

Синтез, электрохимические свойства и антиоксидантная активность гидроксизамещенных тетрафенилпорфинов

М. В. Тесакова,^{a@} А. С. Семейкин,^b В. И. Парфенюк^{a,c}

^aФедеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химии растворов им. Г. А. Крестова Российской академии наук, 153045 Иваново, Россия

^bФГБОУ ВО Ивановский государственный химико-технологический университет, 153000 Иваново, Россия

^cФГБОУ ВО Костромской государственный университет, 156005 Кострома, Россия

@E-mail: mvt@isc-ras.ru

Проведены электрохимические и спектрометрические исследования реакции взаимодействия свободного радикала DPPH с синтезированными гидроксизамещенными тетрафенилпорфинами: 5,10,15,20-тетракис-(2,4-дигидроксифенил)порфином, 5,10,15,20-тетракис[4-(2-гидроксиэтилокси)фенил]порфином, 5,10,15,20-тетракис[4-(4-гидроксибутилокси)фенил]порфином и их Zn-комплексами. Определен ряд антиоксидантной активности исследованных порфиринов по отношению к DPPH. Установлено, что наибольшей антиоксидантной активностью из исследованных соединений обладает 5,10,15,20-тетракис(2,4-дигидроксифенил)порфин, имеющий восемь OH-групп в орто- и пара-положениях фенильных колец. Установлен механизм антиоксидантного действия исследованных порфиринов по отношению к свободному радикалу 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилу, который заключается в гомолитическом отрыве водорода, входящего в состав гидроксильной группы функциональных заместителей. Установлено влияние природы периферийных заместителей и наличие металла-комплексообразователя на антиоксидантную активность исследованных соединений. Проведена количественная оценка антиоксидантной активности порфиринов и их металлокомплексов по отношению к свободному радикалу 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилу.

Ключевые слова: Антиоксидантная активность, гидроксизамещенные тетрафенилпорфины, циклическая вольтамперометрия.

Synthesis, Electrochemical Properties and Antioxidant Activity of Hydroxy Substituted Tetraphenylporphyrins

Mariya V. Tesakova,^{a@} Alexander S. Semeikin,^b and Vladimir I. Parfenyuk^{a,c}

^aG.A. Krestov Institute of Solution Chemistry of RAS, 153045 Ivanovo, Russia

^bIvanovo State University of Chemistry and Technology, 153000 Ivanovo, Russia

^cKostroma State University, 156005 Kostroma, Russia

@Corresponding author E-mail: mvt@isc-ras.ru

Electrochemical and spectrometric studies of reaction of DPPH free radical with synthesized hydroxy substituted tetraphenylporphyrins, notably 5,10,15,20-tetrakis(2,4-dihydroxyphenyl)porphyrin, 5,10,15,20-tetrakis-[4-(2-hydroxyethyloxy)phenyl]porphyrin, 5,10,15,20-tetrakis[4-(4-hydroxybutyloxy)phenyl]porphyrin and their Zn complexes were carried out. The antioxidant activity of the studied porphyrins against DPPH has been found increasing in the following order: $H_2T(4-O(CH_2)_4OHP)P \approx ZnT(4-O(CH_2)_4OHP)P < ZnT(4-O(CH_2)_2OHP)P < H_2T(4-O(CH_2)_2OHP)P < ZnT(2,4-di-OHP)P < H_2T(2,4-di-OHP)P$. It has been established that 5,10,15,20-tetrakis(2,4-dihydroxyphenyl)porphyrin having eight OH-groups in the ortho- and para-positions of the phenyl rings has the greatest antioxidant activity. The absence of the antioxidant activity of 5,10,15,20-tetrakis[4-(4-hydroxybutyloxy)phenyl]porphyrin and its Zn complex, probably can be attributed to distant location of the OH-group from benzene ring of the macroheterocycle. The hydrocarbon chain between the benzene ring and OH-group makes difficulties for removal of hydrogen. In these porphyrins the substituent in the benzene ring exhibits properties which are characteristic for the aliphatic alcohols. The introduction of metal into the macroheterocycles does not significantly affect the antioxidant properties of the

porphyrins. For ZnT(4-O(CH₂)₂OHPPh)P and ZnT(2,4-di-OHPPh)P indicators of antioxidant activity are somewhat higher than for the respective ligands. The introduction of second OH-group in the o-position of the phenyl ring increases the antioxidant activity of OH substituted tetraphenylporphyrins. Probable mechanism of the porphyrins antioxidant action is hemolytic detachment of hydrogen from OH-group of their phenyl rings.

Keywords: Antioxidant activity, hydroxy substituted tetraphenylporphyrins, cyclic voltammetry.

Введение

Хорошо известно, что порфирины, благодаря их уникальной молекулярной структуре, являются электроактивными веществами. При этом они могут испытывать три и более процесса переноса электрона.^[1-4] Отмечаем, что в научной литературе имеется ряд работ, в которых показано, что порфирины-лиганды и их металлокомплексы обладают активностью по отношению к супероксид анион-радикалу.^[5-6] Указанные факты делают эти соединения привлекательными с точки зрения использования в качестве потенциальных антиоксидантов и показывают перспективы практического применения.^[7-9]

Методы определения антиоксидантной активности веществ можно разделить по способу регистрации активности потенциальных антиоксидантов на: фотометрические,^[10-15] хемиллюминесцентные,^[16] волюмометрические,^[17] флуоресцентные,^[18-20] электрохимические^[21-22] и др.;^[23,24] по типу источника окисления и окисляемого соединения.^[25,26] Наиболее распространенным является спектрофотометрический метод, вероятно, как самый удобный и доступный.^[27-31] В качестве окислителя в спектрофотометрическом методе часто используют устойчивый свободный радикал 1,1-дифенил-2-пикрилгидразил (DPPH). Метод основан на изменении спектра поглощения раствора DPPH при взаимодействии с веществом, обладающим антиоксидантной активностью, путем отдачи антиоксидантом электрона или радикала водорода и присоединением его к свободному радикалу.^[28] DPPH имеет пик при 517 нм в электронных спектрах поглощения. Когда свободный радикал принимает электрон или радикал водорода, на спектре наблюдается снижение оптической плотности при 517 нм, т. к. уменьшается концентрация свободного радикала с переходом его в восстановленную форму желтого цвета.^[32] Одним из параметров антиоксидантной активности вещества является «эффективная концентрация» антиоксиданта E_{C50} , концентрация, при которой интенсивность полосы поглощения DPPH (517 нм) уменьшается на 50%. Несмотря на неоспоримые преимущества этого метода, имеются некоторые ограничения: этот метод невозможно использовать при высоких концентрациях реагирующих веществ и для изучения антиоксидантных свойств хромофоров, имеющих собственные полосы поглощения в той же области, что и DPPH.^[33]

