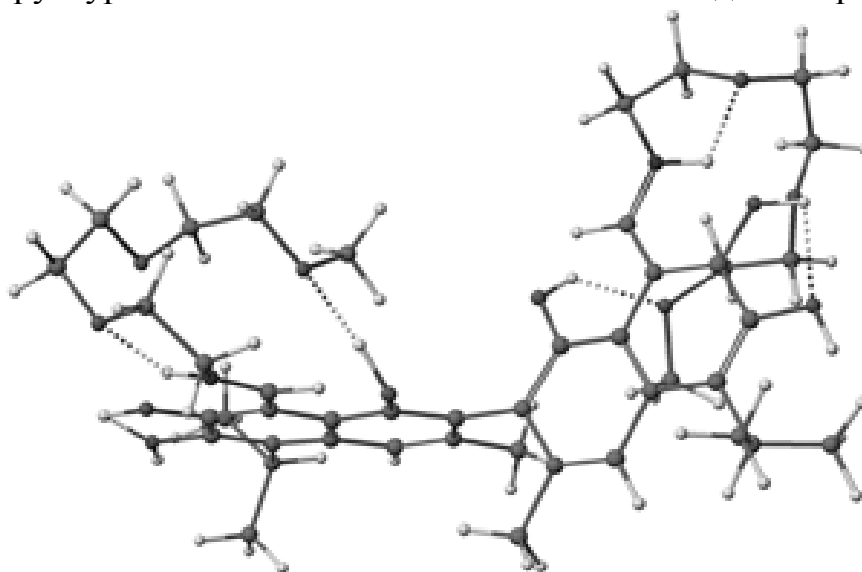
Спектри в далекій ІЧ-області комплексів $GTDA$ з Li^+ , Na^+ , K^+ та Rb^+ свідчать про флуктуацію катіону літію між атомами кисню триоксоалкільного ланцюга. В комплексі з Na^+ флуктуація катіону практично відсутня, а в комплексах з K^+ та Rb^+ поява двох смуг свідчить про формування двох типів комплексів.

У спектрі двомірного ЯМР (COSY) комплексу $GTDA$ з $2H^+$ сигнал протону O_7-H групи спостерігається при 7,19 м.д. Широкий сигнал від протонів, локалізованих на атомах азоту, з'являється при 12,10 м.д. Для комплексів $GTDA+2Li^+$ та $GTDA+2Na^+$ сигнали протонів груп O_1-H , O_6-H та $N_{16}-H$

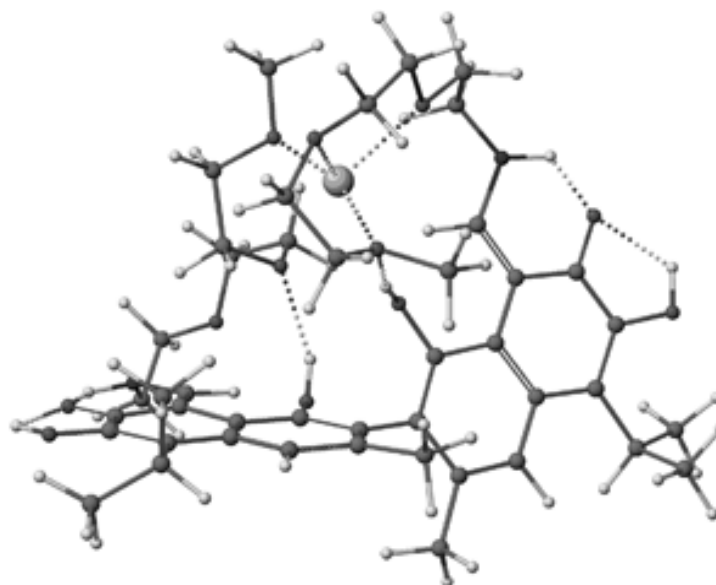
спостерігаються в областях 6,41-6,42 м.д.; 8,04-8,10 м.д.; 13,26-13,30 м.д. відповідно. Незначний зсув цих сигналів в порівнянні зі спектром GTDA свідчить про те, що госипольна частина молекули не взаємодіє з катіонами.

