

А.М. Дикун ^а, А.Н. Редько ^а, Н.С. Илькевич ^б, К.Ю. Чотий ^а, В.И. Рыбаченко ^а

СПЕКТРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ СТРОЕНИЯ И АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ИМИНОПРОИЗВОДНЫХ ГОССИПОЛА

^а Институт физико-органической химии и углехимии им. Л.М. Литвиненко НАН Украины, г. Киев

^б Житомирский Государственный Университет им. Ивана Франка

Изучено строение и таутомерные равновесия ряда иминопроизводных госсипола в ДМСО и хлороформе. В ¹H и ¹³C ЯМР спектрах наблюдаются существенные различия для иминопроизводных в разных таутомерных формах. Установлено, что основания Шиффа госсипола независимо от растворителя существуют в диенаминной таутомерной форме, а гидразоны госсипола – в дииминной. Показано, что в ИК-спектрах наибольшие различия между основаниями Шиффа и гидразонами госсипола наблюдаются в области ν(N–H) и ν(O–H). Исследована антирадикальная активность альдиминов госсипола в реакции с 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразилом (ДФПГ) в этаноле. Получены параметры, позволяющие оценить антирадикальную активность исследованных иминопроизводных госсипола и сравнить её с антирадикальной активностью известных антиоксидантов, таких как тролокс и аскорбиновая кислота. Показано, что изученные иминопроизводные госсипола проявляют высокую антирадикальную активность, причем она практически не зависит от количества гидроксильных групп в их структуре.

Ключевые слова: иминопроизводное госсипола, таутомерия, ЯМР, ИК, антирадикальная активность.

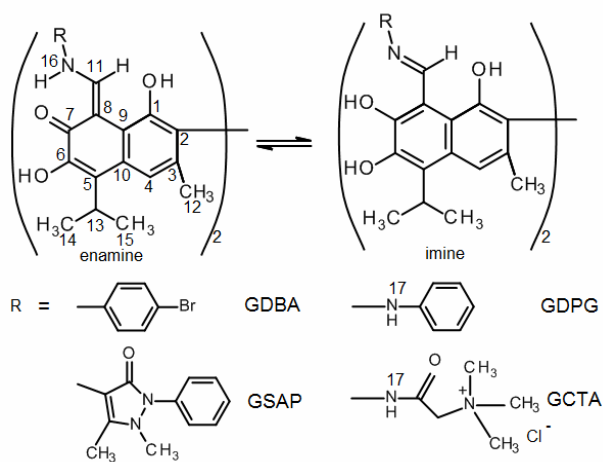
Введение

Изучение иминопроизводных госсипола является актуальной и важной задачей. Интерес к этому классу соединений обусловлен, в первую очередь, их биологической активностью. Обладая меньшей токсичностью, чем исходный полифенол, имины госсипола являются эффективными антиоксидантами [1,2], проявляют противоопухолевую и противовирусную активность [3]. Разнообразие биологических свойств госсипола и его производных в значительной степени обусловлено их существованием в различных таутомерных формах.

В данной работе с помощью методов ¹H и ¹³C ЯМР, ИК и УФ спектроскопии изучено строение, таутомерные равновесия и антирадикальная активность ряда иминопроизводных госсипола. На рисунке приведена структура таутомеров и нумерация атомов иминопроизводных госсипола.

Экспериментальная часть

Все иминопроизводные госсипола синтезированы как в [4]. ¹H и ¹³C ЯМР спектры регистрировали в DMSO d₆ и CDCl₃ на спектрометре Bruker Avance II-400 при T=293 К. В качестве внутреннего стандарта для шкалы химических сдвигов использованы сигналы остаточных про-



Структура таутомеров и нумерация атомов иминопроизводных госсипола

тонов и ядер ¹³C растворителя. Отнесение сигналов в спектрах выполнено с использованием двумерных методик H₂MBC и HSQC. ИК-спектры регистрировали на спектрометре Perkin-Elmer Spectrum BX в таблетках KBr.