В настоящей работе для определения антиоксидантной активности ряда порфиринов, которые в составе своих молекул имеют хромофорные группы, использовали электрохимический метод изучения реакции взаимодействия исследуемых веществ с DPPH. Электрохимический метод позволяет проводить оценку антиоксидантной активности окрашенных растворов, обладает

высокой чувствительностью и позволяет анализировать как водные, так и неводные среды.^[34,35]

Многочисленные литературные данные свидетельствуют о том, что антиоксидантные свойства различных природных и синтетических соединений обусловлены наличием в их составе нескольких ароматических (фенольных) ОН-групп.^[36-38] В настоящей работе электрохимическим методом исследовано влияние природы периферийных заместителей на электрохимические свойства и антирадикальную активность производных тетрафенилпорфина, имеющих в своей структуре несколько ОН-групп. В работе синтезированы и изучены следующие производные тетрафенилпорфина: 5,10,15,20-тетраakis(2,4-дигидроксифенил)порфин (6), 5,10,15,20-тетраakis[4-(2-гидроксиэтилокси)фенил]порфин (2), 5,10,15,20-тетраakis[4-(4-гидроксибутилокси)фенил]порфин (4) и их Zn-комплексы (7-9).

Экспериментальная часть

Электронные спектры поглощения (ЭСП) снимали на сканирующем спектрометре СПЕК ССП-715, инфракрасные спектры (ИК) снимали на спектрометре Avatar 360 FT-IR в таблетках KBr, спектры протонного магнитного резонанса (¹H ЯМР) снимали на спектрометре Bruker 500 в дейтерохлороформе (внутренний стандарт ТМС) в Центре коллективного пользования научным оборудованием «Верхневолжский региональный центр физико-химических исследований» (Институт химии растворов им. Г. А. Крестова РАН). Масс-спектры снимали на времяпролетном масс-спектрометре Shimadzu Axima Confidence (MALDI-TOF). Тонкослойную хроматографию (ТСХ) осуществляли на пластинах силуфола.

Реакции порфиринов с DPPH исследовали спектрофотометрически при 298 К с помощью спектрофотометра Agilent 8453 UV-VIS.

Электрохимические измерения. Методика проведения электрохимических измерений подробно описана в нашей предыдущей работе.^[33]

5,10,15,20-Тетраakis[4-(2-гидроксиэтилокси)фенил]порфин (2). Смесь 0.3 г (0.44 ммоль) 5,10,15,20-тетраakis(4-гидроксифенил)порфина и 1.0 мл (15.2 ммоль) этиленхлоргидрина, и 0.5 г (3.62 ммоль) поташа в 10 мл осушенного ДМФА кипятили 10 ч, затем добавляли еще 1.0 мл (15.2 ммоль) этиленхлоргидрина и кипятили еще 10 ч. Смесь выливали в воду, осадок отфильтровывали, промывали водой и высушивали на воздухе при комнатной температуре до постоянной массы. Осадок экстрагировали в аппарате Сокслета метанолом, раствор хроматографировали на силикагеле, элюируя метанолом, элюат упаривали, разбавляли водой и осадок отфильтровывали. Выход – 250 мг (66,5 %). $R_f=0.61$ (метанол). ЭСП (метанол) λ_{max} нм (lgε): 650 (3.90); 593 (3.93); 554 (4.14); 517 (4.24); 418 (5.57). ИК (KBr) ν_{max} см⁻¹: 3423, 2923, 2850, 1607, 1509, 1471, 1245, 1172, 967, 802. MALDI-TOFF-MS: m/z 836.538 [M-H₂O]⁺; 855.573 [M+H]⁺; вычислено: 836.845; 855.968.

4-Хлорбутилацетат. 59.0 мл (0.83 моль) ацетилхлорида, 56.0 мл (0.69 моль) тетрагидрофурана и 20 мг цинковой пыли кипятили 1,5 ч с обратным холодильником без доступа влаги воздуха, затем реакционную массу перегоняли в вакууме водоструйного насоса, собирая фракцию с $T_{\text{кип}} 130\text{--}135\text{ }^{\circ}\text{C}$ (лит. 78–79/15; 90–91/20) Выход 77.3 г (61.8 %)

5,10,15,20-Тетраakis[4-(4-ацетоксибутилокси)фенил]-порфин (3). Смесь 0.3 г (0.44 ммоль) 5,10,15,20-тетраakis(4-гидроксифенил)порфина, 1.0 мл (7.7 ммоль) 4-хлорбутилацетата и 0.5 г (3.62 ммоль) поташа в 10 мл осушенного ДМФА кипятили 4 ч, затем добавляли еще 1.0 мл (7.7 ммоль) 4-хлорбутилацетата и кипятили 10 ч, затем выливали в воду, осадок отфильтровывали, промывали водой и высушивали на воздухе при комнатной температуре. Растворяли в хлористом метиле и хроматографировали на силикагеле, элюируя смесью хлористый метилен-метанол, элюат упаривали и осаждали метанолом. Выход – 230 мг (45.9 %). $R_f=0.85$ (этилацетат); 0.77 (бензол-метанол, 20:1). ЭСП (хлороформ) λ_{max} нм (lg ϵ): 651 (3.89); 594 (3.89); 557 (4.14); 519 (4.29); 423 (5.69). $^1\text{H ЯМР}$ (CDCl_3 , вн. ст. ТМС) δ м.д.: 8.89 с (8H, β -H); 8.14 д (8H, $J=8.2$ Гц, 2,6-H-Ar); 7.29 д (8H, $J=8.2$ Гц, 3,5-H-Ar); 4.28–4.34 м (16H, OCH_2); 2.16 с (12H, CH_3CO); 2.00–2.13 м (16H, CH_2); –2.73 шс (2H, NH). MALDI-TOFF-MS: m/z 1134.614 $[\text{M}-\text{H}]^+$, вычислено: 1134.316.

