УДК 541.14:547.551.2

DOI: 10.33184/bulletin-bsu-2019.4.12

АНТИОКИСЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ТЕРПЕНОИДОВ В МОДЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ ОКИСЛЕНИЯ ЭТИЛБЕНЗОЛА

© Г. Г. Гарифуллина^{1*}, Г. Ф. Сахаутдинова², Р. Н. Маликова²,
А. Ф. Саттарова², А. В. Шалашова¹, Р. Н. Насретдинова¹

¹Башкирский государственный университет
Россия, Республика Башкортостан, 450076 г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32.

²Уфимский институт химии УФИЦ РАН
Россия, Республика Башкортостан, 450054 г. Уфа, пр. Октября, 71.

*Email: Garifa@inbox.ru

На примере модельной реакции инициированного окисления этилбензола изучены антирадикальные свойства 9 новых модифицированных терпеноидов. Антирадикальная активность исследованных веществ количественно охарактеризована эффективной константой скорости ингибирования k_{in} и величиной энергии активации реакции пероксильного радикала этилбензола с молекулой терпеноида.

Ключевые слова: терпеноиды, антиокислительная активность, ингибиторы жидкофазного окисления, константа скорости реакции.

Введение

Среди природных соединений терпеноиды отличаются большим структурным разнообразием, с которым связан широкий спектр их медико-биологического действия и предсказательная способность полезных свойств: они являются носителями выраженной противовоспалительной, антивирусной, противоопухолевой и антиаллергической активности, а углеродные цепи ряда терпеноидов – ключевые промежуточные продукты в биосинтезе стероидных гормонов, холестерина, ферментов, витамина D [1–4]. Для придания терпеноидам заданных свойств применяется модификация, демонстрирующая почти неограниченные возможности при необходимости структурных вариаций. Приобретенные свойства связаны с целевой химической модификацией терпеноидов путем введения дополнительных фармакофорных функций в структуру природного соединения. При этом показана еще и антиоксидантная активность модифицированных терпеноидов, влияющих на процессы свободно-радикального окисления, в частности, подавление генерации активных форм кислорода в содержащих липопротеазы системах [5]. Проявление ингибирующего действия модифицированных терпеноидов особенно актуально для предотвращения процессов старения, изучение которых вполне успешно реализуется на модельных системах. Цель данной работы – исследование антиокислительных свойств модифицированных терпеноидов.

Экспериментальная часть Исходные материалы

Исходные терпеноиды А–І получали аналогично описанным методикам [6–8]. Коммерчески доступный 2,2'-азобисизобутиронитрил (AIBN) (Sigma-Aldrich) использовали после перекристаллизации из этанола. Этилбензол предварительно очи-

щали и перегоняли в соответствии со стандартными методиками [9–10]. Все его физико-химические константы соответствовали справочным данным.

Метод исследования

Антиокислительную активность синтезированных терпеноидов оценивали на примере реакции инициированного радикально-цепного окисления этилбензола в кинетическом режиме при температуре 348 К. Эффективность действия оценивали по снижению скорости поглощения кислорода в присутствии изучаемых объектов. Эксперимент проводили с использованием манометрической дифференциальной установки [11]. Ее измерительная часть выполнена в виде двух идентичных половин, одна из которых является эталоном для рабочей половины, что способствует снижению физических шумов. Манометрическая дифференциальная установка позволяет измерять перепады давления в диапазоне 0–50 мм рт. ст. Динамика измерения давления фиксируется в виде аналогового сигнала на ленте самописца.

Скорость инициирования рассчитывали по уравнению $V_i = k_i[\text{AIBN}]$, где k_i – константа скорости инициирования, с^{-1} . При расчете скорости инициирования полагали, что $k_i = 2ek_p$, где k_p – константа скорости распада АИБН, e – вероятность выхода радикалов в объем. Константу скорости распада АИБН рассчитывали по справочным данным, приведенным для разложения данного инициатора в среде циклогексанола:

$$\lg k_p = 17.70 - 35 / (4.575T \times 10^{-3}), e = 0.5 \text{ [12–13].}$$

Результаты и обсуждение

В качестве объектов изучения выбраны впервые синтезированные нами следующие терпеноиды [6–8] (схема 1).