Наявність сигналу протона групи N₁₆-H (13,26 м.д.) свідчить про існування цих комплексів у діенамінній таутомерній формі. Це підтверджується даними спектрів COSY: протон групи N₁₆-H взаємодіє з протонами груп C₁₁-H та C₁₇-H (сигнали при 9,76 та 3,59 м.д., відповідно). В ЯМР спектрах інших комплексів спостерігаються подвійні сигнали протонів O₁-H груп. Це свідчить про те, що одна з цих груп взаємодіє з катіоном.

Структурні характеристики досліджених сполук отримано за допомогою методу PM5. Структури комплексів GTDA з 2H⁺ та Li⁺ наведені на рис.10.



а



б

Рис. 10. Структури комплексів: а) GTDA+2H⁺; б) GTDA+Li⁺

Вивчення поглинання кисню розчинами госиполу та діаніліногосиполу (GDA) проведено волюмометрично. Дослідження проводилися в системі ДМСО – радикальний ініціатор азадізобутиронітрил (АІБН).

Співвідношення максимальної кількості поглиненого кисню та госиполу в цілому є $(2,0 \pm 0,3):1,0$ моль. У випадку GDA це співвідношення було $(1,0 \pm 0,2):1,0$ моль.

За допомогою ЯМР- та ІЧ-спектроскопії встановлено вірогідні продукти окиснення госиполу (рис. 11).