5,10,15,20-Тетраakis[4-(4-гидроксибутилокси)фенил]-порфин (4). Раствор 220 мг (0.19 ммоль) 5,10,15,20-тетраakis[4-(4-ацетоксибутилокси)фенил]порфина в 20 мл ТГФ с раствором 0.5 г (8.91 ммоль) гидроксида калия в 1.0 мл воды кипятили 20 ч. Смесь выливали в воду и осадок отфильтровывали, промывали водой и высушивали. Выход 183 мг (98.0 %). $R_f=0.13$ (этилацетат). ЭСП (хлороформ) λ_{max} нм (lg ϵ): 651 (3.89); 594 (3.85); 557 (4.10); 520 (4.24); 423 (5.63). $^1\text{H ЯМР}$ (CDCl_3 , вн. ст. ТМС) δ м.д.: 8.87 с (8H, β -H); 8.13 д (8H, $J=8.4$ Гц, 2,6-H-Ar); 7.29 д (8H, $J=8.4$ Гц, 3,5-H-Ar); 4.31 т, 3.88 т (2x8H, $J=6.1$ Гц, CH_2O); 2.10 кв, 1.95 кв (2x8H, $^2J=6.8$ Гц, CH_2); –2.76 шс (2H, NH). MALDI-TOFF-MS: m/z 966.980 $[\text{M}]^+$, вычислено: 967.187.

5,10,15,20-Тетраakis(2,4-диметоксифенил)порфин (5). При кипячении в колбе с насадкой Дина-Старка к смеси 300 мл *n*-ксилола и 3.0 мл трифторуксусной кислоты (~1.5 %) постепенно прибавляли раствор 5.0 мл (0.072 моль) пиррола и 12.0 г (0.072 моль) 2,4-диметоксибензальдегида в 50 мл *n*-ксилола, затем смесь кипятили 1 ч при пропускании воздуха и ксилол отгоняли с водяным паром. Отфильтровывали осадок, промывали водой и высушивали на воздухе при 70 °С. Осадок растворяли в хлороформе, смешивали с 200 г оксида алюминия и перемешивали, затем отфильтровывали оксид алюминия и промывали хлороформом почти до бесцветного раствора. Хлороформный раствор упаривали до 250 мл и хроматографировали на силикагеле, элюируя хлороформом. Выход – 4.01 г (26.1 %) (смесь атропоизомеров). $R_f=0.72\text{--}0.87$ (бензол-гексан, 40:1). ЭСП (хлороформ) λ_{max} нм (lg ϵ): 652 (3.74); 595 (3.70); 551 (3.87); 517 (4.22); 424 (5.68). $^1\text{H ЯМР}$ (CDCl_3 , вн. ст. ТМС) δ м.д.: 8.77 с (8H, β -H); 7.84–7.98 м (4H, 6-H-Ar); 6.99–7.10 м (4H, 5-H-Ar); 6.86–6.92 м (4H, 3-H-Ar); 4.11 с (12H, 4-OCH₃); 3.56 с, 3.59 с, 3.78 с, 3.80 с (12H, 2-OCH₃); –2.61 шс (2H, NH). (смесь атропоизомеров)

5,10,15,20-Тетраakis(2,4-дигидроксифенил)порфин (6). Суспензию 0.5 г (0.58 ммоль) 5,10,15,20-тетраakis(2,4-диметоксифенил)порфина в 10 мл 60 % бромистоводородной кислоты перемешивали при комнатной температуре 2 ч и затем при нагреве до ~70 °С 2 ч. Смесь разбавляли водой, осадок отфильтровывали, промывали водой и высушивали на воздухе при 70 °С. Продукт экстрагировали метанолом, метанольный экстракт разделяли пополам и одну часть упаривали, хроматографировали на силикагеле, элюируя метанолом, порфириновую фракцию упаривали и высаждали порфирин водой, осадок отфильтровывали, промывали водой и высушивали на воздухе при 40 °С. Выход – 200 мг (92.9 %). $R_f=0.19$; 0.27; 0.37; 0.46 (ацетон-хлороформ; 2:1) (смесь четырех атропоизомеров).

ЭСП (метанол) λ_{max} нм (lg ϵ): 647 (3.70); 590 (3.75); 549 (3.87); 515 (4.12); 417 (5.39). ИК ν_{max} cm^{-1} : 3418; 2927; 1609; 1503; 1465; 1301; 1207; 1158; 1034; 967; 802; 736. MALDI-TOFF-MS: m/z 781.393 $[\text{M}+\text{K}]^+$, вычислено: 781.842.

Цинковый комплекс 5,10,15,20-тетраakis[4-(2-гидроксиэтилокси)фенил]порфина (7). Смесь 0.3 г (0.44 ммоль) 5,10,15,20-тетраakis(4-гидроксифенил)порфина, 1.0 мл (15.2 ммоль) этиленхлоргидрина и 0.5 г (3.62 ммоль) поташа в 10 мл осушенного ДМФА кипятили 10 ч, затем добавляли еще 1.0 мл (15.2 ммоль) этиленхлоргидрина и кипятили еще 10 ч. Смесь выливали в воду, осадок отфильтровывали, промывали водой и высушивали на воздухе при комнатной температуре. Экстрагировали в аппарате Сокслета метанолом, к раствору добавляли 0.5 г (2.28 ммоль) ацетата цинка дигидрата и кипятили 1 ч. Раствор хроматографировали на силикагеле, элюируя метанолом, элюат упаривали, разбавляли водой и отфильтровывали осадок. Выход – 250 мг (61.9 %). $R_f=0.76$ (метанол). ЭСП (ДМСО) λ_{max} нм (lg ϵ): 600 (4.12); 559 (4.30); 424 (5.74); (метанол) 605 (4.14); 563 (4.14); 431(5.49). ИК ν_{max} cm^{-1} : 3449, 1608, 1509, 1245, 1173, 997, 803, 722. MALDI-TOFF-MS: m/z 918.279 $[\text{M}]^+$, вычислено: 918.334.

