

Інститут фізико-органічної хімії і вуглехімії імені Л.М. Литвиненка
Національна академія наук України
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
Міністерство освіти і науки України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Дикун Олексій Михайлович

УДК 544.127+544.17+544.18+544.42+547.83+543.9

ДИСЕРТАЦІЯ

«БУДОВА І ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ОСНОВ ШИФФА І ГІДРАЗОНІВ ГОСИПОЛУ»

Спеціальність 02.00.04 – «Фізична хімія»
(Хімічні науки)

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ О.М. Дикун

Науковий керівник
Редько Андрій Миколайович,
кандидат хімічних наук

Київ – 2019

АНОТАЦІЯ

Дикун О.М. Будова і фізико-хімічні властивості основ Шиффа і гідразонів госиполу. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.04 – фізична хімія (хімічні науки). – Інститут фізико-органічної хімії і вуглехімії імені Л.М. Литвиненка НАН України; Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерство освіти і науки України, Київ, 2019.

Дисертація присвячена дослідженню будови, таутомерних рівноваг і антирадикальних властивостей основ Шиффа і гідразонів госиполу.

Синтез імінопохідних госиполу проводили в етанолі. Для контролю чистоти синтезованих імінопохідних госиполу застосовували метод обернено-фазової вискоефективної рідинної хроматографії (ОФ ВЕРХ). Будову досліджуваних сполук підтверджували методами ^1H , ^{13}C ЯМР та ІЧ спектроскопії.

Було отримано сім основ Шиффа госиполу з: 4-фтораніліном (GDFA), 4-броманіліном (GDBA), 4-метоксіаніліном (GMTA), 2,5-диметоксіаніліном (GDMTA), 3-аміно-5-метилізоксазолом (GAMI), [2-(3,5-диметил-1H-1,2,4-триазол-1-іл)-1-метилетил]аміном (GDТА), 4-аміноантипірином (GSAP) і два гідразона госиполу з: фенілгідрaziном (GDPG) та (карбоксиметил)-триметиламоній хлорид гідрaziном (GCTA).

Сполуки GAMI, GDТА і GCTA отримані вперше.

Відомо що, імінопохідні госиполу можуть існувати у двох таутомерних формах (дієнамінній та діімінній). Всі досліджувані основи Шиффа госиполу (GDFA, GDBA, GMTA, GDMTA, GAMI, GDТА і GSAP) в CDCl_3 існують у дієнамінній таутомерній формі. Це підтверджується наявністю сигналів протонів відповідних N–H груп в області 13,2–16,2 м.ч. Присутність сигналів цих протонів в слабкому полі обумовлена утворенням внутрішньомолекулярних водневих зв'язків N–H \cdots O=C. Реалізацію дієнамінної таутомерної форми додатково підтверджує наявність в ^1H ЯМР спектрах усіх досліджуваних основ Шиффа дублета протонів C–H азометинових груп в області 10–11 м.ч. з константами спі-

спінової взаємодії $^3J(\text{HC}, \text{NH})=10-12$ Гц, що характерно для сполук, які існують у дієнамінній формі.

Основи Шиффа госиполу GDFA, GMTA, GDMTA і GDTA в DMSO-d6, а основи Шиффа GDBA і GSAP в розчині CDCl₃/DMSO-d6, також існують у дієнамінній таутомерній формі. Зсув сигналів протонів їхніх O–H груп в слабке поле обумовлений утворенням водневих зв'язків з ДМСО-d6.

Синглети протонів додаткових O–H і N–H груп (імінний фрагмент) присутні в ^1H ЯМР спектрах гідразонів GDPG і GCTA в ДМСО-d6 і CDCl₃. Отже, для гідразонів госиполу в розчинах реалізується діїмінна форма. Зсув сигналів протонів N–H груп в слабке поле в ДМСО-d6, у порівнянні з сигналами цих протонів в CDCl₃, обумовлений утворенням водневих зв'язків між цими протонами і розчинником.

Згідно даних ^1H ЯМР спектрів, основа Шиффа госиполу GAMІ в розчинах ДМСО-d6 і ДМФА-d7 існує як у дієнамінній так і у діїмінній таутомерних формах. На це вказує наявність у спектрах сигналів протонів обох форм. Із співвідношення інтегральних інтенсивностей сигналів різних форм був визначений вміст дієнамінної таутомерної форми при T=293 К, що складає 60% в ДМФА-d7 і 10% в ДМСО-d6. При підвищенні температури від 293 К до 363 К в ДМСО-d6 вміст дієнамінної таутомерної форми зростає від 10% до 80%. Для реакції таутомерного переходу основи Шиффа госиполу GAMІ в ДМСО-d6 з діїмінної до дієнамінної форми було визначено термодинамічні параметри. Встановлено, що суттєвим фактором, який впливає на стабілізацію дієнамінної таутомерної форми є водневий зв'язок між протоном O–H групи і киснем сусідньої карбонільної групи C=O, що знаходяться в орто-положенні.

Дані ^{13}C ЯМР спектрів вказують на значну різницю між хімічними зсувами діїмінної та дієнамінної форм імінопохідних госиполу. В першу чергу це стосується сигналу атома вуглецю, який при переході від діїмінної до дієнамінної форми утворює карбонільну групу. Таким чином, реалізація діїмінної таутомерної форми в ДМСО-d6 підтверджується для GAMІ, GDPG і GCTA.

За допомогою двомірних ЯМР методик ^1H - ^{13}C HSQC та HMBSC і квантово-хімічних розрахунків було виконане повне віднесення хімічних зсувів у ^{13}C ЯМР спектрах усіх досліджуваних сполук.

Найбільш характерні смуги поглинання в УФ спектрах основ Шиффа госиполу в дієнамінній таутомерній формі знаходяться в області 385–480 нм, а в УФ спектрах гідразонів госиполу в діїмінній формі – в області 385–395 нм.

Показано, що в УФ спектрі GAMІ зниження інтенсивності найбільш довгохвильової смуги поглинання при переході від хлороформу до ДМСО пояснюється зміщенням таутомерної рівноваги в бік діїмінної форми.

В ІЧ спектрах досліджуваних сполук в KBr реєструються інтенсивні смуги поглинання в області 1600–1620 cm^{-1} . Ці смуги можуть бути віднесені до кільцевих коливань нафтільного фрагменту, а також до валентних коливань C=O групи (дієнамінна таутомерна форма). В ІЧ спектрі основи Шиффа GSAP при 1652 cm^{-1} реєструється інтенсивна смуга поглинання, що відповідає валентним коливанням C=O групи антипіринового фрагменту. В ІЧ спектрі гідразона GCTA смуга поглинання при 1691 cm^{-1} відповідає коливанням $\nu(\text{C}=\text{O})$ гідразинового фрагменту. Відмінності в спектрах основ Шиффа і гідразонів госиполу спостерігаються в області валентних коливань O–H і N–H груп. Так, у випадку основ Шиффа спостерігаються інтенсивні широкі смуги в області ~ 3480 cm^{-1} і ~ 3350 cm^{-1} , що відповідають коливанням $\nu(\text{O}-\text{H})$. У випадку гідразонів госиполу в спектрі з'являється смуга поглинання при ~ 3400 cm^{-1} . Очевидно, ця смуга відповідає коливанням $\nu(\text{O}-\text{H})$ додаткової O–H групи.

За допомогою квантово-хімічних розрахунків виконано віднесення смуг поглинання в ІЧ спектрі GAMІ. Доведено, що в твердому стані ця сполука існує в дієнамінній таутомерній формі.

Квантово-хімічні розрахунки підтверджують наявність водневого зв'язку $\text{N}\cdots\text{H}-\text{O}=\text{C}$ у гідразонів GDPG і GCTA. Довжина водневого зв'язку $\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}=\text{C}$ основ Шиффа менша, ніж довжина аналогічного зв'язку гідразонів. Нафтільні фрагменти всіх досліджуваних сполук мають некопланарне положення, причому дієдральний кут між ними більше 90° . Довжини центральних зв'язків між

нафталіновими кільцями практично не змінюються в ряду досліджуваних сполук і складають 1,50 Å.

Різниця повних енергій дієнамінної та діїмінної таутомерних форм молекули ГАМІ свідчить про те, що дієнамінна таутомерна форма є енергетично більш вигідною в газовій фазі.

Кількісна оцінка антирадикальних властивостей імінопохідних госиполу була проведена за допомогою реакції із вільним радикалом 2,2'-дифеніл-1-пікрілгідразилом (ДФПГ) і катіон-радикалом 2,2'-азино-біс-(3-етилбензтіазолін-6-сульфокислоти) (АБТС) в етанолі.

Реакції ДФПГ і катіон-радикала АБТС з імінопохідними госиполу можна розділити на швидку і повільну стадії. У випадку реакції імінопохідних госиполу з ДФПГ, швидка стадія триває 20-30 секунд. Ступінь перетворення ДФПГ за цей час складає 55-70 %, а стехіометричні коефіцієнти близькі до 2.

Кінетичні криві зменшення оптичної густини розчину ДФПГ при взаємодії з імінопохідними госиполу на повільній стадії спрямляються в координатах інтегрального рівняння реакції другого порядку.

Розраховані енергії гомолітичної дисоціації (BDE) та енергії гетеролітичної дисоціації (РА) О–Н та N–H зв'язків досліджуваних сполук. Визначено найбільш реакційноздатні О–Н групи.

Для інтерпретації результатів реакції імінопохідних госиполу з ДФПГ і катіон-радикалом АБТС використовували величини EC_{50} .

Окрім EC_{50} , для оцінки антирадикальних властивостей використовували параметри VCEAC (vitamin C equivalent antioxidant capacity) і TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity). Величина VCEAC індивідуальної сполуки дорівнює концентрації розчину аскорбінової кислоти (мМ), що має таку саму антирадикальну дію, як розчин досліджуваної речовини з концентрацією 1 мМ.

Проведено порівняльний аналіз антирадикальної дії імінопохідних госиполу по відношенню до радикала ДФПГ і катіон-радикала АБТС. Встановлено, що досліджені сполуки є більш ефективними антирадикальними агентами по відношенню до катіон-радикала АБТС ніж до ДФПГ. Встановлено,

що стехіометричні коефіцієнти в реакції з катіон-радикалом АБТС перевищують кількість О–Н (N–H) груп в структурі імінопохідних, що обумовлено взаємодією АБТС^{•+} з радикальними продуктами реакції.

Досліджено взаємодію основ Шиффа госиполу з ДФПГ в присутності хлоридної кислоти. Введення кислоти в реакційну суміш призвело до суттєвого зменшення швидкості процесу. Це відбулося за рахунок пригнічення механізму SPLET (sequential proton loss electron transfer). В присутності кислоти підвищується концентрація протонуваних молекул розчинника і пригнічується дисоціація молекул фенольних антиоксидантів. Внаслідок чого реакція з ДФПГ відбувається за повільнішим механізмом НАТ (hydrogen atom transfer).

Окрім того, вимірювання проводились при зниженій температурі, що також уповільнювало процес. Такий підхід дозволив визначити константи швидкості реакції.

Протонування основ Шиффа госиполу в присутності сильних кислот призводить до зміщення таутомерної рівноваги від дієнамінної до діімінної таутомерної форми. При цьому в структурі молекули з'являються додаткові О–Н групи, що здатні реагувати з ДФПГ. Тоді різниця в реакційній здатності досліджуваних основ Шиффа по відношенню до ДФПГ в присутності хлоридної кислоти може бути пояснена здатністю до протонування атома азоту азометинової групи.

Показано існування кореляції між величинами хімічних зсувів протонів N–H груп основ Шиффа госиполу і константами швидкості реакції з ДФПГ в кислих середовищах.

Проведено визначення біологічної активності ряду основ Шиффа госиполу за допомогою біотестів на кореневій системі огірків (*Cucumis sativus L.*). Встановлено, що всі досліджені сполуки пригнічують проліферацію клітин і мають високу цитостатичну активність. Виконано прогнозування біологічної активності досліджуваних сполук за допомогою QSAR (Quantitative Structure–Activity Relationship) методів.

Вперше отримані імінопохідні госиполу є біологічно активними сполуками. Спектроскопічні, структурні, кінетичні характеристики та характеристики антирадикальних властивостей є важливим довідковим матеріалом.