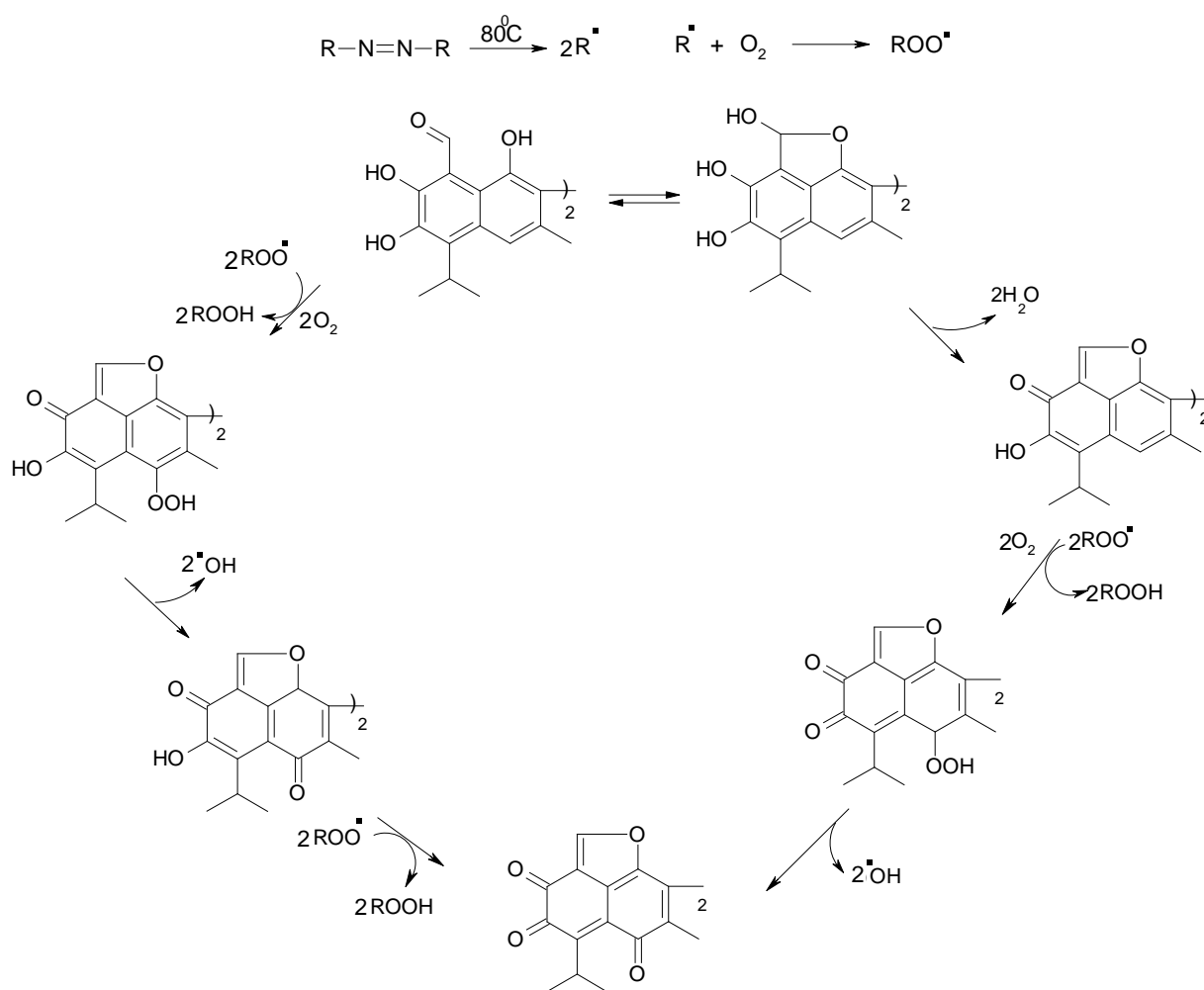


Рис. 11. Схема окиснення госиполу молекулярним киснем в ДМСО

Для кількісної оцінки антиоксидантної активності госиполу та його іміно-похідних обрано реакцію зі стабільним вільним радикалом 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразилом (ДФПГ) в розчинах етанолу. Під час реакції відбувається відрив рухливого атому водню з утворенням ДФПГ-Н та відповідних О-центрованих радикалів. Витрачання ДФПГ легко контролюється по зменшенню інтенсивності поглинання при $\lambda=518$ нм.

В таблиці 3 приведені характеристики антирадикальної активності госиполу та його похідних. Стехіометричний коефіцієнт n встановлює кількість радикалів, що захоплюються однією молекулою антиоксиданту (2).

$$n = (D_0 - D_t)/\varepsilon c_0 l, \quad (2)$$

де ε – молярний коефіцієнт екстинкції ДФПГ при 518 нм; c_0 – аналітична концентрація антиоксиданту; D_0 та D_t – оптична густина розчину ДФПГ при 518 нм в стані $t=0$ та в момент часу t ; l – товщина кювети.

Близькість стехіометричних коефіцієнтів n_{tot} госиполу та його імінів до загальної кількості ОН груп у їхніх таутомерних формах свідчить про те, що їх антиоксидантні властивості пов'язані з переносом Н тільки від фенольних ОН груп. У низці робіт для характеристики подібних реакцій запропоновано використовувати час, необхідний для досягнення рівноваги за початкової концентрації антиоксиданту EC_{50} (TEC_{50}). Однак через очевидні великі помилки визначення ці величини мало придатні для аналізу антиоксидантної активності. Краще використовувати як параметр час напівперетворення ДФПГ в конкретних умовах реакції ($T_{1/2}^{\text{ДФПГ}}$). Величини EC_{50} та $T_{1/2}^{\text{ДФПГ}}$ можна об'єднати, узявши добуток їх значень. Але для характеристики реакційної здатності ліпше використовувати обернену величину, тому що їх значення *a priori* антибатні антиоксидантній активності. Позначимо запропоновану характеристику реакції, як «антиоксидантна ефективність»:

$$AE = 1/EC_{50} \times T_{1/2}^{\text{ДФПГ}} \quad (3)$$

Співставлення величин АЕ вказує на те, що отримані гідрозони госиполу у 5 разів більш активні, ніж сам госипол, а основи Шифа – у 5-10 разів менш активні.

Таблиця 3

Характеристики антирадикальної активності госиполу та його похідних

Сполука	$EC_{50}^a (\times 10^5)$ моль/л	n_{300}^b	n_{tot}^b	n_{str}^g	$T_{1/2}^{\text{ДФПГ}}$ с	АЕ ($\times 10^{-3}$) л/моль \times с
G	1,92	3,95	4,8	6	20	2,60
GDA	3,07	2,51	3,1	6	90	0,36
GAPP	3,11	2,47	3,0	6	130	0,25
GGCPP	1,57	4,94	5,8	8	5-7	~12,0
GGCP	1,43	5,17	6,1	8	≥ 5	$\leq 14,0$
GAPP+2LiClO ₄	2,70	3,19	3,38	6	30	1,23
GAPP+2NaClO ₄	2,77	2,99	3,35	6	75	0,48
GAPP+2KClO ₄	3,25	2,49	2,70	6	180	0,17
GAPP+2Mg(ClO ₄) ₂	2,69	3,15	3,39	6	30	1,24
GGCP+2LiClO ₄	1,60	4,96	5,70	8	≤ 10	$\geq 6,25$
GGCP+2NaClO ₄	1,73	4,96	5,42	8	≤ 10	$\geq 5,78$
GGCP+2KClO ₄	1,68	4,97	5,60	8	≤ 10	$\geq 5,95$

^a концентрація антиоксиданту, необхідна для зменшення концентрації вільних радикалів $1,8 \times 10^{-4}$ М розчину ДФПГ у 2 рази;

^b стехіометричний коефіцієнт на ділянці 0-300 с;

^b стехіометричний коефіцієнт по завершенню реакції;

^г можлива кількість О-Н і(або) N-Н груп у молекулі антиоксиданту.