Цинковый комплекс 5,10,15,20-тетраakis[4-(4-гидроксибутилокси)фенил]порфина (8). Смесь 0.22 г (0.227 ммоль) 5,10,15,20-тетраakis[4-(4-гидроксибутилокси)фенил]порфина и 0.25 г (0.95 ммоль) ацетилацетоната цинка в 30 мл хлороформа кипятили 5 ч, затем осадок отфильтровывали, промывали хлороформом и высушивали. Выход 0.23 г (98.3 %). R_f (силуфол)=0.21 (этилацетат). ЭСП (ДМСО) λ_{max} нм (lg ϵ): 605 (4.14); 563 (4.25); 431 (5.71). MALDI-TOFF-MS: m/z 1028.432 $[\text{M}-2\text{H}]^+$, вычислено: 1028.553.

Цинковый комплекс 5,10,15,20-тетраakis(2,4-дигидроксифенил)порфина (9). Вторую часть метанольного раствора 5,10,15,20-тетраakis(2,4-дигидроксифенил)порфина кипятили с 0.5 г (2.28 ммоль) дигидрата ацетата цинка 4 ч, метанол упаривали и комплекс хроматографировали на силикагеле, порфириновую фракцию упаривали и высаждали комплекс водой, осадок отфильтровывали, промывали водой и высушивали на воздухе при 40 °С. Выход – 220 мг (94.1 %). R_f (силуфол): 0.20; 0.28; 0.42; 0.69 (метанол) (смесь четырех атропоизомеров). ЭСП (метанол) λ_{max} нм (lg ϵ): 596 (3.82); 557 (4.20); 422 (5.59). ИК (KBr) ν_{max} cm^{-1} : 3441; 2952; 2929; 2854; 1679; 1610; 1492; 1460; 1336; 1248; 1204; 997; 799; 723. MALDI-TOFF-MS: m/z 844.324 $[\text{M}-\text{H}+\text{K}]^+$, вычислено: 844.208.

Обсуждение результатов

Порфирины со спиртовыми группами в фенильных кольцах (**2**, **4**) были синтезированы алкилированием 5,10,15,20-тетраakis(4-гидроксифенил)порфина (**1**) ω -галогенспиртами в ДМФА в присутствии в качестве основания карбоната калия (Схема 1). Исходный порфирин **1** был получен в одну стадию конденсацией 4-гидроксибензальдегида с пирролом в кипящей смеси пропионовая кислота – нитробензол (Схема 2).^[39] Однако, порфирины с несколькими фенольными гидроксигруппами в фенильных кольцах таким путем получить не удастся из-за протекания процессов окисления, поэтому нами был предварительно получен 5,10,15,20-тетраakis(2,4-диметоксифенил)порфин (**5**)^[40] с последующим его деметилированием в 60 % бромистоводородной кислоте до требуемого тетраakis(2,4-гидроксифенил)порфина (**7**) (Схема 3).^[41] Порфирины **5**, **6** и **9** существуют в виде трудно разделяемой смеси атропоизомеров (как и все моно-*орто*-замещенные тетрафенилпорфирины), так как в $^1\text{H ЯМР}$ спектре сигналы имеют

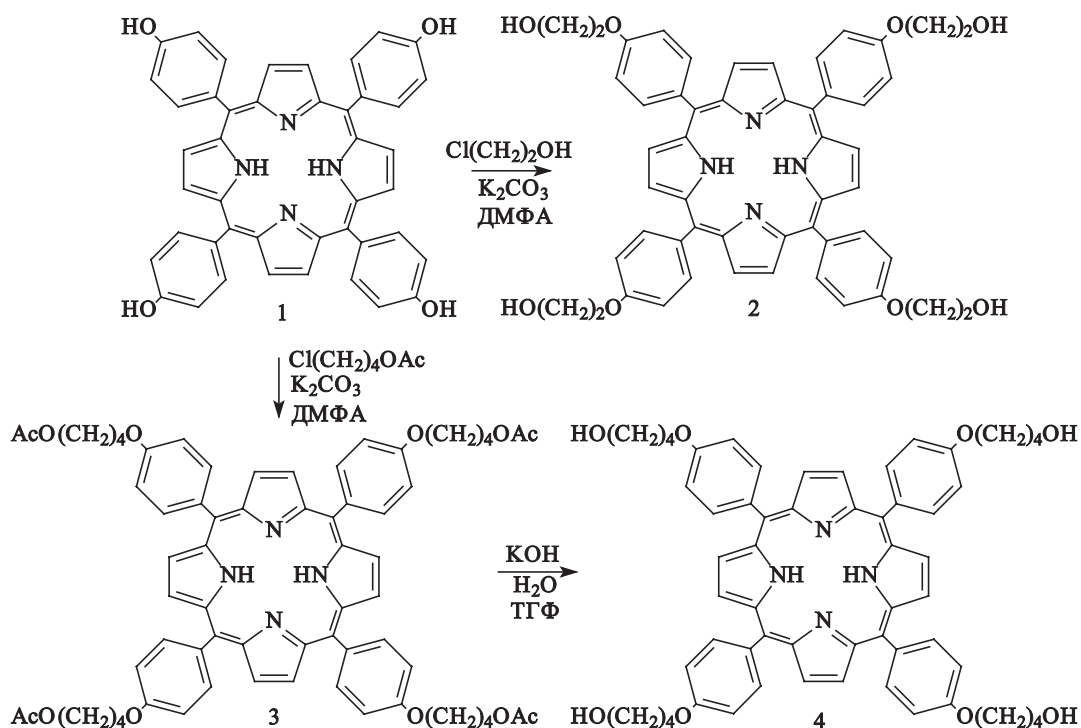


Схема 1.