А – метил 2-(5'-хлор-4'-оксопентил)-12-изопропил-6,9а-диметил-1,3-диоксогексадекагидро-3b,11-этенонфто[2,1-е]изоиндол-6-карбоксилат

$M = 532$ г/моль

В – метил 2-(4'-хлор-3'-оксобутил)-12-изопропил-6,9а-диметил-1,3-диоксогексадекагидро-3b,11-этенонфто[2,1-е]изоиндол-6-карбоксилат

$M = 518$ г/моль

С – метил 2-(7'-бром-6'-оксопентил)-12-изопропил-6,9а-диметил-1,3-диоксогексадекагидро-3b,11-этенонфто[2,1-е]изоиндол-6-карбоксилат

$M = 604$ г/моль

Д – метил 2-(4'-бром-3'-оксобутил)-12-изопропил-6,9а-диметил-1,3-диоксогексадекагидро-3b,11-этенонфто[2,1-е]изоиндол-6-карбоксилат

$M = 562$ г/моль

Е – метил 2-(1'-адамантан-1''-амино)-3'-метил-1'-оксобутил)-12-изопропил-6,9а-диметил-1,3-диоксогексадекагидро-3b,11-этенонфто[2,1-е]изоиндол-6-карбоксилат

$M = 647$ г/моль

Ф – 6'-(12-изопропил-6-(метоксикарбонил)-6,9а-диметил-1,3-диоксо-3,3а,4,5,5а,6,7,8,9,9а,9b,10,11,11а-тетрадекагидро-3b,11-этенонфто[2,1-е]изоиндол-2(1H)-ил) гексановая кислота

$M = 528$ г/моль

Г – метил 12-изопропил-6,9а-диметил-1,3-диоксо-2-фениламиногексадекагидро-3b,11-этенонфто[2,1-е]изоиндол-6-карбоксилат

$M = 504$ г/моль

Н – метил 2-(3'-адамантан-1''-амино)-3'-метил-1'-оксобутил)-12-изопропил-6,9а-диметил-1,3-диоксогексадекагидро-3b,11-этенонфто[2,1-е]изоиндол-6-карбоксилат

$M = 618$ г/моль

И – 12-изопропил-6,9а-диметил-1,3-диоксогексадекагидро-3b,11-этенонфто[2,1-е]изоиндол-2-метил (2'-ацетомид)-4'-метилбутановой кислоты

$M = 562$ г/моль

Эффективность антиокислительного действия модифицированных терпеноидов **А–И** определяли по эффективной константе скорости ингибирования, при этом субстратом окисления служил этилбензол, а инициатором – азодиизобутиронитрил.

Инициированное окисление этилбензола с участием синтезированных соединений **А–И** протекает в кинетическом режиме по радикальному механизму с квадратичным обрывом цепи и его можно дополнить элементарными стадиями с участием терпеноидных радикалов:

В отсутствие ингибирующих добавок кинетическая кривая поглощения кислорода этилбензола имеет линейный вид, т.е. порядок реакции по кислороду нулевой, следовательно, процесс протекает в кинетическом режиме. В кинетическом режиме окисления реакции продолжения и обрыва цепей ведут пероксильные радикалы субстрата, так как их концентрация намного больше концентрации алкильных радикалов.

При введении в реакцию смесь исследуемых терпеноидов наблюдается снижение начальной скорости окисления модельного субстрата вследствие обрыва цепи на молекулах терпеноида по реакции (7). Наглядной моделью служат типичные кинетические кривые поглощения кислорода при окислении этилбензола, приведенные на рис. 1, в отсутствие и при наличии таких терпеноидных производных, как **А**, **С**, **Н**.