В работе использованы DMSO d₆, CDCl₃, ДФПГ, витамин С и тролокс фирмы Aldrich. Кинетические измерения проводили, наблюдая за снижением интенсивности полосы поглоще-

ния ДФПГ при $\lambda=518$ нм ($T=298$ К) на УФ-спектрофотометре Shimadzu UV 1650 в кюветках с длиной оптического пути 1 см.

Результаты и обсуждение

Равновесие между различными таутомерными формами оснований Шиффа и гидразонов госпилола интенсивно изучается методами ИК-, ЯМР-спектроскопии и молекулярного моделирования [5,6].

Анализ ^1H ЯМР спектров свидетельствует, что изученные основания Шиффа госпилола (GSAP и GDBA) в CDCl_3 существуют в диенаминной таутомерной форме. Это подтверждается наличием сигналов протонов N(16)H групп в области 14,5–16,2 м.д. (табл. 1). Эти протоны образуют водородную связь N(16)–H...O=C(7), что приводит к сдвигу их сигналов в слабое поле. В спектрах также наблюдаются сигналы протонов O(1)H и O(6)H групп. Для GSAP сигнал протона C(11)H группы сдвинут в слабое поле ($\delta=11,02$ м.д.) в сравнении с GDBA ($\delta=10,10$ м.д.). Сигналы протонов C(11)H и N(16)H проявляются в виде синглетов, что согласуется с данными [6]. В ^1H ЯМР спектре GDBA в растворе $\text{CDCl}_3/\text{DMSO } d_6$ (5:1) наблюдаются дублеты протонов C(11)H и N(16)H групп ($\delta=10,05$ м.д. и $\delta=14,64$ м.д.) с константой спин-спинового взаимодействия $^3J(\text{HC}, \text{NH})=11,5$ Гц. Причиной этого может быть образование межмолекулярных водородных связей GDBA с $\text{DMSO } d_6$, что замедляет реакцию перехода диенаминной формы в дииминную и наоборот.

Синглеты протонов O(7)H и N(17)H групп наблюдаются в спектрах гидразонов GCTA и GDPG в CDCl_3 и $\text{DMSO } d_6$, что свидетельствует о существовании этих соединений в дииминной форме. Протоны O(7)H групп участвуют в образовании водородной связи с атомом азота

N(16), что ведёт к сдвигу их сигналов в слабое поле в сравнении с сигналами протонов O(1)H и O(6)H групп (табл. 1). Сдвиг сигнала протона N(17)H группы GDPG в слабое поле в $\text{DMSO } d_6$, в сравнении с аналогичным сигналом в CDCl_3 , обусловлен образованием водородной связи между этим протоном и растворителем.

Таблица 1

**Химические сдвиги (м.д.) протонов иминоперициклоидов
госпилола в CDCl_3 и $\text{DMSO } d_6$ (нумерация
соответствует номерам на рисунке)**

Группа атомов	Химический сдвиг в CDCl_3 , м.д.			Химический сдвиг в $\text{DMSO } d_6$, м.д.	
	GSAP	GDBA	GDPG	GCTA	GDPG
O(1)H	5,72	5,80	5,64	8,35	8,07
O(6)H	7,77	7,82	6,59	8,84	8,75
C(4)H	7,56	7,63	7,73	7,60	7,58
C(11)H	11,02	10,10	9,62	10,08	10,46
N(16)H	16,19	14,91	–	–	–
N(17)H	–	–	3,89	13,09	9,77
O(7)H	–	–	13,87	14,23	13,93

Данные ^{13}C ЯМР спектров (табл. 2) подтверждают реализацию диенаминной формы для оснований Шиффа GDBA и GSAP в CDCl_3 . Эти данные указывают также на значительное различие между химическими сдвигами дииминных и диенаминных форм, что позволяет их легко идентифицировать с помощью ^{13}C ЯМР спектров. В первую очередь это относится к сигналу атома углерода C(7), который в случае реализации диенаминной формы сдвинут в слабое поле (табл. 2). Так, в спектре GDBA в растворе $\text{CDCl}_3/\text{DMSO } d_6$ наблюдается сигнал C(7) ($\delta=174,8$ м.д.) диенаминной таутомерной формы. Следовательно, отсутствие расщепления