Ключові слова: госипол, основа Шиффа, гідразон, ЯМР, ІЧ, УФ, антирадикальна властивість, ДФПГ, АБТС, біологічна активність.

ABSTRACT

Dykun A.M. Physicochemical properties of gossypol Schiff bases and hydrazones.
– Qualification scientific paper, manuscript.

Thesis for the candidate of chemical sciences according to specialty of 02.00.04 – physical chemistry (Chemistry). – L.M. Litvinenko Institute of Physical-Organic and Coal Chemistry NAS of Ukraine; V. N. Karazin Kharkiv National University, the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2019.

The dissertation is devoted to investigation of structure, tautomeric equilibria and radical scavenging properties of gossypol Schiff bases and hydrazones.

Synthesis of gossypol imine derivatives was carried out in ethanol. To control the purity of synthesized imine derivatives method of reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP HPLC) was used. The structures of the studied compounds were confirmed by ^1H , ^{13}C NMR and IR spectroscopy.

Seven gossypol Schiff bases and two hydrazones were obtained: with 4-fluoroaniline (GDFA), 4-bromoaniline (GDBA), 4-methoxyaniline (GMTA), 2,5-dimethoxyaniline (GDMTA), 3-amino-5-methylisoxazole (GAMI), [2-(3,5-dimethyl-1N-1,2,4-triazole-1-yl)-1-methylethyl]amine (GDTA), 4-aminoantipyrine (GSAP), phenylhydrazine (GDPG) and (carboxymethyl)trimethylammonium chloride hydrazide (GCTA).

GAMI, GDTA and GCTA are new compounds.

It is known that gossypol imine derivatives can exist in two tautomeric forms (imine-imine and enamine-enamine). All studied gossypol Schiff bases (GDFA, GDBA, GMTA, GDMTA, GAMI, GDTA and GSAP) exist in enamine-enamine tautomeric form in CDCl_3 . This is confirmed by the presence of corresponding N–H groups protons signals in region of 13.2–16.2 ppm. These protons are involved in the N–H \cdots O=C hydrogen bond formation that leads to signal shifting towards a weak field. Doublets of C–H protons of azomethine groups in the region of 10–11 ppm additionally confirm enamine-enamine tautomeric form for studied gossypil Schiff bases. The $^3\text{J}(\text{HC}, \text{NH})$ coupling constants in all cases are 10–12 Hz which is typical for compounds in enamine-enamine tautomeric form.

Gossypol Schiff bases GDFA, GMTA, GDMTA, GDTA (in DMSO-d₆) and GDBA, GSAP (in solution CDCl₃/DMSO-d₆) exist in enamine-enamine tautomeric form. Shift of the O–H groups protons signals toward a weak field is due to the intermolecular hydrogen bond formation between these protons and DMSO-d₆.

The signals of the protons of C(7)–OH and N(14)–H groups are present in the spectra of hydrazones GDPG and GCTA in DMSO-d₆ and CDCl₃. It follows that gossypol hydrazones exist in solution as imine-imine. Shift of the N–H groups protons signals toward a weak field in DMSO-d₆ in comparison with the signals of these protons in CDCl₃ is due to the intermolecular hydrogen bond formation between these protons and solvent.

¹H NMR spectra data indicates that in DMSO-d₆ and DMF-d₇ GAMI exists in two tautomeric forms: enamine-enamine and imine-imine. The content of the enamine-enamine tautomeric form was determined from the integral intensities ratio of the proton signal of different forms which is 60% in DMF-d₇, and 10% in DMSO-d₆ at T=293 K. Temperature increases from 293 K to 363 K leads to increasing content of the enamine-enamine form from 10% to 80% in DMSO-d₆. The thermodynamic parameters for the reaction of tautomeric transition of gossypol Schiff base GAMI in DMSO-d₆ were determined. It was found that enamine-enamine tautomer could be stabilized by the hydrogen bond formed between the proton of O–H group and neighboring oxygen of carbonil group in ortho position.

¹³C NMR data indicate a significant difference between the chemical shifts of the imine-imine and enamine-enamine forms of gossypol imine derivatives. This applies to the signal of the carbon atom which in the transition from the enamine-enamine to imine-imine form is formed carbonyl group. Thus imine-imine tautomeric form is confirmed for GAMI, GDPG and GCTA in DMSO-d₆.

Using HSQC and HMBC NMR techniques and quantum-chemical calculations full assignment of chemical shifts in ¹³C NMR spectra of all studied compounds were carried out.

The most characteristic absorption bands for gossypol Schiff bases (enamine-enamine tautomeric form) in chloroform are located in the range of 385–480 nm. The

longest wavelength bands for the studied hydrazones are located in the range of 385–395 nm.

It was shown that intensity decreasing of the longest wavelength band in the UV-Vis spectrum of GAMI in DMSO is explained by the shifting the tautomeric equilibrium towards imine-imine form.

In the IR spectra of all studied compounds strong absorption bands in the range of 1600–1620 cm^{-1} are observed. These bands can be assigned to the C=C stretching vibrations of naphthalene moiety and to C=O stretching vibrations (enamine-enamine form). In the spectrum of GSAP strong absorption band at 1652 cm^{-1} was assigned to the stretching vibrations of C=O. Absorption band at 1691 cm^{-1} in the spectrum of hydrazone GCTA was assigned to stretching vibrations of C=O in hydrazine residue. The most noticeable differences in the IR spectra of Schiff bases and hydrazones are observed in the region of O–H and N–H stretching vibrations. In the case of Schiff bases strong broadened bands corresponding to the $\nu(\text{O–H})$ in the region of $\sim 3480 \text{ cm}^{-1}$ and $\sim 3350 \text{ cm}^{-1}$ are observed. Absorption bands at 3400 cm^{-1} appear in the spectrum of hydrazones. Obviously these bands correspond to the $\nu(\text{O–H})$ of additional O–H groups.

Using quantum chemical calculations the assignment of absorption bands in the IR spectrum of GAMI were carried out. It was shown that this compound exists as enamine-enamine tautomer in the solid state.

Quantum chemical calculations confirm presence of intramolecular hydrogen bond $\text{N}\cdots\text{H–OC}$ in hydrazones GDPG and GCTA. Hydrogen bond $\text{CO}\cdots\text{H–OC}$ in gossypol Schiff bases is shorter than this bond in hydrazones. The naphthalene fragments of all studied compounds have non-planar position with a dihedral angle between them more than 90° . Lengths of the central bonds are the same in all studied compounds (1.50 Å).

Calculated total energies of different tautomers of GAMI indicate that the enamine-enamine tautomeric form is more stable in the gas phase.

Quantitative evaluation of free radical scavenging activity of synthesized compounds was performed using the free DPPH (2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

radical and ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) radical cation in ethanol.

For gossypol imine derivatives tested, the reactions with DPPH and ABTS^{•+} are biphasic, with a fast decay in absorbance in the first seconds, followed by a slower step until equilibrium is reached. In the case of reaction of gossypol imine derivatives with DPPH the duration of the fast step is about 20-30 seconds. The degree of DPPH conversion during this time is 55-70% and the stoichiometric coefficients are close to 2.

Kinetic curves of DPPH absorbance decreasing in the interacting with gossypol imine derivatives at the slow step are rectified in the coordinates of the second order reaction.

Homolytic bond dissociation energies (BDE) and heterolytic bond dissociation energies (PA) of O–H (N–H) groups were calculated. The most reactive O–H groups of studied compounds were established.

To interpret the results of the reaction of gossypol imine derivative with DPPH and radical cation ABTS values of EC₅₀ were used.

VCEAC (vitamin C equivalent antioxidant capacity) and TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) parameters were used to evaluate radical scavenging properties of studied compounds in addition to the EC₅₀. The VCEAC is equal to the millimolar concentration of vitamin C solution having the antioxidant capacity equivalent to 1 mM solution of the substance under investigation.

A comparative analysis of the radical scavenging properties of gossypol imine derivatives in relation with DPPH and radical cation ABTS was carried out. It was shown that studied compounds are more effective radical scavenging agents in relation to ABTS radical cation than to DPPH radical. It was found that the stoichiometric coefficients of reaction of gossypol imine derivatives with ABTS^{•+} are larger than the number of O-H (N-H) groups in the structure of imine derivatives. That may be due to interaction of ABTS radical cation with gossypol imine derivatives degradation products.

The interaction of gossypol Schiff bases with DPPH in the presence of chloride acid was investigated. The introduction of acid into the reaction mixture led to a

significant reduction in the speed of the process. This was due to the inhibition of the SPLET mechanism (sequential proton loss electron transfer). In the presence of acid the concentration of protonated solvent molecules is increases and dissociation of the phenolic antioxidant molecules is inhibited. As a result the reaction with DPPH occurs at a slower mechanism of HAT (hydrogen atom transfer).

In addition measurements were carried out at reduced temperature which also slowed down the process. This approach allowed to determine the rate constants of the reaction.

The protonation of gossypol Schiff bases in the presence of strong acids leads to shift of the tautomeric equilibrium from the enamine-enamine to imine-imine tautomeric form. And additional O–H groups in the structure of the molecule are appear (which are able to react with DPPH). Then the difference in the reactivity of investigated Schiff bases toward DPPH in the presence of chloride acid can be explained by the ability to protonate the nitrogen atom of the azomethine group.

The existence of correlation between chemical shifts of protons of N–H groups and reaction rate constants in acid media was shown.

The determination of biological activity of a number of gossypol Schiff bases in biotests on the cucumbers root system (*Cucumis sativus* L.) was carried out. It was found that all studied compounds inhibit cell proliferation and have cytostatic activity. Prediction of biological activity of studied compounds using QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) methods was performed.

New gossypol imine derivatives are biologically active compounds. Spectroscopic, structural, kinetic and radical scavenging characteristics are important reference material.

Keywords: gossypol, Schiff base, hydrazone, NMR, IR, UV-Vis, radical scavenging property, DPPH, ABTS, biological activity.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці у наукових фахових виданнях України:

1. Рыбаченко, В.И.; **Дикун, А.М.**; Илькевич, Н.С.; Чотий, К.Ю.; Гребенюк, Л.В. Таутомерные равновесия и антирадикальная активность иминопроводных госсипола. *Наукові праці Донецького національного технічного університету. Серія: Хімія і хімічна технологія. 2012, 199(19), 75-80. (Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, дослідження їхніх антирадикальних властивостей, віднесення хімічних зсувів в ЯМР спектрах і смуг поглинання в ІЧ спектрах, обговорення результатів і написання тексту статті).*
2. Макарова, Р.А.; Илькевич, Н.С.; **Дикун, А.М.**; Чотий, К.Ю.; Рыбаченко, В.И. Изучение таутомерии иминопроводных госсипола. *Наукові праці Донецького національного технічного університету. Серія: Хімія і хімічна технологія. 2014, 22(1), 119-127. (Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, віднесення смуг поглинання в ІЧ спектрах, обговорення результатів).*
3. **Дикун, А.М.**; Редько, А.Н.; Илькевич, Н.С.; Чотий, К.Ю.; Рыбаченко, В.И. Спектроскопическое изучение строения и антирадикальной активности иминопроводных госсипола. *Вопросы химии и химической технологии. 2017, 3(112), 10-13. (Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, дослідження їхніх антирадикальних властивостей, віднесення хімічних зсувів в ЯМР спектрах і смуг поглинання в ІЧ спектрах, обговорення результатів і написання тексту статті).*
4. **Дикун, А.М.**; Редько, А.Н.; Анищенко, В.Н.; Илькевич, Н.С.; Рыбаченко, В.И.; Чотий, К.Ю.; Гребенюк Л.В. Спектроскопическое и квантово-химическое изучение оснований Шиффа госсипола. *Украинский химический журнал. 2017, 83(7), 60-64. (Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу,*

дослідження їхніх антирадикальних властивостей, віднесення хімічних зсувів в ЯМР спектрах, обговорення результатів і написання тексту статті).

5. **Дикун, А.М.;** Редько, А.Н.; Анищенко, В.Н.; Рыбаченко В.И. Количественная оценка антирадикальных свойств оснований Шиффа и гидразонов госсипола. *Украинский химический журнал*. **2018**, 84(6), 115-126. (Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, віднесення хімічних зсувів в ЯМР спектрах, дослідження антирадикальних властивостей, проведення кінетичних вимірювань, обговорення результатів і написання тексту статті).