Таблица 1

Зависимость начальной скорости окисления от концентрации ингибитора,
 $T = 348 \text{ K}$

Антиокислитель	Концентрация $\times 10^3$, моль/л	$v_0 \times 10^6$, моль/(л $\times$ с)
–	0	6.519
А	0.125	6.291
	0.625	5.900
	0.875	5.855
В	0.125	5.443
	0.375	5.279
	0.625	5.099
С	0.875	5.075
	0.125	5.402
	0.375	5.199
D	0.875	5.159
	0.125	5.680
	0.375	5.662
Е	0.875	5.055
	0.125	5.744
	0.375	5.498
F	0.625	5.275
	0.875	5.109
	0.125	5.775
G	0.375	5.552
	0.675	5.397
	0.875	5.328
H	0.125	5.482
	0.375	5.312
	0.625	5.301
I	0.875	5.296
	0.125	5.448
	0.375	2.828
	0.675	2.629
	0.875	2.332
	0.125	5.793
	0.375	5.694
	0.625	5.251
	0.875	5.135

С использованием компьютерной программы MNK были вычислены величины начальных скоростей окисления модельного субстрата при различных концентрациях добавленных терпеноидов. Выявлено, что с повышением концентрации последних прослеживается закономерное снижение скорости поглощения кислорода (табл. 1).

Рис. 1. Типичные кинетические кривые поглощения кислорода при окислении этилбензола без ингибитора и в присутствии А, В и Н (3×10^{-4} моль/л), $T = 348 \text{ K}$.

В случае протекания окислительного процесса в цепном режиме в присутствии ингибирующих

добавок между скоростью окисления и концентрацией ингибитора выполняется соотношение [11]:

$$F = \frac{V_0^0}{V_0} - \frac{V_0}{V_0^0} = f k_{in} [InH] / \sqrt{2k_6 V_i} \quad (1)$$

где V_0 и V – скорость поглощения кислорода в отсутствии и в присутствии добавок терпеноида, f – стехиометрический коэффициент ингибирования, V_i – скорость инициирования окислительного процесса, моль/л $\times$ с; k_{in} и $2k_6$ – константы скорости гибели цепи окисления на антиоксиданте и квадратичного обрыва цепи на пероксильных радикалах субстрата соответственно.

На рис. 3 представлена зависимость скорости поглощения кислорода от величины концентрации добавленного производного F и обработка данных эксперимента в координатах последней формулы (1).

Экспериментальные данные удовлетворительно спрямляются в координатах уравнения (1) с высоким коэффициентом корреляции. С учетом константы скорости реакции между пероксильными радикалами этилбензола ($2k_6$) вычислены эффективные константы скорости ингибирования $f k_{in}$ для всех исследованных соединений. Результаты расчетов представлены в табл. 2.

Рис. 3. Зависимость скорости поглощения кислорода воздуха от концентрации ингибитора **F** и ее анаморфоза (2) в координатах уравнения (1); $T = 348$ К.

Таблица 2

Эффективные константы скорости ингибирования fk_{in} для исследованных терпеноидов

Антиокислитель	fk_{in} , л/(моль×с)
A	1.499×10^4
B	3.231×10^5
C	1.844×10^3
D	4.265×10^3
E	2.262×10^3
F	1.596×10^3
G	3.532×10^3
H	1.861×10^4
I	2.408×10^3

Следует отметить, что все исследованные терпеноиды проявляют антиокислительные свойства. По величине эффективной константы скорости ингибирования их можно отнести к слабым ингибиторам [13], что характерно природным соединениям. Исключение составляет терпеноид **B**, который оказался более сильным ингибитором окисления этилбензола, чем классический ионол [12].

Влияние температуры на скорость процесса окисления этилбензола в присутствии соединения **A** изучали в интервале температур 348–358 К. В частности, результаты антиокислительного действия модифицированного терпеноида **A** представлены в табл. 3.

Таблица 3

Зависимость скорости поглощения кислорода этилбензолом в присутствии добавок соединения **A** от температуры

T , К	$v_0 \times 10^6$, моль/(л×с)
348	3.8 ± 0.5
353	6.3 ± 0.4
358	10.9 ± 0.2

Полученные данные спрямляются в координатах уравнения Аррениуса (коэффициент корреляции $R=0.98$). Величина энергии активации для вещества **A** в реакции (7) составляет 110.1 кДж/моль, что характерно для классических ингибиторов окисления [12–14].