Розраховані потенціали іонизації (IP) та ентальпії дисоціації (BDE) найбільш слабких зв'язків O-H або N-H цих сполук. Як видно з рис. 12, існує кореляція між значеннями величин AE та BDE вивчених сполук ($AE = 70,734 - 0,8921 \times BDE$, $r = 0,9737$).

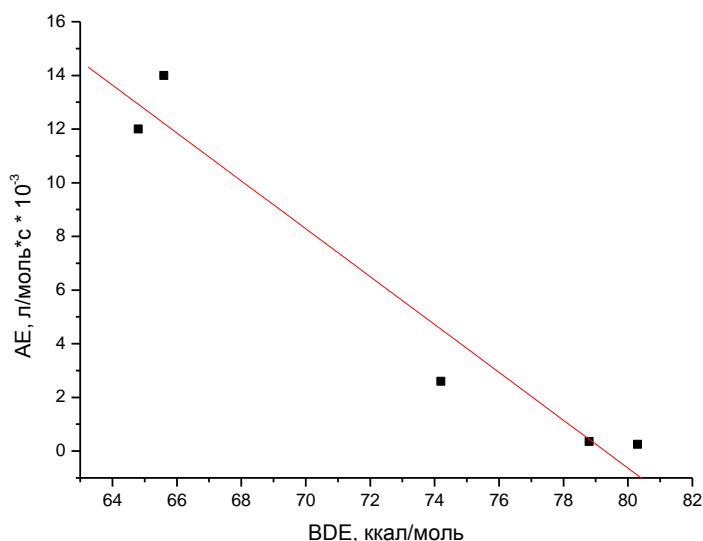


Рис. 12. Залежність величин AE госиполу та його іміно-похідних від величин BDE їх фенольних груп

Антирадикальна активність GAPP суттєво залежить від природи катіону (табл. 3). Присутність будь якого з перерахованих катіонів (за винятком калію) призводить до збільшення стехіометричних коефіцієнтів реакції n_{300} та n_{tot} , а також величин AE. В ряду катіонів Li^+ , Na^+ , K^+ максимальна антирадикальна активність спостерігається в присутності катіону Li^+ , який утворює найбільш стійкі комплекси з азометиновим фрагментом молекули. Присутність катіонів Li^+ та Mg^{2+} збільшує антиоксидантну ефективність GAPP приблизно в 5 разів. Зниження антиоксидантної активності в присутності K^+ можливо пов'язане з тим, що у комплексоутворенні з цим катіоном беруть участь також і OH групи госипольного фрагменту молекули. У випадку GGCP електростатичне відштовхування перешкоджає взаємодії катіонів металів з атомами азогрупи, і присутність будь якого з катіонів лише зменшує антирадикальну активність фенольних OH груп.

За збільшенням антирадикальної активності в реакції з ДФПГ, вивчені сполуки утворюють послідовність: $GAPP < GDA < \text{Госипол} < GGCP < GGCP$. В результаті можна зробити висновок, що модифікація госиполу шляхом введення гідразонових фрагментів є досить ефективним та перспективним засобом підвищення антиоксидантної активності базової структури природного поліфенолу.

ВИСНОВКИ

1. За допомогою методів ЯМР-, ІЧ-, УФ-спектроскопії вивчена будова п'яти іміно-похідних госиполу - основ Шифа с 3,6,9-триоксодециламіном (GTDA), 1-(2-амінопропіл)-3,5-диметилпіразолом (GAPP), аніліном (GDA) та гідразонів з 1-гідразинокарбонілметилпіридиній хлоридом (GGCP) і 1-(2-гідразинокарбонілпропіл)-3,5-диметил-1H-піразолом (GGCPP), визначена комплексоутворююча та антирадикальна активність цих сполук, знайдені закономірності, що пов'язують їх структурні та реакційні характеристики.