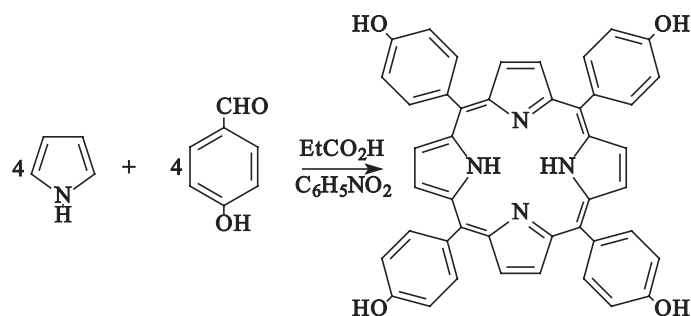


Схема 2.

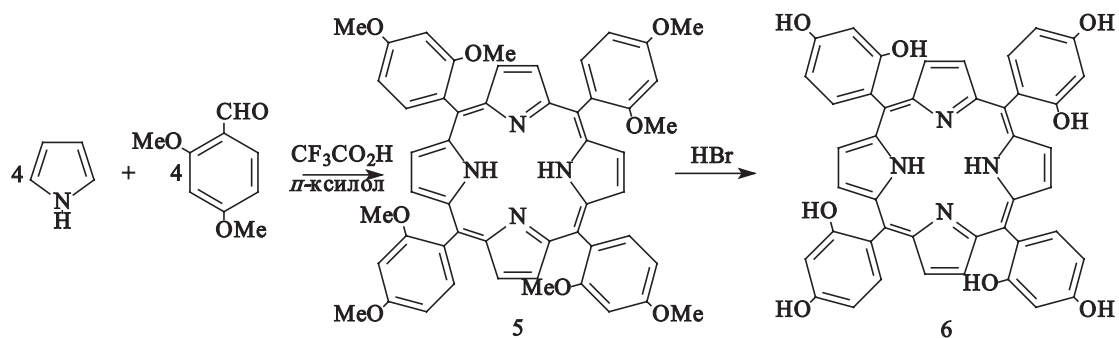


Схема 3.

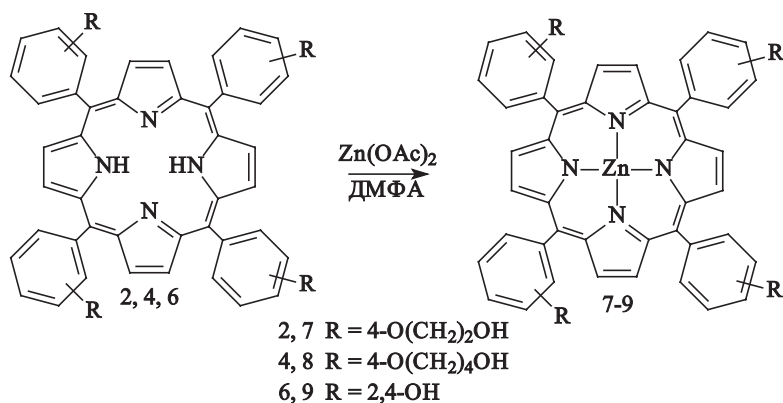


Схема 4.

мультиплетную структуру, ТСХ показывает несколько полос, однако масс-спектры имеют один сигнал.^[42] Синтез цинковых комплексов **8–9** осуществляли кипячением соответствующих порфиринов **2, 4, 7** с ацетатом цинка в ДМФА (Схема 4). Все полученные соединения охарактеризованы спектральными методами.

Оценку антиоксидантной активности порфиринов, имеющих в своей структуре несколько ОН-групп, проводили с использованием в качестве тест-реакции взаимодействия исследуемых соединений со свободным радикалом DPPH. Для изучения реакции взаимодействия порфиринов с DPPH использовали метод циклической вольтамперометрии.

Для этого сначала записывали ЦВА для раствора свободного радикала. На вольтамперограмме раствора DPPH в интервале потенциалов от -0.1 до $+1.4$ В наблюдаются четыре одноэлектронные обратимые волны, отвечающие обратимому восстановлению и окислению радикала (Рисунок 1а).

При записи ЦВА развертку потенциала проводили от значения потенциала рабочего электрода в растворе DPPH (~ -0.45 В) сначала в сторону отрицательных потенциалов, затем в сторону положительных. Пики на катодной ветви ЦВА соответствуют: первый (I) – восстановлению радикала DPPH до аниона, второй (IV) – вос-

становлению катиона DPPH до радикала. Пики на анодной ветви ЦВА соответствуют процессам окисления: (II) – окислению аниона DPPH до радикала, (III) – окислению радикала до катиона. Молекулярная форма радикала DPPH существует в области положительных потенциалов (от ~ -0.4 до ~ 0.7 В) относительно насыщенного каломельного электрода (НКЭ) сравнения (Рисунок 1а). При добавлении растворов порфиринов на ЦВА DPPH наблюдается падение тока в пиках первой и второй волн окисления и сопряженных с ними волн восстановления DPPH, что свидетельствует о наличии антиоксидантных свойств у исследованных соединений. Из уравнения Шевича-Рэндлса^[43] $I_{II} = 2.69 \cdot 10^5 \cdot z^{3/2} SD^{1/2} v^{1/2} C_i^0$ следует, что при заданной поверхности электрода и скорости развертки потенциала отношение токов пиков восстановления (окисления) DPPH в ходе реакции равно отношению концентраций:

$$I/I_0 = C/C_0,$$

где I – значение тока в пике при данной концентрации DPPH C , I_0 – значение тока в пике при начальной концентрации DPPH C_0 . Следовательно, изменение величины тока в пике окислительно-восстановительного процесса определяется изменением концентрации