Для ингибирующей композиции: хлорметилкетон на основе метилмалеопимаримидзамещенной γ -аминомасляной кислоты (терпеноид **A**) + α -нафтиламин установлен эффект синергизма, а именно: снижение скорости окисления этилбензола в 2.5 раза при их совместном введении для реакции окисления модельного субстрата этилбензола. Согласно литературным данным возможна следующая схема совместного действия двух ингибиторов: синергизм ингибиторов может быть обусловлен различными механизмами тормозящего действия: т.е. один ингибитор, а именно – α -нафтиламин обрывает цепи окисления с пероксильными радикалами окисляемого этилбензола; другой ингибитор – молекула терпеноида – возможно гетеролитически разрушает гидропероксид без образования свободных радикалов [13].

Выводы

Для девяти новых исследованных терпеноидов определены количественные параметры ингибирования: эффективные константы скорости ингибирования fk_{in} (величина fk_{in} находится в интервале $(0.2–24.0) \times 10^3$ л/(моль×с)). Для терпеноида **A** вычислена энергия активации элементарной реакции его взаимодействия с пероксильным радикалом этилбензола, равная 110.1 ± 9.8 кДж/моль. Для ингибирующей композиции «терпеноид **A** + α -нафтиламин» установлен эффект синергизма – усиление эффекта торможения реакции окисления этилбензола при совместной добавке обоих веществ.

Работа выполнена в рамках государственного задания (проект № АААА-А19-119020890014-7).

ЛИТЕРАТУРА

- Kazakova O. B., Tret'yakova E. V., Smirnova I. E., Spirikhin L. V., Tolstikov G. A., Chudov E. V., Bazekin G. V., Ismagilova A. F. The synthesis and anti-inflammatory activity of quinopimaric acid derivatives. Russian Journal of Bioorganic Chemistry. 2010. T. 36. №2. C. 257–262.
- Kazakova O. B., Smirnova I. E., TkhiTkhu H. D., Nguen T. T., Apryshko G. N., Zhukova O. S., Medvedeva N. I., Nazyrov T. I., Tret'yakova E. V., Chudov I. V., Ismagilova A. F., Suponitsky K. Yu., Kazakov D. V., Safarov F. E., Tolstikov G. A. Synthesis, structure, and pharmacological activity of (7R,8S)-epoxy-(13R,17R)-trioxolaneabietic acid. Russian Journal of Bioorganic Chemistry. 2013. T. 39. №2. C. 202–210.
- Tret'yakova E. V., Smirnova I. E., Salimova E. V., Odinokov V. N., Bioorg. Med. Chem. 2015. T. 23. C. 6543.
- Tret'yakova E. V., Smirnova I. E., Kazakova O. B., Tolstikov G. A., Yavorskaya N. P., Golubeva I. S., Pugacheva R. B., Apryshko G. N., Poroikov V. V., Bioorg. Med. Chem. 2014. T. 22. C. 6481.
- Сахаутдинов И. М., Султанова Р. М. // Химия природных соединений. 2019. С. 42–46.
- Sakhautdinov I. M., Malikova R. N., Yunusov M. S. Synthesis of methylmaleopimarates with adamantyl substituents // Chem. Nat. Compd. 2018. T. 54(1). C. 102–105.
- Sakhautdinov I. M., Malikova R. N., Khasanova D. V., Zainullina L. F., Vakhitov V. A., Lobov A. N., Vakhitova Y. V., Yunusov M. S. Effective synthesis and cytotoxic activity of methyl maleopimarate imides // Lett. Org. Chem. 2018. V. 15(10). P. 854–862.