2. За допомогою ^1H , ^{13}C ЯМР-, ІЧ-спектроскопії, *ab initio*, PM3, PM5 квантово-хімічних розрахунків вивчені таутомерні рівноваги іміно-похідних госиполу і показано, що основи Шифа госиполу існують в розчинах як діенаміни, а гідразони як дііміни. Виконано віднесення смуг поглинань в ІЧ-спектрах госиполу та його імінів.

3. Досліджено комплексоутворення GTDA з однозарядними катіонами (H^+ , Li^+ , Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+) та з допомогою ESI мас-спектрометрії, ІЧ-, ^1H ЯМР-спектроскопії показано, що у випадку Li^+ і Na^+ утворюються комплекси складу 1:1 та 1:2, а для K^+ , Rb^+ та Cs^+ тільки складу 1:1. В координації K^+ , Rb^+ та Cs^+ бере участь атом кисню $\text{O}_1\text{-H}$ групи госипольного фрагменту. В усіх комплексах з катіонами металів GTDA знаходиться в діенамінній таутомерній формі, але у випадку H^+ реалізується діімінна форма.

4. Окиснення госиполу та GDA відбувається як радикально ініційована реакція (з додаванням АІБН). Встановлені продукти та запропонована схема окиснення госиполу.

5. Всі досліджені сполуки мають високі антиоксидантні властивості. Госипол і, особливо, його гідразони, за своєю антиоксидантною активністю значно перевершують типові поліфенольні сполуки природного походження (фенолові кислоти, катехіни, флаванолі та ін.). Основи Шифа госиполу менш реакційно здатні, ніж гідразони, але їх антиоксидантна активність, на відміну від гідразонів, збільшується підчас комплексоутворення з катіонами металів.

6. Антиоксидантні властивості госиполу та його імінів у реакції з ДФПГ обумовлені переносом атомів водню від фенольних О-Н груп, іміногрупи антирадикальної активності не мають.

7. Показано існування кореляції між величинами ентальпій дисоціації О-Н зв'язків з найменшими значеннями BDE досліджених поліфенолів та їх антиоксидантною ефективністю (AE).

8. Встановлено вміст «вільного» госиполу в насінні бавовни сорту «Придніпровський» української селекції, який становить 0,25% ваги насіння.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. The Schiff Base of Gossypol with 3,6,9-trioxa-decylamine Complexes with Monovalent Cations Studied by MS, ^1H NMR, FT-IR, as well as PM5 Semiempirical Methods [Text] / P. Przybylski, N. Ilkevych, G. Schroeder, B. Brzezinski, F. Bartl // Biopolymers (Biospectroscopy). - 2004. - Vol. 72. - P. 470 - 483.
2. Окиснення госсиполу та діаніліногоссиполу молекулярним киснем у диметилсульфоксиді [Текст] / Н. Ількевич, М. Касянчук, Б. Бжезінський // Донецький вісник Наукового товариства ім. Шевченка: Хімія. - 2006. - Т 10. - С. 23 - 28.
3. Изучение реакции госсипола с 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом [Текст] / В.И. Рыбаченко, Н.С. Илькевич, Г. Шредер, А.Ф. Дмитрук, К.Ю. Чотий, В.А. Боровик // Научные труды Донецкого Национального Технического Университета. Серия: Химия и химическая технология. – 2007. - Вып. 119(9). - С. 77 – 80.
4. Вивчення реакції діаніліногоссиполу з 2,2-дифеніл-1-пикрилгидразилом [Текст] / Н.С. Ількевич, В.І. Рибаченко, К.Ю. Чотий, Г. Шредер // Донецький вісник Наукового товариства ім. Шевченка: Хімія. - 2008. - Т 21. - С. 15 - 19.
5. Вивчення антирадикальної активності гідразону госсиполу [Текст] / Н.С. Ількевич, В.І. Рибаченко, К.Ю. Чотий, Г. Шредер, А.Ф. Дмитрук // Донецький вісник Наукового товариства ім. Шевченка: Хімія. - 2008. - Т 21. - С. 20 - 24.
6. Антиоксидантные свойства госсипола и его некоторых имино-производных [Текст] / Н.С. Илькевич, В.И. Рыбаченко, Г. Шредер, А.Ф. Дмитрук, К.Ю. Чотий // Научные труды Донецкого Национального Технического Университета. Серия: Химия и химическая технология. – 2009. - Вып. 152(13). - С. 110 – 117.
7. Изучение реакции госсипола и его имино-производных с 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом [Текст] / Н.С. Илькевич, В.И. Рыбаченко, Г. Шредер, А.Ф. Дмитрук, К.Ю. Чотий // Ж. общей химии. – 2010. – Т. 80, № 2. – С. 276 – 282.
8. Окисление госсипола и дианилиногоссипола молекулярным кислородом [Текст] / Н.С. Илькевич, М.Г. Касянчук, В. Brzezinski, И.А. Опейда, В.И. Рыбаченко, Н.И. Борисенко // VIII Международный семинар по магнитному резонансу (спектроскопия, томография и экология), Ростов на/Д, 11 – 16 сентября 2006 г. – Ростов на/Д, 2006. - С. 150.
9. Получение, антирадикальная активность и спектроскопические характеристики ряда производных госсипола [Текст] / Н.С. Илькевич, В.И. Рыбаченко, К.Ю. Чотий, Г. Шредер, А.Ф. Дмитрук, Н.И. Борисенко // Тез. докл. IV Международной конф. по новым технологиям и приложениям современных физико-химических методов (ЯМР, хроматография/масс-спектрометрия, ИК-Фурье спектроскопия и их комбинации) для изучения окружающей среды, Ростов на/Д, 18 – 22 сентября 2007 г. – Ростов на/Д, 2007. - С. 31.
10. Реакция госсипола и его производных с 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом [Текст] / Н.С. Илькевич, В.И. Рыбаченко, К.Ю. Чотий,