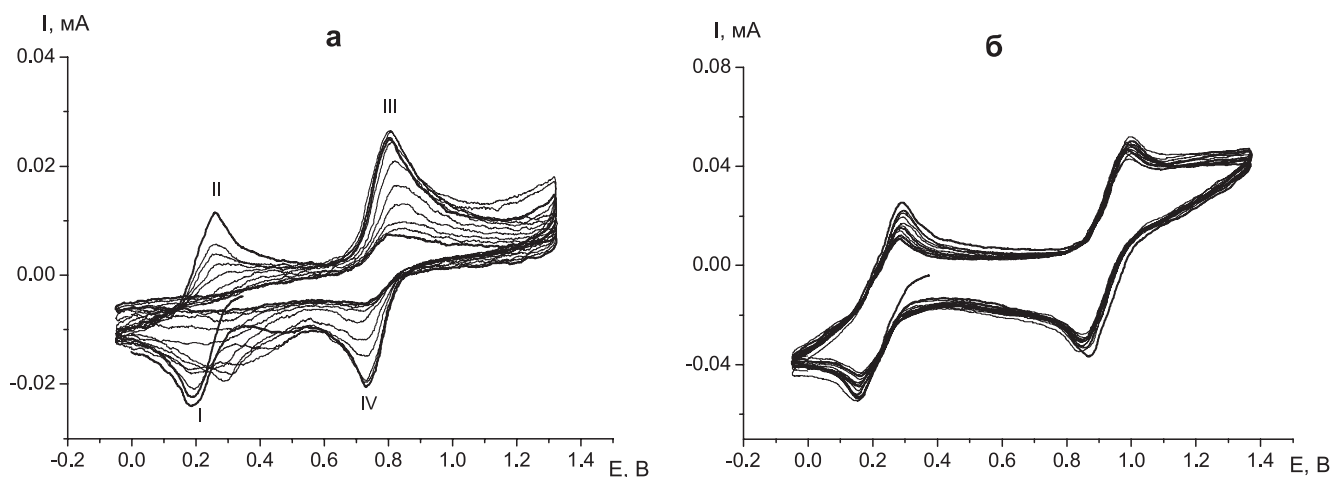


Рисунок 1. ЦВА раствора DPPH при добавлении порфиринов: а) раствор DPPH + порфирин **2** в этаноле; б) раствор DPPH + порфирин **4** в дихлорметане.

DPPH и может служить для оценки антиоксидантной активности вступающего в реакцию вещества.^[34,44]

5,10,15,20-Тетраakis(2,4-дигидроксифенил)порфирин (**6**) и его Zn(II) комплекс (**9**) имеют схожую антиоксидантную активность, на что указывают близкие значения эффективной концентрации: $CI_{50}=1.3 \cdot 10^{-4}$ моль/л и $CI_{50}=1.7 \cdot 10^{-4}$ моль/л (Таблица 1). В ходе исследований определено, что 5,10,15,20-тетраakis[4-(2-гидроксиэтилокси)фенил] порфирин и его Zn(II) комплекс также обладают антиоксидантным действием по отношению к свободному радикалу DPPH. Установлено, что 5,10,15,20-тетраakis[4-(4-гидроксибутилокси)фенил] порфирин (**4**) и его Zn(II) комплекс (**8**) не проявляют антиоксидантные свойства (Рисунок 1б). При достижении концентрации этих соединений $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л пик DPPH уменьшается незначительно (менее 50 %).

Для определения количественной оценки антиоксидантной активности порфиринов и их металлокомплексов записывали ЦВА раствора DPPH в присутствии эффективной концентрации порфиринов при скорости развертки потенциала 200 мВ/с в течение 10 мин. Значение показателя A рассчитывали по изменению величины тока пиков DPPH в начальный I_0 и конечный $I_{кон}$ момент времени (через 10 мин от начала реакции):

$$A = \frac{I_0 - I_{кон}}{I_0}$$

Значение показателей количественной оценки антиоксидантной активности порфиринов A_1 – для восстано-

вительного (I) и A_2 – для окислительного (III) пика представлены в Таблице 1.

Для изучения реакции взаимодействия порфиринов со свободным радикалом DPPH сначала записывали электронные спектры поглощения растворов порфиринов, затем раствор порфирина смешивали с раствором DPPH и опять записывали спектры. Растворы порфирина и DPPH смешивались в равных объемах, при этом концентрация раствора порфирина соответствовала «эффективной концентрации антиоксиданта», а концентрация DPPH была $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Зафиксировать изменения в спектре DPPH не удалось, т.к. порфирины имеют собственные спектры поглощения большей интенсивности в той же области, что и DPPH. На Рисунке 2 представлены электронные спектры поглощения для растворов порфирина **6** ($0.13 \cdot 10^{-5}$ моль/л) и порфирина **7** ($0.33 \cdot 10^{-5}$ моль/л) в этаноле. Концентрация DPPH имеет постоянное значение – $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Порфирины-лиганды имеют четырехполосный спектр с интенсивной полосой Sore (Рисунок 2а), для металлокомплексов (Рисунок 2б) наблюдается двухполосный спектр, также с ярко выраженной полосой Sore на границе с ультрафиолетовой областью. После реакции с DPPH в электронных спектрах поглощения порфиринов изменений не происходит.

На основании полученных данных определен ряд антиоксидантной активности исследуемых порфиринов, который, в соответствии с увеличением антиоксидантной активности по отношению к DPPH имеет следующий вид: $4 \approx 8 < 7 < 2 < 9 < 6$. Установлено, что наибольшей антиоксидантной активностью из всех из-

Таблица 1. Значения окислительных потенциалов E_{ox} , В, окислительно-восстановительных потенциалов $E_{ox/red}$, В и показатели эффективности антиоксидантного действия (A_1 , A_2) и эффективная концентрация CI_{50} для растворов исследованных порфиринов.