Таблица 2

**Химические сдвиги (м.д.) ^{13}C ЯМР спектров иминоперициклоидов
госпилола (нумерация соответствует номерам на рисунке)**

Номер атома углерода	Химический сдвиг в CDCl_3 , м.д.		Химический сдвиг в $\text{DMSO } d_6$, м.д.	
	GSAP (диенамин)	GDBA (диенамин)	GDPG (диимин)	GCTA (диимин)
C(1)	149,8	150,9	145,0	150,1
C(2)	116,0	117,9	115,5	116,1
C(3)	132,4	134,6	132,3	132,9
C(4)	118,0	120,3	128,7	119,0
C(5)	129,1	131,4	125,9	128,4
C(6)	146,5	148,4	143,6	143,8
C(7)	171,0	176,2	150,9	150,9
C(8)	105,2	106,9	108,5	109,0
C(9)	114,6	120,3	117,8	115,8
C(10)	128,5	130,8	125,9	128,7
C(11)	157,5	155,0	147,2	154,1
C(12,14,15)	20,3	21,7	20,4	22,5
C(13)	27,5	29,1	26,4	28,6

сигналов протонов С(11)Н и N(16)Н в ¹Н ЯМР спектрах в CDCl₃ не может быть надежным критерием определения таутомерной формы соединения.

В ИК-спектрах всех изученных соединений наблюдаются интенсивные полосы поглощения в области 1600–1620 см⁻¹. В спектре GSAP при 1652 см⁻¹ регистрируется интенсивная полоса поглощения, соответствующая валентным колебаниям карбонильной группы антипиринового фрагмента. А в спектре гидразона GCTA полоса поглощения при 1691 см⁻¹ соответствует валентным колебаниям карбонильной группы иминного фрагмента. Различия в ИК-спектрах оснований Шиффа и гидразонов госсипола наблюдаются в области валентных колебаний ν(N–H) и ν(O–H). Так, в случае оснований Шиффа наблюдаются интенсивные уширенные полосы в области ~3480 см⁻¹ и ~3350 см⁻¹ (ν(O–H(1)) и ν(O–H(6)), (соответственно)). В случае гидразонов в спектре появляется полоса поглощения при ~3400 см⁻¹. Очевидно, эта полоса соответствует валентным колебаниям ν(O–H(7)). В области ~1500–1600 см⁻¹ наблюдаются полосы поглощения, соответствующие валентным колебаниям ν(C=C). В спектре гидразона GCTA, в этой области наблюдаются менее интенсивные полосы, чем у остальных изученных дииминов госсипола, что вероятно обусловлено, отсутствием в иминном фрагменте C=C связей.

Известно, что иминопроизводные госсипола являются эффективными антиоксидантами и легко вступают в реакцию со свободными радикалами [7]. Для количественной оценки антирадикальной активности иминов госсипола нами выбрана реакция со стабильным азот-центрированным свободным радикалом 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразилом (ДФПГ) в этаноле. Стехиометрические коэффициенты реакции (n), определяли как в [2]. В табл. 3 приведены характеристики антирадикальной активности изученных соединений.

Данные табл. 3 свидетельствуют, что изученные основания Шиффа госсипола, вне зависимости от строения иминного фрагмента, в реакции с ДФПГ имеют стехиометрический коэффициент, близкий к 4. Как показано выше, эти соединения в растворах существуют в диенаминной таутомерной форме и имеют в своей структуре 4 гидроксильных группы. В структуре гидразонов в дииминной таутомерной форме присутствует 6 ОН-групп. Однако, не все атомы водорода гидроксильных групп гидразонов госсипола способны вступать в реакцию с ДФПГ, что согласуется с результатами работ [1,2].