Г. Шредер, А.Ф. Дмитрук // Тез. доп. III міжнародної конференції з сучасних проблем фізичної хімії, Донецьк, 31 серпня – 3 вересня 2007 р. – Донецьк, 2007. - С. 74 – 75.

11. An *ab initio* study of tautomeric isomerism of gossypol [Text] / A.F. Dmitruk, V.I. Rybachenko, S.Yu. Chotii, N.S. Ilkevych, O.M. Zarechnaya // Тез. доп. III міжнародної конференції з сучасних проблем фізичної хімії, Донецьк, 31 серпня – 3 вересня 2007 р. – Донецьк, 2007. - С. 76.

12. Антиоксидантные свойства госсипола и его некоторых имино-производных [Текст] / Н.С. Илькевич, В.И. Рыбаченко, Г. Шредер, А.Ф. Дмитрук, К.Ю. Чотий // Тез. докл. IV Всероссийской научной конференции по новым достижениям в химии и химической технологии растительного сырья, Барнаул, 21 – 23 апреля 2009 г. – Барнаул, 2009. - С. 284 – 286.

13. Получение и спектроскопические характеристики азапроизводных госсипола [Текст] / Н.С. Илькевич, В.И. Рыбаченко, Г. Шредер, К.Ю. Чотий, Л.В. Гребенюк, А.Н. Редько, Н.И. Борисенко // Тез. докл. X международного семинара по магнитному резонансу (спектроскопия, томография и экология), Ростов на/Д, 1 – 5 июня 2010 г. – Ростов на/Д, 2010. – С. 95.

АНОТАЦІЯ

Ількевич Н. С. Фізико-хімічні властивості та будова ряду іміно-похідних госсиполу. - Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.04 – фізична хімія. – Інститут фізико-органічної хімії і вуглекімії ім. Л.М. Литвиненка Національної Академії наук України, Донецьк, 2011.

Синтезовано п'ять іміно-похідних госсиполу, чотири з яких – нові сполуки. Методами ІЧ-, ЯМР-спектроскопії та квантової хімії досліджено таутомерні рівноваги природного поліфенолу госсиполу та його іміно-похідних. За допомогою квантово-хімічних розрахунків (PM3) зроблено повне віднесення смуг поглинання в ІЧ-спектрах госсиполу та його іміно-похідних.

Структура комплексів основи Шифа госсиполу з 3,6,9-триоксодециламіном досліджена за допомогою мас-, ІЧ- та ЯМР-спектроскопій. Структури комплексів розраховано методом PM5 за допомогою програми MOPAC 2003. З'ясовано, що основа Шифа утворює комплекси 1:1 з H^+ , K^+ , Rb^+ і Cs^+ та комплекси 1:2 з H^+ , Li^+ і Na^+ . Доведено, що всі комплекси з катіонами металів існують в дієній формі, а комплекс з протоном - в дієній формі.