Порфирин	E_{ox} , В в C_2H_5OH	$E_{ox/red}$, В в CH_2Cl_2	CI_{50} , ммоль/л	A_1 в C_2H_5OH	A_2 в C_2H_5OH	A_1 в CH_2Cl_2	A_2 в CH_2Cl_2
4		0.835				0.43	0.29
8	0.94			0.44	0.29		
7	1.24		0.33	0.76	0.55		
2	0.74		0.25	1	0.69		
9	0.60		0.17	0.51	0.16		
6	0.83		0.13	0.70	0.29		

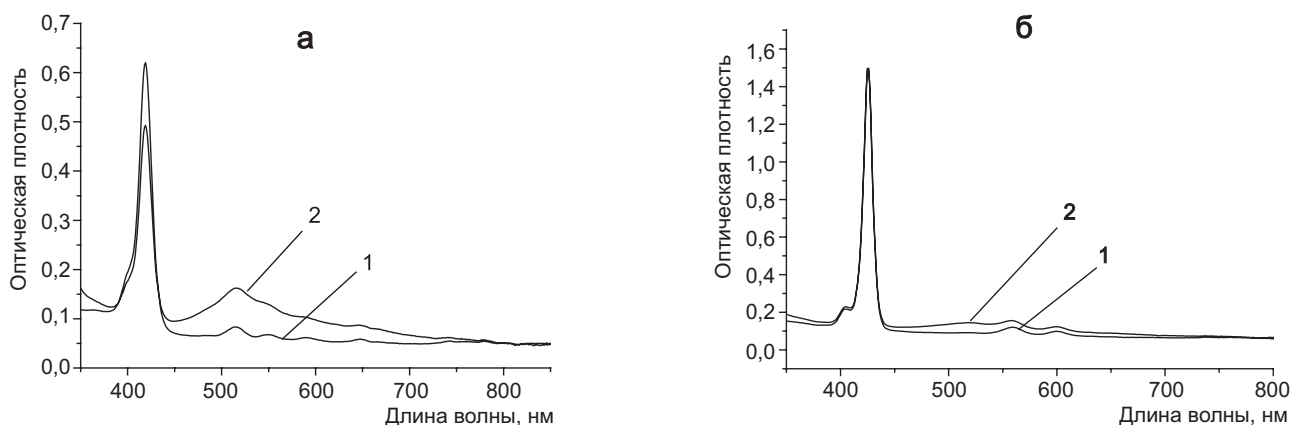


Рисунок 2. Электронные спектры поглощения для растворов соединений: а) порфирин **6** в этаноле ($0.13 \cdot 10^{-5}$ моль/л) б) порфирин **7** в этаноле ($0.33 \cdot 10^{-5}$ моль/л); раствор порфирина - 1, после добавления DPPH ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л) - 2.

ученных соединений обладает 5,10,15,20-тетраakis(2,4-дигидроксифенил)порфин (6), имеющий восемь ОН-групп в орто- и пара-положениях фенильных колец.

Ранее нами было сделано предположение, что одним из механизмов антиоксидантного действия порфиринов заключается в отрыве водорода от макрогетероциклического соединения.^[33] Для производных тетрафенилпорфина, имеющих гидроксильные группы, вероятнее всего, имеет место гомолитический отрыв Н по связи О-Н функциональных заместителей. Аналогичный механизм антиоксидантного действия установлен ранее для фенолов – взаимодействие с DPPH протекает по механизму гомолитического отрыва атома водорода от гидроксильной группы фенола.^[45,46] Отсутствие антиоксидантной активности у 5,10,15,20-тетраakis[4-(4-гидроксибутилокси)фенил]порфина (4) и его цинкового комплекса, вероятно, можно объяснить удаленностью ОН-группы от бензольного кольца макрогетероцикла. Наличие углеводородной цепи между бензольным кольцом и ОН-группой затрудняет отрыв водорода. В случае этих порфиринов заместитель в бензольном кольце проявляет свойства, характерные для алифатических спиртов. Введение металла в макрогетероцикл существенно не влияет на антиоксидантные свойства порфиринов. Для порфиринов 7 и 9 показатели антиоксидантной активности несколько ниже, чем для соответствующих лигандов. Наличие еще одной ОН-группы в о-положении фенильного кольца приводит к увеличению антиоксидантной активности ОН-замещенных тетрафенилпорфиринов.

Багодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 15-43-03006).

Выводы

Проведены электрохимические и спектрометрические исследования реакции взаимодействия исследуемых порфиринов со свободным радикалом DPPH. Определен ряд антиоксидантной активности по отношению к DPPH исследованных порфиринов: $4 \approx 8 < 7 < 2 < 9 < 6$. Установлено, что наибольшей антиоксидантной активностью обладает 5,10,15,20-тетраakis(2,4-дигидроксифенил)порфин (6), имеющий восемь ОН-групп в орто- и пара-положениях фенильных колец. Установлен механизм антиоксидантного действия исследованных порфиринов по отношению к свободному радикалу 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилу, который заключается в гомолитическом отрыве водорода, входящего в состав гидроксильной группы функциональных заместителей.