Наукові праці у зарубіжних наукових фахових виданнях:

6. Макарова, Р.А.; Илькевич, Н.С.; **Дикун, А.М.;** Чотий, К.Ю.; Рыбаченко В.И. Изучение строения производных дианилиногоссипола. *Вестник Новгородского Государственного Университета*. **2013**, 2(73), 37-40. (Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, віднесення хімічних зсувів в ЯМР спектрах, обговорення результатів).
7. **Dykun, A.M.;** Anishchenko, V.N.; Redko, A.N.; Rybachenko, V.I.; Chotiy K.Y. Spectroscopic and quantum chemical study of gossypol imine derivatives. *J. Mol. Struct.* **2019**, 1179, 289-296. (Видання входить до наукометричної бази даних Scopus) (Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, віднесення хімічних зсувів в ЯМР спектрах і смуг поглинання в УФ та ІЧ спектрах, дослідження таутомерних рівноваг, обговорення результатів і написання тексту статті).

Наукові праці апробаційного характеру (тези доповідей на наукових конференціях):

8. Рыбаченко, В.И.; **Дикун, А.М.;** Илькевич, Н.С.; Гребенюк, Л.В.; Чотий К.Ю. Антирадикальная активность ряда иминопроизводных госсипола. *Сучасні проблеми фізичної хімії: Тези Доповідей V Міжнародної конференції,*

- Донецьк, Україна, 5-8 вересня 2011 р.; ДонНУ, Донецьк, **2011**, с. 115-116. (*Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, дослідження їхніх антирадикальних властивостей, проведення кінетичних вимірювань, обговорення результатів і написання тез доповідей*).
9. **Дикун, А.М.**; Рыбаченко, В.И.; Чотий, К.Ю.; Гребенюк, Л.В.; Илькевич, Н.С.; Борисенко Н.И. Таутомерия и антиоксидантная активность оснований Шиффа госсипола. *Ядерный магнитный резонанс, хроматография/масс-спектрометрия, ИК-Фурье спектроскопия и их комбинации: Тезисы Докладов VI Международной конференции по новым технологиям и приложениям современных физико-химических методов для изучения окружающей среды*, Ростов на Дону, Россия, 31 августа-4 сентября 2011 г.; ЮФУ, Ростов на Дону, **2011**, с. 96-97. (*Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, дослідження таутомерних рівноваг одержаних сполук, дослідження антирадикальних властивостей, обговорення результатів і написання тез доповідей*).
10. Рыбаченко, В.И.; Чотий, К.Ю.; Илькевич, Н.С.; **Дикун А.М.** Антирадикальная активность и строение альдиминов госсипола. *Химическая термодинамика и кинетика: Тезисы Докладов Третьей Международной научной конференции*, Великий Новгород, Россия, 27-31 мая 2013 г.; НовГУ, Великий Новгород, **2013**, с. 135-137. (*Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, дослідження таутомерних рівноваг одержаних сполук, дослідження антирадикальних властивостей, обговорення результатів і написання тез доповідей*).
11. Рыбаченко, В.И.; Чотий, К.Ю.; Илькевич, Н.С.; **Дикун А.М.** ^1H и ^{13}C ЯМР спектроскопическое изучение иминопроизводных госсипола. *Хімічна термодинаміка і кінетика: Тези Доповідей Четвертої Міжнародної наукової конференції*, Донецьк, Україна, 3-5 вересня 2014 р.; ДонНТУ, Донецьк, **2014**, с. 16-17. (*Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, дослідження будови і таутомерних рівноваг одержаних сполук, обговорення результатів і написання тез доповідей*).

12. Дикун, А.М.; Рыбаченко, В.И.; Чотий, К.Ю.; Илькевич Н.С. Изучение антирадикальной активности дииминов госсипола. *Химическая термодинамика и кинетика*: Тезисы Докладов Пятой Международной научной конференции, Великий Новгород, Россия, 25-29 мая 2015 г.; НовГУ, Великий Новгород, **2015**, с. 63-65. (*Особистий внесок здобувача: дослідження антирадикальних властивостей імінопохідних госиполу, обговорення результатів і написання тез доповідей*).
13. Дикун, О.М.; Чотій, К.Ю.; Рибаченко, В.І.; Редько, А.М.; Илькевич Н.С. Будова гідразону госиполу з (карбоксиметил)триметиламоній хлорид гідрaziном. *Хімічні проблеми сьогодення*: Тези Доповідей Дев'ятої Української наукової конференції студентів, аспірантів і молодих учених з міжнародною участю, Вінниця, Україна, 29-30 березня 2016 р.; ДонНУ, Вінниця, **2016**, с. 136. (*Особистий внесок здобувача: синтез гідразона госиполу, віднесення хімічних зсувів в ЯМР спектрах, дослідження таутомерних рівноваг, обговорення результатів і написання тез доповідей*).
14. Дикун, О.М.; Редько, А.М.; Рибаченко, В.І.; Чотій, К.Ю.; Илькевич Н.С. ЯМР спектроскопічне дослідження таутомерних рівноваг основи Шиффа госиполу з 3-аміно-5-метилізоксазолом. *Хімічні проблеми сьогодення*: Тези Доповідей Десятої Української наукової конференції студентів, аспірантів і молодих учених з міжнародною участю, Вінниця, Україна, 27-29 березня 2017 р.; ДонНУ, Вінниця, **2017**, с. 153. (*Особистий внесок здобувача: синтез основи Шиффа госиполу, віднесення хімічних зсувів в ЯМР спектрах, дослідження таутомерних рівноваг, обговорення результатів і написання тез доповідей*).
15. Дикун, А.М.; Редько, А.Н.; Анищенко, В.Н.; Рыбаченко, В.И.; Чотий К.Ю. ¹³C ЯМР спектроскопическое и квантово-химическое изучение строения иминопроизводных госсипола. *Химическая термодинамика и кинетика*: Тезисы Докладов Седьмой Международной научной конференции, Великий Новгород, Россия, 29 мая-2 июня 2017 г.; НовГУ, Великий Новгород, **2017**, с. 92-93. (*Особистий внесок здобувача: віднесення хімічних зсувів в ЯМР спектрах, дослідження таутомерних рівноваг, обговорення результатів і*

написання тез доповідей).

16. Дикун, А.М.; Редько, А.Н.; Рыбаченко В.И. Изучение антирадикальных свойств оснований Шиффа госсипола в реакции сДФПГ в присутствии HCl. *Хімічні проблеми сьогодення: Тези Доповідей I Міжнародної (XI Української) наукової конференції студентів, аспірантів і молодих учених, Вінниця, Україна, 27-29 березня 2018 р.; ДонНУ, Вінниця, 2018, с. 189. (Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, віднесення хімічних зсувів в ЯМР спектрах, дослідження антирадикальних властивостей, проведення кінетичних вимірювань, обговорення результатів і написання тез доповідей).*
17. Дикун, А.М.; Редько, А.Н.; Рыбаченко В.И. Взаимодействие оснований Шиффа госсипола сДФПГ в присутствии соляной кислоты. *Химическая термодинамика и кинетика: Тезисы Докладов Восьмой Международной научной конференции, Тверь, Россия, 28 мая-1 июня 2018 г.; ТвГУ, Тверь, 2018, с. 118-119. (Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, віднесення хімічних зсувів в ЯМР спектрах, дослідження антирадикальних властивостей, проведення кінетичних вимірювань, обговорення результатів і написання тез доповідей).*

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	21
ВСТУП	23
1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	28
1.1. Фізико-хімічні і біологічні властивості основ Шиффа і гідразонів госиполу	28
1.1.1. Будова, стереохімія і таутомерія молекули госиполу	28
1.1.2. Одержання основ Шиффа і гідразонів госиполу	29
1.1.3. Таутомерія і стереохімія основ Шиффа і гідразонів госиполу	32
1.1.4. Спектроскопія основ Шиффа і гідразонів госиполу	34
1.1.4.1. ЯМР спектроскопія.....	34
1.1.4.2. ІЧ спектроскопія	35
1.1.4.3. УФ спектроскопія	36
1.1.4.4. Мас-спектроскопія.....	37
1.1.4.5. Рентгеноструктурний аналіз.....	39
1.1.4.6. ЕПР спектроскопія.....	40
1.1.5. Біологічна активність основ Шиффа і гідразонів госиполу	42
1.2. Антирадикальні властивості природних поліфенолів	44
1.2.1. Реакції природних поліфенолів з радикаломДФПГ	44
1.2.2. Реакції природних поліфенолів з катіон-радикалом АБТС.....	46
1.2.3. Механізми реакцій природних поліфенолів із вільними радикалами	48
Висновки до розділу 1	54
2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	55
2.1. Методи експерименту.....	56
2.1.1. Обернено-фазова високоефективна рідинна хроматографія.....	56
2.1.2. ІЧ спектроскопія	57
2.1.3. ЯМР спектроскопія.....	57
2.1.4. УФ спектроскопія	57

	19
2.1.5. Квантово-хімічні розрахунки	58
2.2. Приготування розчинів.....	58
2.3. Математична обробка результатів експерименту	59
2.4. Синтез речовин, очистка реагентів і розчинників.....	60
2.4.1. Одержання «ацетату» госиполу	60
2.4.2. Очистка розчинників	60
2.4.3. Синтез основ Шиффа госиполу.....	61
2.4.4. Синтез гідразонів госиполу	63
2.5. Опис ^1H - ^{13}C HSQC і HMBC спектрів.....	63
2.6. Обчислення хімічних зсувів.....	73
2.7. Обчислення енергій гомолітичного і гетеролітичного розриву зв'язків.....	73
2.8. Проведення реакції імінопохідних госиполу з радикаломДФПГ	74
2.9. Проведення реакції імінопохідних госиполу з катіон-радикалом АБТС.....	74
2.10. Визначення величин EC_{50}	74
2.11. Визначення стехіометричних коефіцієнтів	76
2.12. Визначення величин VSEAC і TEAC	77
2.13. Визначення біологічної активності імінопохідних госиполу	79
Висновки до розділу 2	80
3. ДОСЛІДЖЕННЯ БУДОВИ І ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ОСНОВ ШИФФА І ГІДРАЗОНІВ ГОСИПОЛУ	81
3.1. Дослідження будови основ Шиффа і гідразонів госиполу.....	81
3.1.1. Аналіз ЯМР спектрів	81
3.1.1.1. ^1H ЯМР спектри	81
3.1.1.2. Визначення термодинамічних параметрів таутомерного переходу основи Шиффа госиполу з 3-аміно-5-метилізоксазолом.....	85
3.1.1.3. ^{13}C ЯМР спектри	87
3.1.2. Аналіз УФ спектрів.....	91
3.1.3. Аналіз ІЧ спектрів.....	96

3.1.4. Аналіз розрахованих структурних характеристик	102
3.2. Дослідження антирадикальних властивостей основ Шиффа і гідразонів госиполу	109
3.2.1. Дослідження реакції основ Шиффа і гідразонів госиполу з ДФПГ	109
3.2.2. Дослідження реакції основ Шиффа і гідразонів госиполу з катіон- радикалом АБТС	115
3.2.3. Дослідження реакції основ Шиффа госиполу з ДФПГ в присутності хлоридної кислоти	118
3.3. Визначення біологічної активності основ Шиффа і гідразонів госиполу	121
Висновки до розділу 3	130
ВИСНОВКИ	131
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	133

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ДФПГ (DPPH) – 2,2'-дифеніл-1-пікрілгідрозил;

АБТС – 2,2'-азино-біс-(3-етилбензтіазолін-6-сульфо кислота);

АБТС^{•+} – катіон-радикал 2,2'-азино-біс-(3-етилбензтіазолін-6-сульфо кислоти);

ВСЕАС – еквівалент антиоксидантної ємності в перерахунку на аскорбінову кислоту;

ТЕАС – еквівалент антиоксидантної ємності в перерахунку на тролокс;

PhOH – одноатомний фенол;

PhO[•] – феноксильний радикал;

PhO⁻ – фенолят аніон;

BDE – енергія гомолітичного розриву хімічного зв'язку;

РА – енергія гетеролітичного розриву хімічного зв'язку;

НАТ – hydrogen atom transfer (механізм взаємодії фенольних сполук із радикалами, що полягає у прямому переносі атома водню від фенолу до радикала);

SPLET – sequential proton loss electron transfer (механізм взаємодії фенольних сполук із вільними радикалами, що полягає у послідовній дисоціації молекули фенолу з переносом електрона);

ЕТ-РТ – electron-transfer proton-loss (механізм взаємодії фенольних сполук із вільними радикалами, що полягає у переносі електрона з послідуєчим переносом протона від молекули фенолу до радикала);

РСЕТ – proton-coupled electron transfer (механізм взаємодії фенольних сполук із вільними радикалами, що полягає в узгодженому перенесенні електрона і протона від фенолу до радикала без утворення іонів);

GDFA – основа Шиффа госиполу з 4-фтораніліном;

GDBA – основа Шиффа госиполу з 4-броманіліном;

GMТА – основа Шиффа госиполу з 4-метоксіаніліном;

GDMТА – основа Шиффа госиполу з 2,5-диметоксіаніліном;

GAMI – основа Шиффа госиполу з 3-аміно-5-метилізоксазолом;

GDTA – основа Шиффа госиполу з [2-(3,5-диметил-1H-1,2,4-триазол-1-іл)-1-метилетил]аміном;

GSAP – основа Шиффа госиполу з 4-аміноантипірином;

GDPG – гідразон госиполу з фенілгідрaziном;

GCTA – гідразон госиполу з (карбоксиметил)-триметиламоній хлорид гідрaziном;

GDA – діаніліногосипол;

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія;

ОФ ВЕРХ – обернено-фазова високоефективна рідинна хроматографія;

HSQC – heteronuclear single quantum correlation (двомірна ЯМР методика, що визначає гетероядерні кореляції через один зв'язок);

HMBC – heteronuclear multiple bond correlation (двомірна ЯМР методика, що визначає гетероядерні кореляції на відстані 2-4 зв'язків);

Me – метил;

QSAR – quantitative structure-activity relationship (процедура побудови моделей, що дозволяють за структурами хімічних сполук передбачати різноманітні біологічні властивості).