Кроме EC₅₀ и n, для оценки антирадикальной активности широко используются парамет-

ры VCEAC (vitamin C equivalent antioxidant capacity) и TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity). Величина VCEAC индивидуального соединения равна концентрации раствора витамина С (ммоль/л), обладающего таким же антирадикальным действием в изучаемой реакции, как раствор исследуемого вещества с концентрацией 1 ммоль/л [8]. В случае TEAC, в качестве стандарта используется водорастворимый аналог витамина Е – тролокс. Чем больше величины VCEAC и TEAC, тем большую антирадикальную активность проявляет соединение. Для соединений с известной молекулярной структурой величины VCEAC и TEAC предпочтительнее выражать в единицах молярной концентрации.

Таблица 3

Характеристики антирадикальной активности иминопроизводных госсипола

Характеристика антирадикальной активности	Соединение			
	GSAP	GDBA	GCTA	GDPG
EC ₅₀ ^a (×10 ⁵), моль/л	1,50	1,27	1,22	0,97
n ^b	3,5	4,2	4,3	5
VCEAC ^c , ммоль/л	1,7	1,4	1,3	1,8
TEAC ^d , ммоль/л	2,1	1,7	1,7	2,2

Примечание: ^a – концентрация антиоксиданта, необходимая для уменьшения концентрации радикала (1,0·10⁻⁴ моль/л) на 50%; ^b – стехиометрический коэффициент по завершении реакции; ^c – VCEAC – эквивалент антиоксидантной активности в пересчете на аскорбиновую кислоту; ^d – TEAC – эквивалент антиоксидантной активности в пересчете на тролокс.

Данные табл. 3 свидетельствуют, что величины VCEAC и TEAC для гидразонов госсипола сопоставимы с аналогичными величинами для оснований Шиффа. Это свидетельствует о том, что дополнительные ОН группы в структуре гидразонов не оказывают существенного влияния на их антирадикальную активность.

Выводы

В настоящей работе методами ЯМР и ИК-спектроскопии изучено строение ряда иминопроизводных госсипола. Установлено, что основания Шиффа госсипола в CDCl₃ и DMSO d₆ существуют в диенаминной таутомерной форме, а гидразоны госсипола – в дииминной форме. Получены параметры EC₅₀, n, VCEAC и TEAC, характеризующие антирадикальную активность иминопроизводных госсипола в реакции с ДФПГ. Показано, что все исследуемые альдимины госсипола являются эффективными антиоксидантами и более эффективны в реакции с ДФПГ, чем витамин С и тролокс. Установлено, что антирадикальная активность изу-

ченных иминопериодических производных практически не зависит от таутомерии и количества гидроксильных групп в их структуре.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Vibrational spectra, structure and antioxidant activity of gossypol imine derivatives* / Ilkevych N.S., Schroeder G., Rybachenko V.I., Chotiy K.Y., Makarova R.A. // *Spectrochimica Acta Part A*. – 2012. – Vol.86. – P.328-335.

2. *Study of reaction of gossypol and its imino derivatives with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* / Ilkevych N.S., Rybachenko V.I., Schroeder G., Dmitruk A.F., Chotiy K.Y. // *Russian Journal of General Chemistry*. – 2010. – Vol.80. – № 2. – P.301-307.

3. *Biological activity of gossypol and its derivatives* / Baram N.I., Ismailov A.I., Ziyaev Kh.L., Rezhopov K.Zh. // *Chemistry of Natural Compounds*. – 2004. – Vol.4. – № 3. – P.199-205.

4. Adams R. Structure of gossypol. V. Anilino derivatives / *Journal of the American Chemical Society*. – 1938. – Vol.60. – № 9. – P.2158-2160.

5. ^1H , ^{13}C and ^{15}N NMR, FT-IR as well as PM5 studies of a new Schiff base of gossypol with 3,6-dioxadecylamine in solution / Przybylski P., Lewandowska W., Brzezinski B., Bartl F. // *Journal of Molecular Structure*. – 2006. – Vol.797. – № 1-3. – P.92-98.

6. ^1H NMR study on the Solvent Effect on Imine-Enamine Tautomerism of the Condensat / Tilyabaev K.Z., Kamaev F.G., Yuldashev A.M., Ibragimov B.T. // *Russian Journal of Organic Chemistry*. – 2012. – Vol.48. – № 7. – P.943-947.