Вперше експериментально підтверджено взаємодію госсиполу з повітрям. Запропоновано схему окиснення госсиполу.

Вивчено взаємодію госсиполу та його іміно-похідних з 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразилом (ДФПГ) в етанолі. Антиоксидантну активність сполук в реакції з ДФПГ оцінено за допомогою стехіометричних коефіцієнтів реакції, ES_{50} , $T_{1/2}^{ДФПГ}$ та АЕ параметрів. Показано, що гідрозони госсиполу в 5 разів більш ефективні, а основи Шифа менш ефективні антиоксиданти, в порівнянні з самим

госиполом. Досліджено вплив катіонів металів на антиоксидантну активність похідних госиполу.

Визначено вміст „вільного” госиполу в насінні бавовни (сорт Придніпровський української селекції) по методиці, що запропонована Адамсом.

АННОТАЦИЯ

Илькевич Н. С. Физико-химические свойства и строение ряда имино-производных госипола. - Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 - физическая химия. - Институт физико-органической химии и углехимии им. Л.М.Литвиненко Национальной Академии наук Украины, Донецк, 2011.

Синтезировано пять имино-производных госипола, четыре из которых – новые соединения. Методами ИК-, ЯМР-спектроскопии и квантовой химии исследовано таутомерное равновесие госипола и его имино-производных. В ИК-спектрах госипола регистрируется интенсивное карбонильное поглощение, а в ЯМР – значительно бóльшая (~3 раза) величина сигнала C_{11} -H протонов, чем O_1 -H. В спектрах GDA наблюдаются сигналы протонов C_{11} -H и N_{16} -H групп и проявляются колебания внекольцевой $C=C$ -связи. Подобное характерно и для другого азометинового производного (GAPP), в спектрах которого отчетливо различаются сигналы протонов O_1 H, O_6 H, C_{11} H, N_{16} H групп и регистрируется уширенная полоса средней интенсивности колебаний связи $C=C$.

В спектрах гидразонов (GGCP и GGCPH) проявляются сигналы всех трех O-H групп остова госипола, сигнал протонов C_{11} -H, смещенный в слабое поле сигнал протонов группы N_{17} -H, колебания $\nu_{C=O}$ гидразидного фрагмента и азометиновой $C=N$ -связи. Все это указывает на то, что гидразоны госипола, в отличие от азометинов, существуют в растворах как диимины.

В случае госипола наиболее предпочтительны две таутомерные формы – альдегидная и лактольная. Для дианилиногосипола энергия диенаминной формы ниже дииминной, и такое различие энергий таутомерных форм сохраняется при включении в расчеты эффектов сольватации («варьировании растворителя»). С помощью квантово-химических расчетов (PM3) колебательных спектров произведено полное отнесение полос в инфракрасных спектрах госипола и его имино-производных.

Структура комплексов основания Шиффа с 3,6,9 - триоксодециламином исследована с помощью масс-, ИК- и ЯМР-спектроскопии. Структуры комплексов рассчитаны методом PM5 с помощью программы MORAC 2003. Установлено, что изученное основание Шиффа образует комплексы с H^+ , Li^+ , Na^+ , K^+ , Rb^+ и Cs^+ . Анализ масс-спектров свидетельствует, что в присутствии всех катионов металлов преимущественно образуются комплексы с Li^+ , Na^+ и K^+ . Установлено, что основание Шиффа образует комплексы 1:1 с H^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ и комплексы 1:2 и 1:1 с H^+ , Li^+ и Na^+ . Доказано, что все комплексы с катионами металлов существуют в диенаминной таутомерной форме. В случае комплекса 1:2

с H^+ , в котором протоны локализируются на атомах азота, реализуется дииминная форма.

В координации Li^+ и Na^+ участвуют только атомы кислорода триоксоалкильной цепи, тогда как в случае K^+ , Rb^+ и Cs^+ реализуется два типа комплексов. При этом катионы металлов дополнительно взаимодействуют с одним из кислородов O_1H или $O_1\cdot N$ групп госсипольной части молекулы.