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Антиоксиданти – сполуки, що запобігають розвитку вільнорадикальних процесів окиснення. Одним з найпоширеніших різновидів антиоксидантів є поліфеноли рослинного походження. Відомо, що наявність фенольних гідроксильних груп і здатність інгібувати вільнорадикальні процеси значною мірою обумовлює біологічну активність цих сполук. Поліфеноли рослинного походження можуть підлягати подальшій хімічній модифікації з метою формування нових і підсилення існуючих біологічних властивостей. Тому, дослідження поліфенолів рослинного походження становить значний інтерес як з хімічної так і з біологічної точки зору.

Зазвичай, поліфеноли рослинного походження отримують у вигляді неочищених рослинних екстрактів, що містять сотні компонентів, які здатні виявляти різноманітні (не завжди корисні) властивості. Тому, значний інтерес становлять поліфеноли, які можна виділити із рослинної сировини у вигляді індивідуальних сполук. Одним із таких поліфенолів є госипол (2,2'-біс(8-форміл-1,6,7-тригідрокси-5-ізопропіл-3-метилнафтален)). Цей жовтий пігмент міститься в різних частинах бавовни і виконує функцію природного інсектициду та захищає рослину від несприятливих умов навколишнього середовища. Численні дослідження свідчать, що госипол виявляє противірусні, протипротозойні, антиоксидантні, протимікробні та протипухлинні властивості. Разом із тим, госипол виявляє певну токсичність, яку деякі дослідники пов'язують з наявністю в молекулі альдегідних груп. Тому, значні зусилля спрямовано на синтез похідних госиполу, що не містять альдегідних груп і при цьому зберігають корисні біологічні властивості базової сполуки. На теперішній час на основі похідних госиполу створені і застосовуються в медичній практиці такі препарати, як мегосин, батріден, гозалідон, рагосин, кагоцел.

Таким чином, синтез нових похідних госиполу (зокрема імінопохідних), дослідження їхньої будови, стану в розчинах, антирадикальних властивостей та

пошук залежностей фізико-хімічних властивостей цих сполук від структури є актуальним і важливим завданням.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Робота виконана у відділі спектрохімічних досліджень Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії імені Л.М. Литвиненка НАН України відповідно до планів тем: «Інверсійній трансфазний катализ нуклеофільних реакцій галоїдангідридів органічних кислот» (№ державної реєстрації 0109U008218), «Інверсійній трансфазний катализ реакції конденсації біфункціональних хлорангідридів і фенолів» (№ державної реєстрації 0114U003224).

Мета і завдання дослідження.

Метою роботи є синтез та ідентифікація ряду основ Шиффа і гідразонів госиполу з систематичним дослідженням спектрохімічних характеристик, таутомерних рівноваг та антирадикальних властивостей отриманих сполук.

Для досягнення мети, необхідно було вирішити наступні задачі:

- синтезувати ряд основ Шиффа і гідразонів госиполу і встановити будову цих сполук із залученням сучасних спектроскопічних методів;
- вивчити таутомерні рівноваги імінопохідних госиполу в різних розчинниках і виявити фактори, що впливають на таутомерні перетворення, встановити таутомерні форми в твердому стані;
- дослідити антирадикальні властивості отриманих основ Шиффа і гідразонів госиполу в реакції з 2,2'-дифеніл-1-пікрилгідразилом (ДФПГ) та з катіон-радикалом 2,2'-азино-біс-(3-етилбензтіазолін-6-сульфо кислоти) (АБТС);
- виявити чинники, що впливають на реакційну здатність отриманих імінопохідних госиполу по відношенню до вільних радикалів;
- визначити біологічну активність досліджуваних сполук.

Об'єкт дослідження: фізико-хімічні властивості основ Шиффа і гідразонів госиполу.

Предмет дослідження: будова і таутомерні рівноваги основ Шиффа і гідразонів госиполу, реакції основ Шиффа і гідразонів госиполу з 2,2'-дифеніл-1-

пікрилгідразилом (ДФПГ) та катіон-радикалом 2,2'-азино-біс-(3-етилбензтіазолін-6-сульфокислоти) (АБТС).

Методи дослідження.

ІЧ та ЯМР спектроскопія – для ідентифікації сполук, встановлення будови нових сполук, дослідження таутомерних рівноваг.

УФ спектроскопія – для дослідження антирадикальних властивостей та проведення кінетичних вимірювань, дослідження таутомерних рівноваг.

Квантово-хімічні розрахунки – для моделювання структур і спектрів таутомерів імінопохідних госиполу, віднесення смуг поглинання в УФ та ІЧ спектрах і сигналів в ЯМР спектрах, визначення енергій гомолітичного та гетеролітичного розриву О–Н (N–H) зв'язків.

Наукова новизна одержаних результатів.

Отримано ряд нових імінопохідних госиполу, встановлено будову та виконане повне віднесення хімічних зсувів в ^1H і ^{13}C ЯМР спектрах отриманих сполук. Проведено віднесення смуг поглинання в УФ та ІЧ спектрах. Вперше досліджено таутомерні рівноваги отриманих імінопохідних госиполу в ряді органічних розчинників. Вперше здійснено кількісну оцінку антирадикальних властивостей отриманих сполук в реакції з ДФПГ і катіон-радикалом АБТС. Показано, що вивчені сполуки є більш ефективними антирадикальними агентами по відношенню до катіон-радикала АБТС ніж до ДФПГ.

Практичне значення одержаних результатів.

Дослідження структурних і фізико-хімічних властивостей похідних біологічно активних природних поліфенолів є підставою та необхідним «хімічним» кроком при дизайні ефективних лікарських засобів. Кількісні характеристики антирадикальних властивостей дозволяють прогнозувати біологічну активність вивчених сполук. Вперше отримані імінопохідні госиполу є біологічно активними сполуками, що продемонстрували спеціальні досліди на кореневій системі огірків. Спектроскопічні, структурні, кінетичні характеристики та характеристики антирадикальних властивостей є важливим довідковим матеріалом.

Особистий внесок автора.

Синтез імінопохідних госиполу. Проведення спектроскопічних досліджень, пошук та встановлення спектроструктурних кореляцій, дослідження реакцій синтезованих сполук з ДФПГ та катіон-радикалом АБТС. Обробка й інтерпретація отриманих результатів, огляд і аналіз літературних даних.

Співавтори опублікованих робіт за темою дисертації: А.М. Редько – науковий керівник, планування експерименту, спектроскопічні кореляції, обговорення результатів; В.І. Рибаченко – планування експерименту, обговорення результатів; К.Ю. Чотій – планування експерименту, обговорення результатів; Н.С. Ількевич – методичні поради, обговорення результатів; В.М. Аніщенко – квантово-хімічні розрахунки, інтерпретація спектрів; Р.А. Макарова – напівемпіричні розрахунки.

Апробація результатів дисертації.

Основні результати дисертації були представлені на наступних конференціях: V Міжнародна конференція «Сучасні проблеми фізичної хімії» (Донецьк, 2011 р.); VI Международная конференция по новым технологиям и приложениям современных физико-химических методов для изучения окружающей среды (Ростов-на-Дону, 2011 г.); Третья Международная научная конференция «Химическая термодинамика и кинетика» (Великий Новгород, 2013 г.); Четверта Міжнародна наукова конференція «Хімічна термодинаміка і кінетика» (Донецьк, 2014 р.); Пятая Международная научная конференция «Химическая термодинамика и кинетика» (Великий Новгород, 2015 г.); Дев'ята Українська наукова конференція студентів, аспірантів і молодих учених з міжнародною участю «Хімічні проблеми сьогодення» (Вінниця, 2016 р.); Десята Українська наукова конференція студентів, аспірантів і молодих учених з міжнародною участю «Хімічні проблеми сьогодення» (Вінниця, 2017 р.); Седьмая Международная научная конференция «Химическая термодинамика и кинетика» (Великий Новгород, 2017 г.); I Міжнародна (XI Українська) наукова конференція студентів, аспірантів і молодих учених «Хімічні проблеми сьогодення», (Вінниця,

2018 р.); Восьмая Международная научная конференция «Химическая термодинамика и кинетика» (Тверь, 2018 г.).

Публікації.

За матеріалами дисертації опубліковано 7 статей у фахових наукових журналах і 10 тез доповідей на наукових конференціях.

Структура та обсяг дисертації.

Дисертація складається з анотації, вступу, 3 розділів, висновків, списку використаних джерел (170 найменувань) і одного додатку. Загальний обсяг дисертації складає 156 сторінок, робота містить 12 таблиць і 49 рисунків.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Фізико-хімічні і біологічні властивості основ Шиффа і гідразонів госиполу

1.1.1. Будова, стереохімія і таутомерія молекули госиполу

Госипол – це жовтий пігмент і природний токсин, що міститься в різних частинах бавовни. Ця складна поліфенольна сполука, що є частиною системи захисту рослин від патогенних грибів і комах, була виявлена наприкінці ХІХ сторіччя Лонгмором і Маршлевські [1, 2].

Госипол складається з двох нафталінових фрагментів, з'єднаних між собою зв'язком між атомами С(2) і С(2') (рис 1.1). До цієї димерної нафталінової структури приєднані шість гідроксильних груп, дві з яких знаходяться при С(1) і С(1') атомах. Ці дві гідроксильні групи більш реакційно здатні по відношенню до вільних радикалів, ніж інші чотири, що знаходяться при С(6), С(6') і С(7), С(7') [3]. Дві альдегідні групи при С(8) і С(8') беруть участь в таутомерних перетвореннях госиполу [4]. І нарешті, чотири алкільних фрагменти – дві метильні та дві ізопропільні групи (при С(3), С(3') і С(5), С(5'), відповідно) розташовані на одній стороні планарних нафталінових фрагментів і визначають ліпофільну область госиполу, тоді як гідроксильні й альдегідні групи, з іншого боку нафталінових фрагментів, утворюють ліпофобну область молекули.

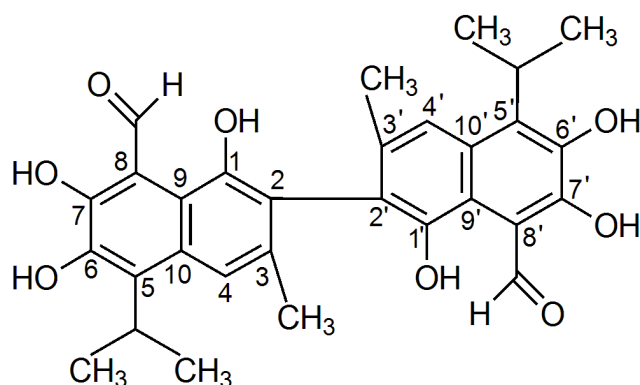


Рис. 1.1 Будова молекули госиполу (альдегід-альдегідна форма).