8. Biglova Yu. N., Malikova R. N., Petrova S. F., Ivanov S. P., Sakhautdinov I. M., Mustafin A. G. Kinetic study of the reaction of nucleophilic cyclopropanation of C_{60} fullerene with halogenated maleopimarimide // Int. J. Chem. Kinet. 2019. V. 51. P. 311–320.
9. Кнунянц И. Л. Химический энциклопедический словарь. М.: Советская энциклопедия. 1983. 792 с.
10. Титце Л., Айхер Т. Препаративная органическая химия. Реакции и синтезы в практикуме органической химии и научно-исследовательской лаборатории. М.: Мир. 1999. 704 с.
11. Эмануэль Н. М., Гал Д. Р. Окисление этилбензола. М.: Наука. 1984. 186 с.
12. Denisov E. T. Konstantyskorostigomoliticheskikhzhidkofaznykhreaktsii [Rate constants of homolytic liquid-phase reactions]. Moscow: Nauka. 1971.
13. Denisov E. T., Azatyan V. V. Ingibirovaniyetsepnykhreaktsii [Inhibition of chain reactions] – Chernogolovka: IFKhCh RAN. 1997.
14. Гарифуллина Г. Г., Латыпова Л. Р., Салихов Ш. М., Насретдинова Р. Н., Мустафин А. Г., Абдрахманов И. Б. Реакционная способность новых ароматических аминов в качестве ингибиторов окисления 1,4-диоксана // Вестник Башкирского университета. 2018. Т. 23, №4. С. 1042–1050.

Поступила в редакцию 15.11.2019 г.

**ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SOME TERPENOIDS
IN THE MODEL REACTION OF ETHYLBENZENE OXIDATION**

© G. G. Garifullina^{1*}, G. F. Sakhautdinova², R. N. Malikova²,
A. F. Sattarova², A. V. Shalashova¹, R. N. Nasretdinova¹

¹Bashkir State University

32 Zaki Validi Street, 450076 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.

²Ufa Institute of Chemistry, Ufa Federal Research Center of RAS

71 Oktyabrya Avenue, 450054 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.

*Email: garifa@inbox.ru

Using the model reaction of the initiated oxidation of ethylbenzene as an example, the authors studied the antioxidant properties of nine new compounds from the terpenoid class. The antioxidant properties of the compounds were studied by classical methods for oxygen absorption. The oxidation reaction of the model ethylbenzene substrate was carried out in the kinetic mode in which peroxy radicals of ethylbenzene conduct chain extension and chain termination reactions. Oxygen absorption rate was studied on a highly sensitive differential gauge installation. It was established that the studied terpenoids exert an inhibitory effect in the oxidation reaction of the model substrate of ethylbenzene at the level of the classical oxidation inhibitor – ionol. The antiradical activity of the investigated substances is quantitatively characterized by an effective constant of inhibition rate $f \cdot k_{in}$, where f – is the stoichiometric coefficient of inhibition, shows the number of radicals that die on one molecule of the inhibitor, k_{in} – is the rate constant of the interaction of the ethylbenzene peroxy radical with the inhibitor molecule. The activation energy of the elementary reaction of the interaction of the terpenoid molecule with the ethylbenzene peroxy radical was estimated to be 110.1 ± 9.8 kJ/mol. For the nine new studied compounds, quantitative parameters of inhibition were determined: effective inhibition rate constants $f \cdot k_{in}$, ($f \cdot k_{in}$ is in the range $(1.6\text{--}323.1) \cdot 10^3$ l/mol·c), a stoichiometric coefficient of inhibition equal to 2. The studied compounds – terpenoids contain both electron-withdrawing and electron-donating substituents. The antioxidant properties, apparently, have their resulting effect. In general, according to the literature, electrodonor substituents enhance the antioxidant properties of the compounds. For the inhibitory composition: “terpenoid (A) methyl 2-(5'-chloro-4'-oxopentyl)-12-isopropyl-6,9a-dimethyl-1,3-dioxohexadecahydro-3b,11-ethenonaphtho[2,1-e]isoindole-6-carboxylate + a-naphthylamine”, a synergistic effect was established: namely, a 2.5-fold decrease in the rate of oxidation of ethylbenzene when they are introduced together for the oxidation reaction of a model substrate of ethylbenzene. According to the literature, a possible scheme for the joint action of two inhibitors is discussed: the synergism of the inhibitors may be due to various inhibitory mechanisms, i.e. one inhibitor, namely a-naphthylamine breaks the oxidation chains with peroxy radicals of oxidizable ethylbenzene, and another inhibitor – the terpenoid molecule – possibly heterolytically destroys hydroperoxide without the formation of free radicals.