Список литературы

References

- Kadish K.M., Lin M., Van Caemelbecke E., De Stefano G., Medforth C.J., Nurco D.J., Nelson N.Y., Krattinger B., Muzzi C.M., Jaquinod L., Xu Y., Shyr D.C., Smith K.M., Shelnett J.A. *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 6673–6687.
- Tesakova M.V., Popov I.A., Parfenyuk V.I. *Russ. J. Electrochem.* **2014**, *50*, 517–522.
- Tesakova M.V., Popov I.A., Sheinin V.B., Semeikin A.S., Parfenyuk V.I., Koifman O.I. *Macroheterocycles* **2013**, *6*, 152–157.
- Fujii H. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4641–4648.
- Kasugai N., Murase T., Ohse T., Nagaoka S., Kawakami H., Kubota S. *J. Inorg. Biochem.* **2002**, *91*, 349–355.
- Iranzo O. *Bioorg. Chem.* **2011**, *39*, 73–87.
- Antonova N.A., Osipova V.P., Kolyada M.N., Movchan O., Milaeva E.R., Pimenov Yu.T. *Macroheterocycles* **2010**, *3*, 139–144.
- Kuzmin S.M., Chulovskaya S.A., Tesakova M.V., Semeikin A.S., Parfenyuk V.I. *Macroheterocycles* **2014**, *7*, 218–224.
- Tyurin V.Yu., Jingwei Z., Moiseeva A.A., Milaeva E.R., Belykh D.V., Buravlev E.V., Rocheva T.K., Chukicheva I.Yu., Kuchin A.V. *Doklady Chemistry* **2013**, *450*, 152–155.
- Buijnsters M., Bicanic D., Mihai Chirtoc M., Nicoli M.C., Min-Kuo Y. *Analytical Sciences (Japan)*. Special Issue **2001**, *17*, s544–s546.
- Shea T.B., Rogers E., Ashline D., Ortiz D., Sheu M.-S. *J. Neurosci. Methods* **2003**, *125*, 55–58.
- Chung S.-K., Osawa T. *Food Sci. Biotech.* **1998**, *7*, 209–213.
- Kim M.-Y., Choi S.-W., Chung S.-K. *Food Sci. Biotech.* **2000**, *9*, 199–203.
- Blois M.S. *Nature* **1958**, *26*, 1198–1200.
- Chen I.C., Chang H.C., Yang H.W., Chen G.L. *J. Food Drug Analysis* **2004**, *12*, 29–33.
- Krasovska A., Rosiak D., Czkapiak K., Lukaszewicz M. *Current Topics in Biophysics* **2000**, *24*, 89–95.
- Wayner D.D., Burton G.W., Ingold K.U., Locke S. *FEBS Letters* **1985**, *187*, 33–37.
- Yang X.F., Guo X.Q. *The Analyst* **2001**, *126*, 928–932.
- Ehlenfeldt M.K., Prior R.L. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 2222–2227.
- Cao G., Sanchez-Moreno C., Prior R.L. *Faseb J.* **2000**, *14*, A564–A564.
- Kuzmin S.M., Chulovskaya S.A., Parfenyuk V.I. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2014**, *18*, 585–593.
- Korotkova E.I., Karbainov Y.A., Shevchuk A.V. *J. Electroanal. Chem.* **2002**, *518*, 56–60.
- Srinivasan P., Vadhanam M.V., Arif J.M., Gupta R.C. *Int. J. Oncology* **2002**, *20*, 983–986.
- Shacter E. *Drug Metabolism Reviews* **2000**, *32*, 307–326.
- Khasanov V.V., Ryzhova G.L., Maltceva E.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya* **2004**, *3*, 63–75 (in Russ.).
- Kuzmin S.M., Chulovskaya S.A., Parfenyuk V.I. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2015**, *19*, 1053–1062.
- Brand-Wiklilams W., Cuvelier M. E., Berset C. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* **1995**, *28*, 25–30.
- Scherer R., Godoy H. T. *Food Chem.* **2009**, *112*, 654–658.
- Molyneux P. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* **2004**, *26*, 211–219.
- Ionita P. *Chem. Pap.* **2005**, *59*, 11–16.
- Litwinienko G., Ingold K.U. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 3433–3438.
- Bahar E., Ara J., Alam M., Nath B., Bhowmik U., Runi N. *J. Pharmacognosy Phytochemistry* **2013**, *2*, 125–133.
- Tesakova M.V., Semeikin A.S., Parfenyuk V.I. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2015**, *19*, 1032–1038.
- Tyurin V.Y., Wu Y., Milaeva E.R., Dolganov A.V. *Dokl. Chem.* **2011**, *436*, 31–33.
- Kuzmin S.M., Chulovskaya S.A., Parfenyuk V.I. *Macroheterocycles* **2013**, *6*, 334–339.
- Hotta H., Nagano S., Ueda M., Tsujino Y., Koyama J., Osakai T. *Biochim. Biophys. Acta* **2002**, *1572*, 123–132.

37. Heijnen C.G.M., Haenen G.R.M.M., Vekemans J.A.J.M., Bast A. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **2001**, *10*, 199–206.
38. Silva M.M., Santos M.R., Caroco G., Rocha R., Justino G., Mira L. *Free Radical Res.* **2002**, *36*, 1219–1227.
39. Rummyantseva V.D., Gorshkova A.S., Mironov A.F. *Macroheterocycles* **2013**, *6*, 59–61.
40. Semeikin A.S., Koifman O.I., Berezin B.D. *Chem. Heterocycl. Compd* **1986**, *22*, 629–632.
41. Semeikin A.S., Koifman O.I., Berezin B.D., Syrбу S.A. *Chem. Heterocycl. Compd* **1983**, *19*, 1082–1083.
42. Matile S., Hansen T., Stocker A., Woggon W.D. *Helv. Chim. Acta* **1994**, *77*, 1087–1098.
43. Galus Z. *Theoretical Basics of Electrochemical Analysis*. Moscow: Mir, **1974**. 552 p. (in Russ.) [Галус З. *Теоретические основы электрохимического анализа*. М: Мир, **1974**. 552 с.].
44. Tyurin V.Y., Meleshonkova N.N., Glukhova A.P., Milaeva E.R., Dolganov A.V. *Russ. Chem. Bull.* **2011**, *60*, 647–655.
45. Rodnova Ye.A., Ivanov V.V., Chuchalin V.S., Melentiyeva A.N., Arystan L.I., Shulgau Z.T., Adekenov S.M. *Bull. Siberian Medicine* **2011**, *10*, 95–100.
46. Rozantsev E.G., Sholle V.A. *Organic Chemistry of Free Radicals*. Moscow: Chemistry, **1979**. 343 p. (in Russ.) [Розанцев Э.Г., Шолле В.Д. *Органическая химия свободных радикалов*. М.: Химия, **1979**. 344 с.].

Received 24.03.2016

Revised 06.10.2016

Accepted 06.03.2017