Взаємодія метильних груп при C(3) і C(3') і гідроксильних груп при C(1) і C(1') призводить до стеричного ускладнення обертання навколо C(2)–C(2') зв'язку. Це обумовлює появу двох енантіомерів госиполу (S(+)) і R(–)). Оскільки біологічні властивості енантіомерів госиполу відрізняються [5], їхня оптична стабільність має ключове значення для фармакологічних досліджень. Ярошевський зі співробітниками показали, що енергетичний бар'єр обертання навколо зв'язку C(2)–C(2') складає 50 ккал×моль⁻¹ [6].

Госипол може існувати в різних таутомерних формах: альдегід-альдегідній, кетол-кетольній і лактол-лактольній [7]. Крім того, можуть проявлятися змішані таутомерні форми в одній молекулі [8]. Це дуже урізноманітнює хімічні реакції госиполу. Показано, що в розчинах хлороформу, бензолу, ацетону, ацетонітрилу та діоксану госипол існує виключно в альдегід-альдегідній таутомерній формі [9–11]. Ця форма проявляється також і в кристалічному стані [12, 13]. В розчині ДМСО спостерігаються дві таутомерні форми госиполу: альдегід-альдегідна і лактол-лактольна [3]. Кетол-кетольна форма реалізується в лужних розчинах [3].

Як згадувалося раніше, гідроксильні й альдегідні групи, що розташовані на одній стороні молекули госиполу, створюють ліпофобну область. Таке розташування (діальдегідна форма) дозволяє формувати систему внутрішньомолекулярних водневих зв'язків [3].

Між карбонільним киснем альдегідної групи та гідроксильним воднем при C(7) існує сильний водневий зв'язок, тобто утворюється псевдо шестичленне кільце (копланарне з нафталіновим каркасом) [14]. Енергія цього водневого зв'язку оцінюється в 10,7 ккал×моль⁻¹ [15]. Вищезгадана копланарність, обумовлює утворення водневого зв'язку між альдегідним воднем і атомом кисню гідроксильної групи при C(1). Крім того, слабкий водневий зв'язок між гідроксильним воднем при C(6) і гідроксильним киснем при C(7) дозволяє утворитись псевдо п'ятичленному кільцю.

1.1.2. Одержання основ Шиффа і гідразонів госиполу

Раніше було вказано, що госипол виявляє певну токсичність і тому, його використання у фармації обмежено. Зручним способом одержання похідних госиполу з меншою токсичністю і різноманітними біологічними і фізико-хімічними властивостями є конденсація з первинними амінами і гідразинами [7, 16, 17].

У 1917 році Карруз встановив, що в результаті реакції госиполу з аніліном утворюється малорозчинна кристалічна речовина [18, 19]. Пізніше Кларк визначив стехіометрію реакції, в якій дві молекули аніліну реагують з однією молекулою госиполу [20, 21]. Цю сполуку назвали діаніліногосипол, а реакція госиполу з аніліном використовувалася для кількісного визначення госиполу в бавовняному борошні. Важливо зазначити, що ця реакція є загальною для всіх первинних амінів і вільних аміногруп, що містяться в білках [22]. Так, в процесі переробки бавовни використовується реакція між госиполом і вільними лізиновими аміногрупами, що містяться в білку бавовни. Це дозволяє утримувати госипол в бавовняному борошні під час виробництва олії [23, 24]. А вміст лізину, на частку якого припадає більшість вільних аміногруп в білку бавовни, знижується після реакції з госиполом з 83 % до 49 % [25, 26].

На сьогоднішній день створено вже кілька сотень різних основ Шиффа госиполу і ця кількість постійно зростає [3, 27-31].

На рис. 1.2 наведено схему одержання основ Шиффа госиполу [27].

В результаті реакції між первинними атомами азоту аміногруп і альдегідними групами госиполу (1) утворюється проміжний продукт (карбінол) (2). Подальша дегідратація призводить безпосередньо до утворення основи Шиффа, яка, в свою чергу, може існувати в розчині в діімінній формі (3) чи в діенамінній формі (4) або у вигляді суміші двох форм. Форма (5) реалізується у випадку реакції госиполу з аміаком [28].

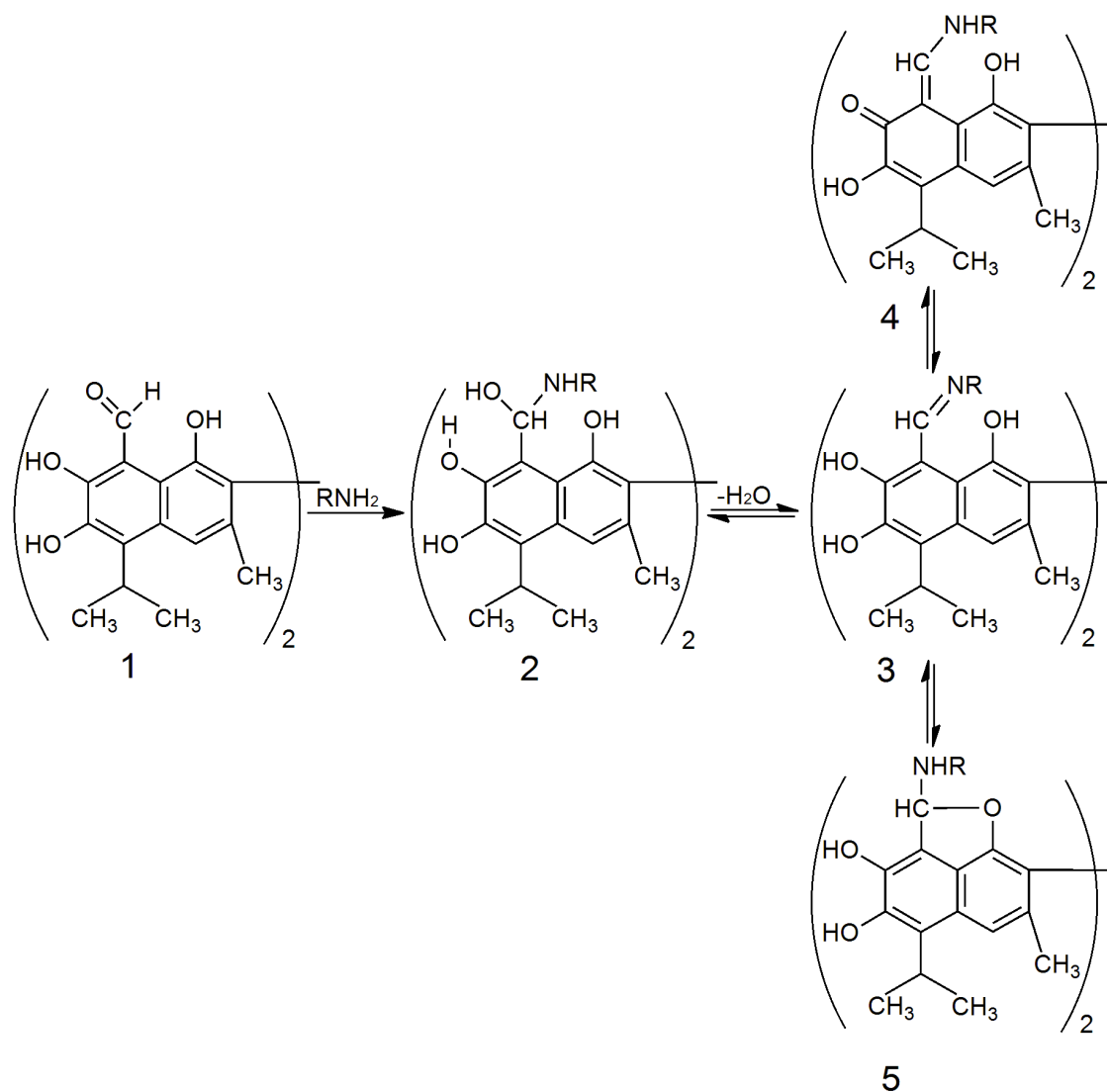


Рис. 1.2 Схема одержання основ Шиффа шляхом реакції аміну з госиполом.

Таліпов зі співробітниками використовували твердофазні реакції для одержання несиметричних основ Шиффа, в яких тільки одна альдегідна група госиполу піддавалась функціоналізації [29]. Госипол із дихлорметаном утворює тубулат – сполуку-включення каналної будови. При виході гостей молекул (дихлорметану) утворюються монокристали поліморфа госиполу, що були використані для одержання несиметричних основ Шиффа. Цей метод є доволі ефективним для одержання моноамінопохідних госиполу з леткими амінами. У випадку використання нелетких амінів він втрачає свою ефективність [29].

Також основи Шиффа госиполу можуть бути синтезовані внаслідок реакції апогосиполу (похідне госиполу у якого відсутні альдегідні групи) з N,N-

диметилформамідом (реакція Вільсмейера-Хаака) Цей спосіб застосовується для ізотопного позначення альдегідного атома вуглецю і використовується для кінетичних досліджень [30].

У порівнянні з величезною кількістю основ Шиффа госиполу, було синтезовано лише кілька десятків гідрозонів госиполу. Це обумовлено тим, що синтез цих сполук є досить складним, а кількість гідразинів, що можуть бути використані для синтезу досить обмежена [31]. Крім того, гідрозони госиполу виявляють низьку розчинність, що є перешкодою для біологічних досліджень.

1.1.3. Таутомерія і стереохімія основ Шиффа і гідрозонів госиполу

Основи Шиффа і гідрозони госиполу, як і госипол, можуть існувати в різних таутомерних формах: дієнамінній і діїмінній (рис. 1.3).

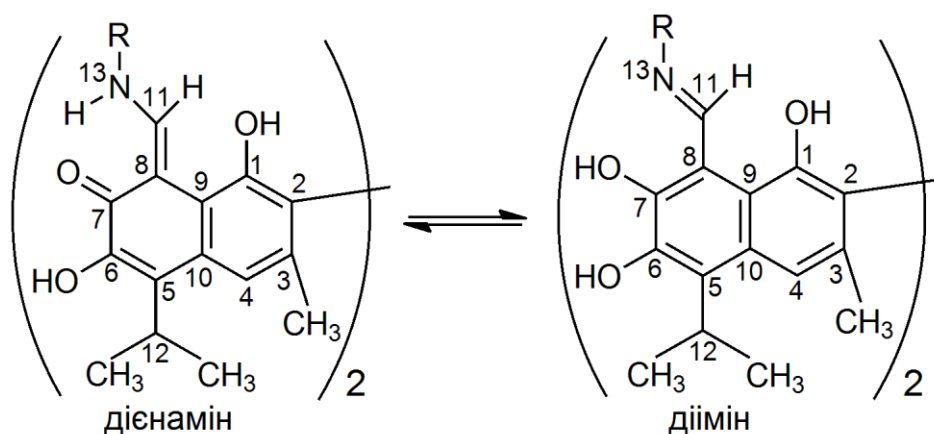


Рис. 1.3 Структура таутомерів і нумерація атомів імінопохідних госиполу.

Основи Шиффа госиполу та їхні комплекси з катіонами одно- та двовалентних металів існують переважно в дієнамінній таутомерній формі [27, 32-53], тоді як діїмінна таутомерна форма реалізується лише для протонуваних основ Шиффа госиполу [49, 50, 52-55]. Зет зі співробітниками встановили, що одним із факторів, що впливає на стабілізацію дієнамінної таутомерної форми основ Шиффа госиполу може бути водневий зв'язок між гідроксильною групою при С(6) і карбонільним киснем при С(7). Відзначається, що цей водневий зв'язок у основ Шиффа в дієнамінній формі міцніший ніж у госиполу і його гідрозонів [56].

У випадку гідразонів госиполу, таутомерна рівновага зміщується від дієнамінної до діїмінної форми [57-64]. Хоча і не існує видимих причин для зміни таутомерної рівноваги, імовірно, що додатковий атом азоту знижує основність відповідного імінного азоту, що сприяє зсуву рівноваги в бік діїмінної форми [3].