Keywords: terpenoids, antioxidant activity, liquid phase oxidation inhibitors, reaction rate constant.

Published in Russian. Do not hesitate to contact us at bulletin_bsu@mail.ru if you need translation of the article.

REFERENCES

1. Kazakova O. B., Tret'yakova E. V., Smirnova I. E., Spirikhin L. V., Tolstikov G. A., Chudov E. V., Bazekin G. V., Ismagilova A. F. The synthesis and anti-inflammatory activity of quinopimaric acid derivatives. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2010. Vol. 36. No. 2. Pp. 257–262.
2. Kazakova O. B., Smirnova I. E., TkhiTkhu H. D., Nguen T. T., Apryshko G. N., Zhukova O. S., Medvedeva N. I., Nazyrov T. I., Tret'yakova E. V., Chudov I. V., Ismagilova A. F., Suponitsky K. Yu., Kazakov D. V., Safarov F. E., Tolstikov G. A. Synthesis, structure, and pharmacological activity of (7R,8S)-epoxy-(13R,17R)-trioxolaneabietic acid. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2013. Vol. 39. No. 2. Pp. 202–210.
3. Tret'yakova E. V., Smirnova I. E., Salimova E. V., Odnokov V. N., *Bioorg. Med. Chem.* 2015. Vol. 23. Pp. 6543.
4. Tret'yakova E. V., Smirnova I. E., Kazakova O. B., Tolstikov G. A., Yavorskaya N. P., Golubeva I. S., Pugacheva R. B., Apryshko G. N., Poroikov V. V., *Bioorg. Med. Chem.* 2014. Vol. 22. Pp. 6481.

5. Sakhautdinov I. M., Sultanova R. M. *Khimiya prirodnikh soedinenii*. 2019. Pp. 42–46.
6. Sakhautdinov I. M., Malikova R. N., Yunusov M. S. *Chem. Nat. Compd.* 2018. Vol. 54(1). Pp. 102–105.
7. Sakhautdinov I. M., Malikova R. N., Khasanova D. V., Zainullina L. F., Vakhitov V. A., Lobov A. N., Vakhitova Y. V., Yunusov M. S. *Lett. Org. Chem.* 2018. Vol. 15(10). Pp. 854–862.
8. Biglova Yu. N., Malikova R. N., Petrova S. F., Ivanov S. P., Sakhautdinov I. M., Mustafin A. G. *Int. J. Chem. Kinet.* 2019. Vol. 51. Pp. 311–320.
9. Knunyants I. L. *Khimicheskii entsiklopedicheskii slovar'* [Chemical encyclopedic dictionary]. Moscow: Sovetskaya entsiklopediya. 1983.
10. Tietze L., Aicher T. *Preparativnaya organicheskaya khimiya. Reaktsii i sintezy v praktikume organicheskoi khimii i nauchno-issledovatel'skoi laboratorii* [Preparative organic chemistry. Reactions and syntheses in a workshop on organic chemistry and in a research laboratory]. Moscow: Mir. 1999.
11. Emanuel N. M., Gal D. R. *Okslenie etilbenzola* [Oxidation of ethylbenzene]. Moscow: Nauka. 1984.
12. Denisov E. T. *Konstantyskorostigomoliticheskikhzhidkofaznykhreaktsii* [Rate constants of homolytic liquid-phase reactions]. Moscow: Nauka. 1971.
13. Denisov E. T., Azatyan V. V. *Ingibirovaniyetsepnnykhreaktsii* [Inhibition of chain reactions] – Chernogolovka: IFKhCh RAN. 1997.
14. Garifullina G. G., Latypova L. R., Salikhov Sh. M., Nasretdinova R. N., Mustafin A. G., Abdrakhmanov I. B. *Vestnik Bashkirskogo universiteta*. 2018. Vol. 23, No. 4. Pp. 1042–1050.

Received 15.11.2019.