Впервые экспериментально подтверждено взаимодействие госсипола с кислородом воздуха. Предварительные эксперименты показали, что скорость окисления госсипола в ДМСО в присутствии КОН чрезвычайно мала – менее 10^{-7} моль/л \times с, поэтому дальнейшие эксперименты проводились в системе госсипол/радикальный инициатор АИБН. Соотношение максимального количества поглощённого кислорода и госсипола в целом составляет: – $(2,0 \pm 0,3) : 1,0$ моль. В случае GDA это соотношение было $(1,0 \pm 0,2) : 1,0$ моль. Зафиксировано образование диангидрогоссипола в качестве промежуточного продукта окисления госсипола. С использованием ИК- и ЯМР-спектроскопии установлены вероятные продукты окисления госсипола и предложена схема его окисления.

Изучено взаимодействие госсипола и его имино-производных с 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом в этаноле. Антиоксидантная активность соединений в реакции с ДФПГ оценена с помощью стехиометрических коэффициентов реакции, EC_{50} , $T_{1/2}^{ДФПГ}$ и АЕ параметров. Показано, что гидразоны госсипола в 5-10 раз более эффективные, а основания Шиффа менее эффективные антиоксиданты, в сравнении с самим госсиполом. По возрастанию антирадикальной активности в реакции с ДФПГ, изученные соединения образуют последовательность: $GAPP < GDA < \text{Госсипол} < GGCP < GGCP$.

Методом РМЗ рассчитаны потенциалы ионизации (IP) и энтальпии диссоциации (BDE) наиболее слабых связей (O-H или N-H) госсипола и его имино-производных. Показано существование корреляции между значениями величин АЕ и BDE изученных соединений.

Исследовано влияние катионов на антиоксидантную активность производных госсипола. Показано, что присутствие катионов Li^+ , Na^+ и Mg^{2+} приводит к возрастанию антирадикальной активности GAPP в 5 раз. Снижение активности в присутствии K^+ возможно связано с тем, что в комплексообразовании с этим катионом, помимо азометинового фрагмента, участвуют и ОН группы госсипольной части молекулы. Связывание $O_1\cdot N$ или $O_1\cdot N$ группы с катионом препятствует взаимодействию атома водорода этой группы с ДФПГ. Для GGCP, где электростатическое расталкивание препятствует взаимодействию катионов металлов с атомами азогруппы, присутствие любого из катионов металлов в растворе только уменьшает антиоксидантную активность фенольных ОН групп. В результате антиоксидантная активность GGCP снижается в 2 - 2,5 раза.

Определено содержание госсипола в семенах хлопка (сорт Приднепровский украинской селекции) по методике, предложенной Адамсом.

SUMMARY

Ilkevych N. S. Physicochemical properties and structure of some gossypol imine derivatives. – Manuscript.

Thesis for a scientific degree of Cand.Chem.Sci. by speciality 02.00.04. – physical chemistry. – L.M. Litvinenko Institute of Physical Organic and Coal Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine, Donetsk, 2011.

Five gossypol imine derivatives have been synthesized (four of them are new compounds). The tautomeric equilibrium of natural polyphenol gossypol and its imine derivatives have been studied by IR, NMR spectroscopy and quantum chemistry methods. Infrared absorption spectra of studied compounds have been simulated using the PM3 method.

A new Schiff base of gossypol with 3,6,9-trioxa-decylamine forms stable complexes with monovalent cations. This process of complex formation have been studied by ESI mass spectrometry, ^1H NMR and FT-IR spectroscopy as well as by PM5 semiempirical method. It was found that Schiff base forms 1:1 and 1:2 complexes with Li^+ and Na^+ as well as 1:1 complexes with K^+ , Rb^+ or Cs^+ cations and exists in all these complexes in the enamine-enamine tautomeric form. The imine-imine tautomeric form is realised in the complex with two protons.

Gossypol interaction with air has been experimentally confirmed for the first time. The scheme of gossypol oxidation has been proposed.

Free radical scavenging activity of these compounds has been evaluated using DPPH assay. Antioxidant activity of studied compounds has been characterized by their stoichiometries n , EC_{50} , $T_{1/2}^{\text{DPPH}}$ and AE parameters. It was shown that hydrazones of gossypol are 5 times more active than gossypol, whereas Schiff bases are 5-10 times less active. The influence of the cations on antioxidant activity of gossypol derivatives has been studied.

The content of gossypol in cottonseeds has been estimated (growth Pridneprovsky Ukrainian selection) using method proposed by Adams.