Імінопохідні госиполу, як і госипол, можуть існувати у вигляді двох енантіомерів. Слід відзначити, що основи Шиффа госиполу з естерами L-амінокислот, піддаються повільному процесу епімеризації під дією дифузного сонячного світла [36, 37]. Показано, що одна діастереомерна основа Шиффа госиполу може бути перетворена в рацемічну суміш. Фіш зі співробітниками встановили, що основи Шиффа госиполу з метиловим естером D- або L-фенілаланіну, під впливом сонячного світла протягом 9 годин перетворюються у суміш діастереомерів у співвідношенні 50:50. Потім ця рацемічна суміш може бути розділена хроматографічно [36, 65]. Ця властивість важлива з точки зору біологічної активності, оскільки відомо, що (–)-госипол виявляє вищу біологічну активність ніж (+)-госипол і рацемат [31].

Оскільки (–)-госипол у оптично чистому вигляді не може бути виділений із рослинної сировини, розроблено ряд методик розділення рацемічної суміші похідних госиполу (зокрема основ Шиффа) і подальшого одержання індивідуальних енантіомерів госиполу. Метод ВЕРХ зазвичай використовується для відокремлення та кількісного визначення діастереомерних основ Шиффа госиполу, синтезованих з різних хіральных амінів та рацемічного госиполу [66-69].

1.1.4. Спектроскопія основ Шиффа і гідразонів госиполу

1.1.4.1. ЯМР спектроскопія

Спектроскопічні методи дослідження основ Шиффа і гідразонів госиполу використовують не тільки для підтвердження їхньої будови, а й для дослідження тауомерних рівноваг.

У 1985 році Кай зі співробітниками за допомогою ^1H і ^{13}C ЯМР спектроскопії дослідили будову основи Шиффа госиполу з 1-метилфенетиламіном [70]. Було доведено, що ця сполука існує у дієнамінній тауомерній формі. Так у ^1H ЯМР спектрі (90 МГц, CDCl_3) спостерігались розширені сигнали при $\delta=5,38$ м.ч., $\delta=8,00$ м.ч. і $\delta=13,50$ м.ч. Після додавання D_2O ці сигнали зникали і в подальшому були віднесені до O–H і N–H груп. Крім того при $\delta=9,52$ м.ч. спостерігався дублет ($^3J=12,0$ Гц), який перетворювався на синглет після додавання D_2O . Цей сигнал було віднесено до протону C–H групи, що зв'язана з N–H групою. Це підтвердило наявність =CH–NH фрагменту, що є характерним для сполук у дієнамінній тауомерній формі. Значення константи спінової взаємодії (J) добре узгоджувалось із отриманими Брауном зі співробітниками значеннями констант спінової взаємодії =CH–NH–фрагментів основ Шиффа 2-гідрокси-1-нафтальдегіду [71]. Дієнамінна форма для основи Шиффа госиполу з 1-метилфенетиламіном додатково була підтверджена наявністю в ^{13}C ЯМР спектрі сигналу при $\delta=172,9$ м.ч. (C=O). Також дієнамінна тауомерна форма для деяких продуктів конденсації госиполу з амінокислотами була запропонована Біктеміровим зі співробітниками [72].

Пшибильські зі співробітниками за допомогою методів ^1H , ^{13}C і ^{15}N ЯМР спектроскопії дослідили будову основи Шиффа госиполу з (R)-тетрагідрофурфуриламином у хлороформі. Наявність дублету при $\delta=9,56$ м.ч. з константою спінової взаємодії ($^3J=11,3$ Гц) свідчила про реалізацію дієнамінної тауомерної форми для цієї сполуки. Додатково цей факт підтверджувався наявністю сигналу при $\delta=172,8$ м.ч. у ^{13}C ЯМР спектрі. Хімічний зсув атома азоту при $\delta=-239,1$ м.ч. є типовим для основ Шиффа госиполу в

діенамінній формі [40, 73, 74]. Квантово-хімічні розрахунки свідчать, що для основ Шиффа госиполу в діімінній таутомерній формі хімічний зсув атома азоту спостерігається приблизно при $\delta = -80$ м.ч. [40, 74].

Бейкар зі співробітниками за допомогою методів ^1H , і ^{13}C ЯМР спектроскопії дослідили ряд гідразонів госиполу [59-61]. Було відмічено наявність синглетів в області 14,5 м.ч. Ці сигнали було віднесено до протонів O–H груп. Їхнє знаходження в слабкому полі обумовлене наявністю внутрішньомолекулярного водневого зв'язку O–H \cdots N. Після додавання CD_3OD ці сигнали зникали. У ^{13}C ЯМР спектрах замість сигналів в області 170 м.ч. (що є характерними для основ Шиффа в діенамінній формі) з'являлися сигнали в області 150 м.ч. Таке положення сигналів в ^{13}C ЯМР спектрі характерне для C–OH атома вуглецю фенолів. В подальшому діімінна таутомерна форма була підтверджена для ряду гідразонів госиполу [59-61].

1.1.4.2. ІЧ спектроскопія

ІЧ спектроскопія також широко використовується для дослідження будови і таутомерних рівноваг основ Шиффа і гідразонів госиполу. Так в ІЧ спектрах основ Шиффа госиполу спостерігаються дві смуги поглинання в області 3500 см^{-1} і 3300 см^{-1} , віднесені до $\nu(\text{O–H})$ [38, 40]. Різниця в положенні цих смуг поглинання обумовлена силою внутрішньомолекулярних водневих зв'язків, які утворюють ці O–H групи. Смуга поглинання $\nu(\text{N–H})$ має низьку інтенсивність і знаходиться в області 3000 см^{-1} . Низька інтенсивність цієї смуги поглинання пояснюється існуванням сильного водневого зв'язку N–H \cdots O [75, 76].

Важливу інформацію стосовно будови основ Шиффа госиполу можна отримати проаналізувавши область $1700\text{--}1500\text{ см}^{-1}$. Так при $\sim 1620\text{ см}^{-1}$ спостерігається інтенсивна смуга поглинання. Ця смуга є сумішшю двох смуг, що відповідають $\nu(\text{C=C})$ і $\nu(\text{C=O})$ і вказує на реалізацію діенамінної таутомерної форми [38, 40].

На відміну від основ Шиффа в діенамінній таутомерній формі, в ІЧ спектрах гідразонів в діімінній формі в області 3000 см^{-1} спостерігається інтенсивна

розширена смуга поглинання [59-62]. Ця смуга віднесена до $\nu(\text{O-H})$ додаткової О–Н групи, що з'являється при переході до діїмінної форми. Її положення в області низьких частот обумовлене наявністю сильного внутрішньомолекулярного водневого зв'язку з атомом азоту $\text{O-H}\cdots\text{N}$. В області 1600 см^{-1} спостерігається інтенсивна смуга поглинання, що є сумішшю смуг $\nu(\text{C=N})$, $\nu(\text{C=C})$ і $\delta(\text{N-H})$ [63, 64].

1.1.4.3. УФ спектроскопія

УФ спектроскопія не часто застосовується для дослідження будови госиполу і його імінопохідних. Однак, УФ спектри можуть доповнювати дані отримані завдяки ЯМР та ІЧ спектрам. Так у спектрах повністю копланарних нафтільних фрагментів є смуга поглинання при $\lambda=254\text{ нм}$, а у спектрах нафтільних фрагментів, що знаходяться під кутом 90° один по відношенню до одного – смуга при $\lambda=226\text{ нм}$. У спектрі госиполу є смуга поглинання при $\lambda=237\text{ нм}$ ($\epsilon=103600\text{ л}\times\text{моль}^{-1}\times\text{см}^{-1}$) [77-79]. Враховуючи її проміжне положення, автори зробили висновки про некопланарне положення нафтальінових фрагментів, причому кут між ними менше 90° . Смуга при $\lambda=366\text{ нм}$ ($\epsilon=24000\text{ л}\times\text{моль}^{-1}\times\text{см}^{-1}$) у спектрі госиполу приписується переходу з переносом заряду від нафтільного алкілзаміщеного фрагменту на карбонільну групу [77-79]. Такий висновок було зроблено тому, що зміна дипольного моменту молекули при збудженні (було оцінене за зсувом при зміні розчинника з неполярного на полярний) приблизно дорівнює перехідному дипольному моменту, що є критерієм віднесення смуги поглинання до переносу заряду. Оскільки електронний перехід з переносом заряду можливий тільки при копланарному розташуванні замісників, автори роблять висновок, що алкільні і карбонільні замісники розташовані у площині нафтільних фрагментів [77-79].

Найбільш характерні смуги поглинання основ Шиффа госиполу в дієнамінній таутомерній формі знаходяться в області $385\text{--}480\text{ нм}$. У випадку гідразонів госиполу в діїмінній формі, найбільш характерні смуги поглинання знаходяться в області $385\text{--}395\text{ нм}$ [80-83].

1.1.4.4. Мас-спектроскопія

Мас-спектроскопія активно використовується для дослідження основ Шиффа госиполу. Так у 1984 році Матлін зі співробітниками дослідили основи Шиффа госиполу з фенілетиламіном і фенілгліцинетил естером за допомогою мас-спектроскопії [84]. Для іонізації було використано метод польової десорбції. У мас-спектрі основи Шиффа з фенілетиламіном спостерігався інтенсивний пік молекулярного іону при m/z 724, а також фрагменти при m/z 603 і m/z 482, що свідчило про послідовну втрату аміну та утворення ангідрогосиполу. У спектрі основи Шиффа з фенілгліцинетил естером спостерігалися піки псевдо-молекулярних іонів при m/z 842 ($M+2H$)⁺ і m/z 843 ($M+3H$)⁺ та інтенсивні піки іонів при m/z 662, 661 і 482, обумовлені втратою імінного фрагменту.

У 1990 році за допомогою методу мас-спектроскопії (спосіб іонізації: бомбардування швидкими атомами) було досліджено основи Шиффа госиполу з 6-амінохіноліном і флуоресцеїнаміном [43]. На відміну від методу польової десорбції, метод бомбардування швидкими атомами дозволив отримати більший набір фрагментів. У мас-спектрі основи Шиффа з 6-амінохіноліном не спостерігалось піків в області молекулярних іонів, але було відмічено появу інтенсивних піків іонів при m/z 645 ($M+3H-A$), m/z 631 ($M+3H-B$), m/z 629 ($M+1H-B$), m/z 627 ($M-1H-B$), m/z 607 ($M-8H-C$) і m/z 145 ($B+3H$). Це свідчило про втрату одного імінного фрагменту біс-похідного (рис. 1.4 А).

У мас-спектрі основи Шиффа госиполу з флуоресцеїнаміном спостерігались піки псевдо-молекулярних іонів при m/z 1200 ($M+Na+H$), m/z 1199 ($M+Na$), m/z 1180 ($M+4H$), m/z 1179 ($M+3H$), m/z 1178 ($M+2H$) і m/z 1177 ($M+1H$), а також піки фрагментованих іонів при m/z 848 ($M+3H-A$), m/z 846 ($M+1H-A$), m/z 832 ($M+1H-B$), m/z 831 ($M-B$), m/z 830 ($M-1H-B$), m/z 822 ($M+4H-C$), m/z 820 ($M+2H-C$), m/z 818 ($M-C$), m/z 810 ($M-8H-C$) та іону при m/z 348 ($B+3H$), що також підтверджує втрату одного імінного фрагменту біс-похідного (рис. 1.4 В) [43].