7. *Synthesis of gossypol atropoisomers and derivatives and evaluation of their anti-proliferative and antioxidant activity* / Dodou K., Anderson R.J., Lough W.J., Small D.A.P., Shelley M.D., Groundwater P.W. // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. – 2005. – Vol.13. – № 13. – P.4228-4237.

8. *Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Phenolic Phytochemicals* / Kim Dae-Ok, Lee Ki Won, Lee Hyong Joo, Lee Chang Yong. // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2002. – Vol. 50. – № 13. – P.3713-3717.

Поступила в редакцию 21.02.2017

SPECTROSCOPIC STUDY OF STRUCTURE AND RADICAL SCAVENGING ACTIVITY OF GOSSYPOL IMINE DERIVATIVES

O.M. Dykun ^a, A.M. Redko ^a, N.S. Ilkevych ^b, C.Yu. Chotiy ^a, V.I. Rybachenko ^a

^a L.M. Litvinenko Institute of Physical-Organic and Coal Chemistry of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

^b Zhytomyr Ivan Franko State University, Zhytomyr, Ukraine

The structures and tautomeric equilibria of a number of gossypol imine derivatives in DMSO and chloroform were studied. Significant differences in ^1H and ^{13}C NMR spectra were observed between different tautomeric forms of the imine derivatives. It was shown that gossypol Schiff bases exist in enamine-enamine form and hydrazones exist in imine-imine form irrespective of solvent nature. The greatest differences between gossypol Schiff bases and hydrazones were observed in IR spectra in the regions of $\nu(\text{N-H})$ and $\nu(\text{O-H})$. Radical scavenging activity of gossypol imine derivatives in reaction with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) in ethanol was investigated. The parameters have been determined which allow estimating the radical scavenging activity of gossypol imine derivatives and its comparing with that of known antioxidants such as ascorbic acid and Trolox. High radical scavenging activities for the examined gossypol imine derivatives have been detected, it being virtually independent of the number of hydroxyl groups in their structures.

Keywords: gossypol imine derivative; tautomerism; NMR spectrum; IR spectrum; radical scavenging activity.

REFERENCES

1. Ilkevych N.S., Schroeder G., Rybachenko V.I., Chotiy K.Y., Makarova R.A. Vibrational spectra, structure and antioxidant activity of gossypol imine derivatives. *Spectrochimica Acta, Part A*, 2012, vol. 86, pp. 328-335.

2. Ilkevych N.S., Rybachenko V.I., Schroeder G., Dmitruk A.F., Chotiy K.Y. Study of reaction of gossypol and its imino derivatives with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. *Russian Journal of General Chemistry*, 2010, vol. 80, pp. 301-307.

3. Baram N.I., Ismailov A.I., Ziyaev Kh.L., Rezhopov K.Zh. Biological activity of gossypol and its derivatives. *Chemistry of Natural Compounds*, 2004, vol. 4, pp. 199-205.

4. Adams R. Structure of gossypol. V. Anilino derivatives. *Journal of the American Chemical Society*, 1938, vol. 60, pp. 2158-2160.

5. Przybylski P., Lewandowska W., Brzezinski B., Bartl F. ^1H , ^{13}C and ^{15}N NMR, FT-IR as well as PM5 studies of a new Schiff base of gossypol with 3,6-dioxadecylamine in solution. *Journal of Molecular Structure*, 2006, vol. 797, pp. 92-98.

6. Tilyabaev K.Z., Kamaev F.G., Yuldashev A.M., Ibragimov B.T. ^1H NMR study on the solvent effect on imine-enamine tautomerism of the condensat. *Russian Journal of Organic Chemistry*, 2012, vol. 48, pp. 943-947.

7. Dodou K., Anderson R.J., Lough W.J., Small D.A.P., Shelley M.D., Groundwater P.W. Synthesis of gossypol atropoisomers and derivatives and evaluation of their anti-proliferative and antioxidant activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2005, vol. 13, pp. 4228-4237.

8. Kim D.-O., Lee K.W., Lee H.J., Lee C.Y. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, vol. 50, pp. 3713-3717.