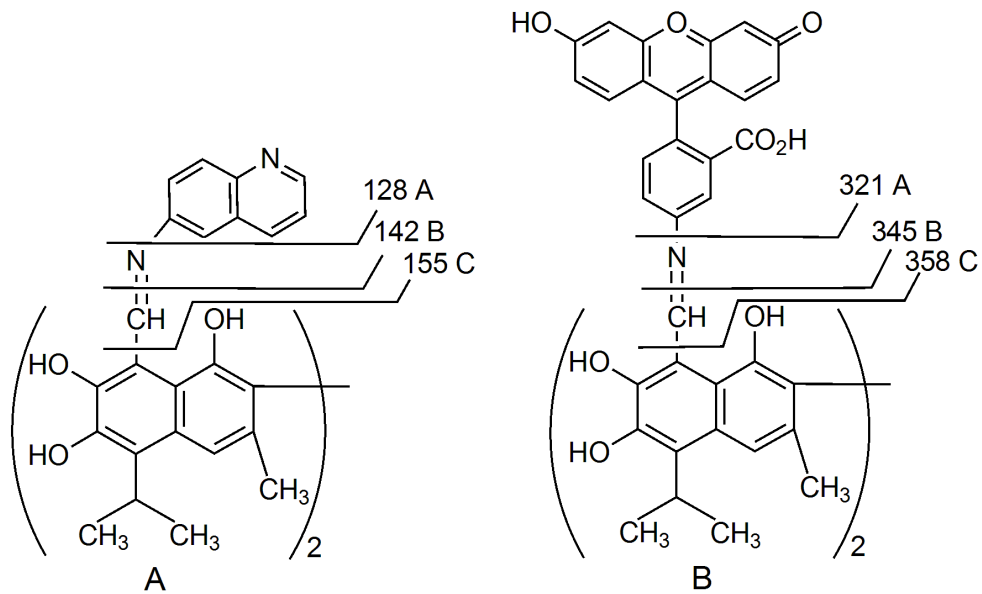


Рис. 1.4 Можлива фрагментація основ Шиффа госиполу з 6-амінохіноліном (А) і флуоресцеїнаміном (В) [43].

Жанг зі співробітниками запропонували загальну схему фрагментації основ Шиффа госиполу в діенамінній таутомерній формі в умовах електроспрей іонізації [85] (рис. 1.5).

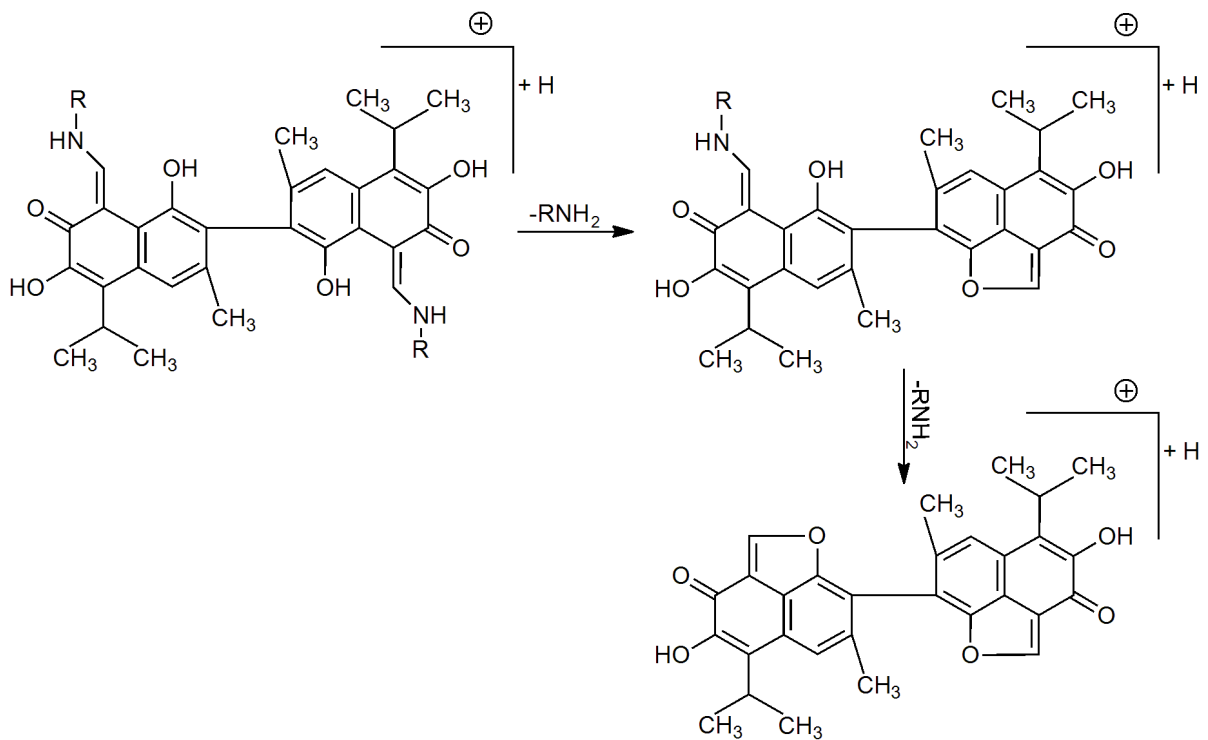


Рис. 1.5 Загальна схема фрагментації основ Шиффа госиполу.

Пшибильські зі співробітниками дослідили комплекси основ Шиффа госиполу з катіонами одно- та двовалентних металів за допомогою мас-спектроскопії, використовуючи електроспрей іонізацію [48, 52, 54, 86]. Дані отримані з мас-спектрів комплексів основи Шиффа госиполу з 2-(амінометил)-18-краун-6 і катіонів H^+ , Li^+ , Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ свідчать, що Li^+ і Na^+ , можуть утворювати комплекси з цією основою Шиффа у співвідношенні 2:1 або 4:1. Катіони H^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ можуть утворювати комплекси тільки у співвідношенні 2:1. Окрім піків, що свідчать про утворення комплексів з катіонами, в спектрі спостерігаються піки, які були віднесені до амінометил краун фрагменту [52].

Основа Шиффа госиполу з 5-гідрокси-3-оксапентиламіном з катіонами Ca^{2+} , Ba^{2+} і Pb^{2+} утворє комплекси 1:1 [86]. Автори дійшли такого висновку завдяки наявності піків у мас-спектрах при m/z 366, m/z 415 і m/z 450, відповідно. Встановлено, що комплексоутворююча здатність катіона Ca^{2+} більше ніж Ba^{2+} і Pb^{2+} .

1.1.4.5. Рентгеноструктурний аналіз

У 2003 році Бекетов зі співробітниками дослідили структуру діаніліногосиполу за допомогою рентгенівської спектроскопії [87]. Досліджено три поліморфні форми діаніліногосиполу, що було одержано з ацетону при різній температурі кристалізації. У першому і другому поліморфах молекули діаніліногосиполу утворюють димери через дві симетричні пари водневих зв'язків $C(1)O-H\cdots O-C(7)$ та $C(6)O-H\cdots O-C(1)$. Але структури їхніх кристалів відрізняються способом упаковки шарів, що складаються з димерів молекул діаніліногосиполу. У структурі першого поліморфу димери сусідніх шарів розташовані один над одним, тоді як димери у другому поліморфі розташовані між областями сусідніх шарів, в яких водневі зв'язки поєднують димери. Третій поліморф кристалізується в просторовій групі $C2/c$ з половиною молекул в асиметричній формі (молекули А і В). Молекули А займають особливі позиції, а молекули В займають загальні позиції. Молекулі А відповідає симетрія $C2$ і вона утворює водневі зв'язки з двома молекулами В. Внаслідок цього з молекул

діаніліногосиполу однієї хіральності утворюється тример. Показано, що у кристалічному стані молекула діаніліногосиполу існує у дієнамінній таутомерній формі. Дієдральні кути між нафтільними фрагментами для різних поліморфів діаніліногосиполу варіюються від $75,3^\circ$ до $94,8^\circ$. Кільця аніліну утворюють різні кути з відповідними нафтільними фрагментами (від $5,3^\circ$ до $48,9^\circ$). Орієнтація ізопропільних груп у всіх поліморфах однакова.

Пшебильські зі співробітниками дослідили структуру основи Шиффа госиполу з 3,6,9-триоксодециламіном [47]. Підтверджена планарність нафтільних фрагментів з незначним відхиленням гідроксильних груп і атома вуглецю =СН–NH фрагменту. Довжина центрального зв'язку між нафтільними фрагментами складає $1,485 \text{ \AA}$. Дієдральний кут між площинами нафтільних фрагментів складає $86,54^\circ$.

1.1.4.6. ЕПР спектроскопія

В цілому ЕПР спектроскопія досить не часто застосовується для досліджень госиполу і його імінопохідних. Але, виходячи з того, що госипол і його похідні є поліфеноліями, які підлягають окисненню, цей метод знайшов застосування при дослідженні продуктів окиснення госиполу. Тищенко зі співробітниками за допомогою ЕПР спектроскопії дослідили радикальні продукти окиснення госиполу під дією кисню повітря [88]. Було встановлено механізм формування і структури радикалів, що виникають внаслідок окиснення. Так у спектрі окисненого зразку госиполу спостерігалось розщеплення резонансної лінії в дублет з константою надтонкої взаємодії $1,15 \text{ мТл}$ і g -фактором $2,0030$, що частково перекривається з синглетом (g -фактор $2,0032$). На рис. 1.6 наведено ЕПР спектр окисненого госиполу при різних рівнях потужності.



Рис. 1.6 ЕПР спектр окисненого госиполу при потужності 5 мкВт (А) і 20 мкВт (Б).

Співвідношення інтенсивності дублета і синглету коливалась від зразка до зразка. Крім того, спостерігалась повна оборотність температурного ефекту для зразків окисненого госиполу, а розчинник суттєво впливав на форму сигналів в ЕПР спектрі. Всі ці фактори є характерними для стабільного бірадикалу [89, 90]. Незначна різниця g -факторів синглету і дублету є типовою для бірадикальних пар і відповідних їм монорадикалів. Очевидно, первинні фенокисьні радикали вихідного госиполу окислюються далі до діаманітного діангідрогосиполу. В подальшому була запропонована схема окиснення діангідрогосиполу (рис. 1.7).

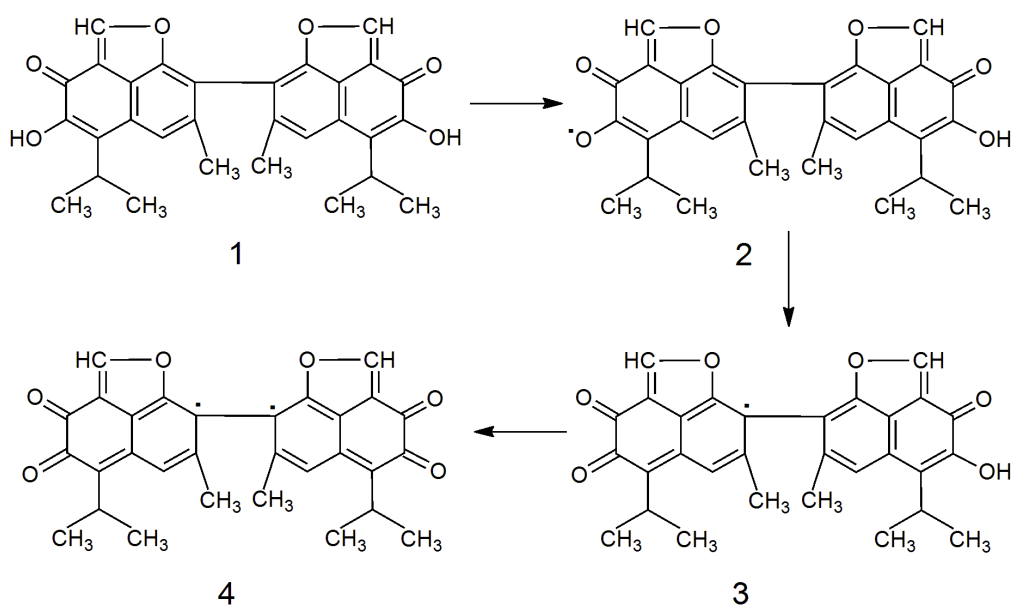


Рис. 1.7 Схема окиснення діангідрогосиполу.

На першому етапі окиснення діангідрогосиполу (1) утворюється фенокиський монорадикал (2), що стабілізується завдяки швидкому переходу у хіноїдну форму (3). Окиснення сполуки (3) призводить до утворення бірадикалу діоксодіангідрогосиполу (4). Формування центрального подвійного зв'язку неспареними електронами в бірадикалі (4) потребує перекриття орбіталей, осі яких ортогональні до площин нафталінових фрагментів. Нафталінові фрагменти не є копланарними, тому орбіталі знаходяться в різних площинах і не перекриваються. В свою чергу, наявність стеричних перешкод ускладнює обертання навколо центрального зв'язку у сполуки (4). Це гарантує, що тривалість життя бірадикалу буде досить довгою як у твердому стані так і в розчинах [88].

1.1.5. Біологічна активність основ Шиффа і гідразонів госиполу

Основи Шиффа і гідразони госиполу, як і госипол, виявляють різноманітну біологічну активність [91-96]. Так, значна увага приділяється дослідженню протипухлинних властивостей основ Шиффа госиполу [31]. Грандвотер зі співробітниками дослідили цитотоксичність біс- і монозаміщених основ Шиффа з L-фенілметил естером по відношенню до клітин меланому (SK-mel-19), пухлини шийки матки (Sihas), пухлини легенів (H69), а також лейкемії (K562) [97]. Порівняння активності основ Шиффа і госиполу свідчить, що біс-основи Шиффа є найменш активними, тоді як, активність монозаміщених основ Шиффа практично така сама, як у найбільш біологічно активного енантіомера госиполу.

Дао зі співробітниками дослідили біологічну активність ряду аліфатичних і ароматичних основ Шиффа госиполу проти клітин епідермоїдної карциноми рота (KB) [27] і дійшли висновку, що протипухлинна активність цих сполук залежить від фенольних атомів кисню і структури замісника. При подовженні просторового алкільного ланцюга імінного фрагмента дія проти лінії клітин KB зменшується. А найбільш ефективними є основи Шиффа, що містять в якості замісника етил та ізопропіл. Крім того, було показано, що (+)-енантіомер основи Шиффа госиполу з етиламином виявляє меншу активність проти лінії клітин MCF-7/WT, ніж його (-

)-енантіомер [98]. Протилежна тенденція спостерігалась щодо біологічної активності енантіомерів цієї сполуки проти лінії клітин MCF-7/ADR.

Лу зі співробітниками дослідили низку основ Шиффа госиполу і довели, що найбільшу протипухлинну активність виявляють основи Шиффа з гідрофобними лінійними естерами [58]. Показано, що гідрофобна група відіграє важливу роль при взаємодії з цільовими антиапоптотичними білками [99].

Ряд основ Шиффа госиполу, що містять алкільні ланцюги різної довжини, були досліджені як потенційні протималарійні засоби по відношенню до двох стійких до хлорхініну штамів – бразильського (PFB) і колумбійського (FCB1) штамів [100]. Показано, що основи Шиффа з етиламином, н-пропіламином та ізопропіламином виявляють більшу активність ніж госипол проти обох штамів. Основи Шиффа з бутиламином або більш довгим замісником виявляють дещо менший ефект проти обох штамів.

Додоу зі співробітниками дослідили антипроліферативну і антиоксидантну дію атропоізомерів біс- основ Шиффа госиполу з (S)- і (R)-естерами амінокислот і показали, що ці похідні виявляють активність проти псоріазу [101]. На основі тесту з тіобарбітуровою кислотою біс- основа Шиффа госиполу з етиловим естером (S)-тирозину є дуже потужним інгібітором залізо/аскорбат залежного перекисного окиснення ліпідів у мозку. Ця сполука виявляє навіть більшу активність ніж (-)-госипол. Однак, інгібування проліферації лінії клітин HPV-16 виявилось дещо меншим ніж у випадку (-)-госиполу.

Роєр зі співробітниками встановили, що імінолактон госиполу (GIL) виявляє активність проти вірусу типу ВІЛ-1 [102]. Причому, ця сполука виявляє меншу токсичність ніж госипол. Дія GIL проти вірусів може бути обумовлена перешкоджанням взаємодії вірусної оболонки з клітиною-хазяїном.

Резєпов зі співробітниками провели порівняльний аналіз впливу ряду основ Шиффа госиполу з ароматичними замісниками на активність інтерферону [46, 80]. Встановлено, що основи Шиффа з аніліном та іншими простими ароматичними амінами практично не виявляють ніякої активності. Тоді як основи Шиффа, що

містять сульфатні групи та гетероциклічні фрагменти демонструють інтерфероніндукуючу активність.

Жанг зі співробітниками дослідили протівірусну активність ряду основ Шиффа госиполу з амінокислотами [103]. Показано, що всі досліджені сполуки виявляють таку ж або навіть більшу протівірусну активність ніж відомий лікарський засіб рибавірін. Автори роблять висновок, що карбоксильна група амінокислот суттєво підвищує протівірусну дію імінопохідних госиполу. Також було показано, що зі збільшенням вуглецевого ланцюга амінокислот, протівірусна активність основ Шиффа госиполу збільшується.

Дослідження контрацептивної дії ряду гідразонів госиполу на щурах свідчать, що ці сполуки на відміну від госиполу не інгібують сперматогенез [16, 104].

Ауельбеков зі співробітниками продемонстрували протівірусну активність деяких гідразонів госиполу з похідними N-амінопіридину [105].

Хайтбієв зі співробітниками показали, що гідразон госиполу з пентафторфенілгідрaziном є неспецифічним інгібітором ацетилхолінестерази і бутирилхолінестерази [106].

1.2. Антирадикальні властивості природних поліфенолів

1.2.1. Реакції природних поліфенолів з радикаломДФПГ

Постійно зростаючий інтерес до антиоксидантів обумовлює паралельне збільшення кількості методів оцінки ефективності дії цих речовин. Один із таких методів ґрунтується на використанні стабільного азотцентрованого радикала 2,2'-дифеніл-1-пікрілгідразилу (ДФПГ) [107-109].

ДФПГ існує у вигляді стабільного вільного радикала внаслідок делокалізації неспареного електрона по всій молекулі. Делокалізація сприяє виникненню фіолетового забарвлення, що характеризується смугою поглинання приблизно при $\lambda=520$ нм. Дані ЕПР спектрів ДФПГ свідчать, що спінова густина

на обох атомах азоту гідразинового фрагменту досить велика і приблизно однакова. Вплив розчинника на спіновий розподіл дуже обмежений [109-111].

На рис. 1.8 наведено резонансні структури ДФПГ.

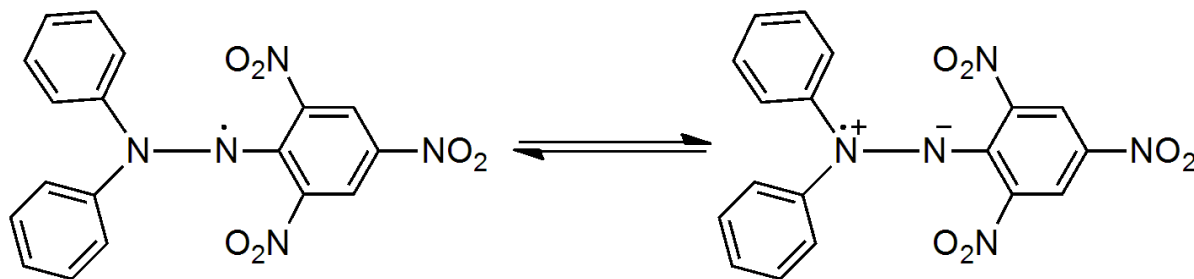


Рис. 1.8 Резонансні структури ДФПГ.

При додаванні до розчину ДФПГ сполуки, що може виступати донором атома водню, фіолетовий колір поступово зникає, а розчин набуває блідо-жовтого забарвлення (обумовленого наявністю пікрильної групи) внаслідок утворення гідразину ДФПГ-Н. На рис. 1.9 наведено схему відновлення ДФПГ до ДФПГ-Н.

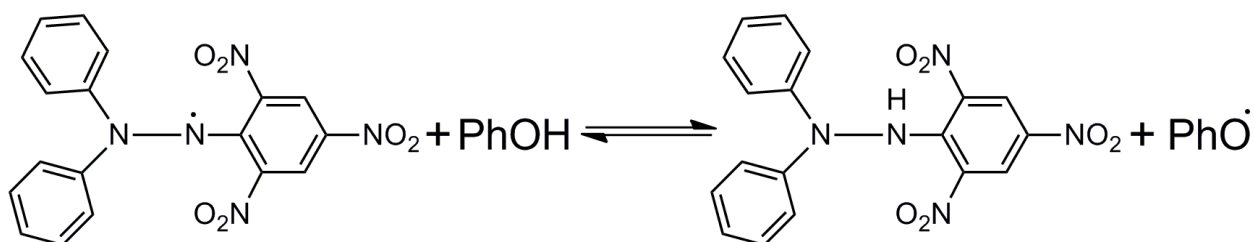


Рис. 1.9 Схема відновлення ДФПГ.

ДФПГ погано розчиняється в неполярних розчинниках, тоді як в полярних органічних розчинниках він досить добре розчинний. У воді ДФПГ практично нерозчинний. Це ускладнює вивчення впливу води, як розчинника, на хімію радикала. Для вирішення цієї проблеми було застосовано β -циклодекстрин і одержано комплекс включення з ДФПГ [112, 113].

Для інтерпретації результатів реакції антиоксиданту з ДФПГ досить часто використовують параметр EC_{50} , який визначається, як концентрація антиоксиданту, що необхідна для зменшення концентрації радикала на 50 %. Цей

параметр вперше запропонував використовувати Бранд-Вільямс зі співробітниками [114]. В подальшому величини EC_{50} досить часто застосовували для представлення результатів реакцій антиоксидантів з ДФПГ. Параметр EC_{50} має певні недоліки: (1) залежність величини EC_{50} від часу реакції; (2) EC_{50} не є кінетичним параметром; (3) механізм взаємодії антиоксиданту з ДФПГ та пероксидним радикалом може відрізнятись [109, 115]. Та не дивлячись на це, параметр EC_{50} є досить інформативним і дозволяє швидко оцінити антирадикальні властивості сполук.

Протягом останніх 20 років ДФПГ використовувався не тільки для дослідження загальних антирадикальних властивостей ряду сполук, а і для вивчення впливу розчинника на швидкість реакції з антиоксидантами та дослідження механізмів реакції антиоксидантів із вільними радикалами [116, 117].

1.2.2. Реакції природних поліфенолів з катіон-радикалом АБТС

Ще одним розповсюдженим методом дослідження антирадикальних властивостей є метод, що передбачає використання катіон-радикала АБТС [118-121]. Генерація катіон-радикала 2,2'-азино-біс-(3-етилбензтіазолін-6-сульфоїкислоти) створює основу для спектроскопічного вимірювання антирадикальної дії розчинів чистих речовин, екстрактів та різних водних сумішей. Оригінальний метод із застосуванням АБТС полягає в активації метміоглобіну перекисом водню і отриманні ферилміоглобіну, який, в свою чергу, перетворює АБТС на катіон-радикал [122]. Такий підхід був підданий критиці через те, що антиоксиданти з високою реакційною здатністю можуть робити внесок у відновлення ферилміоглобінового радикала. Більш зручним методом аналізу є технологія знебарвлення, оскільки радикал генерується у стабільній формі до реакції з антиоксидантами.

Вдосконалена методика генерації катіон-радикала АБТС передбачає безпосереднє одержання блакитно-зеленого розчину $ABTS^{•+}$ внаслідок реакції з персульфатом калію [118].

В УФ спектрі розчин АБТС^{•+} має наступні смуги поглинання: при $\lambda=415$ нм ($\epsilon=36000$ л \times моль⁻¹ \times см⁻¹); при $\lambda=645$ нм; при $\lambda=734$ нм ($\epsilon=16000$ л \times моль⁻¹ \times см⁻¹) і при $\lambda=815$ нм. Смуги поглинання при $\lambda=415$ нм і $\lambda=734$ нм найчастіше використовуються для контролю знебарвлення катіон-радикала АБТС у присутності антиоксиданту.

Добре відомо, що катіон-радикали являють собою проміжну стадію окиснення в окисно-відновному циклі азинів, і в результаті подальшого окиснення та відриву другого електрона можуть бути отримані відповідні дікатіони [123]. Так, було встановлено, що АБТС підлягає двостадійному процесу окиснення (незалежному від рН середовища в межах 2-11). Редокс потенціали АБТС^{•+} і АБТС²⁺ оцінюються в 0,68 V і 1,09 V, відповідно. На рис. 1.10 наведено схему утворення катіон-радикала і дікатіона з АБТС.

Для інтерпретації результатів вимірювання антирадикальної дії сполук в реакції з катіон-радикалом АБТС, зазвичай використовують параметри VCEAC (vitamin C equivalent antioxidant capacity) і TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity): ступінь відновлення катіон-радикала АБТС визначається, як функція концентрації та часу і розраховується відносно антирадикальної дії тролокса (або аскорбінової кислоти) як стандарту за тих же умов [121, 124-126]. Параметри EC₅₀ та стехіометричний коефіцієнт реакції використовуються не так часто, як у випадку ДФПГ.

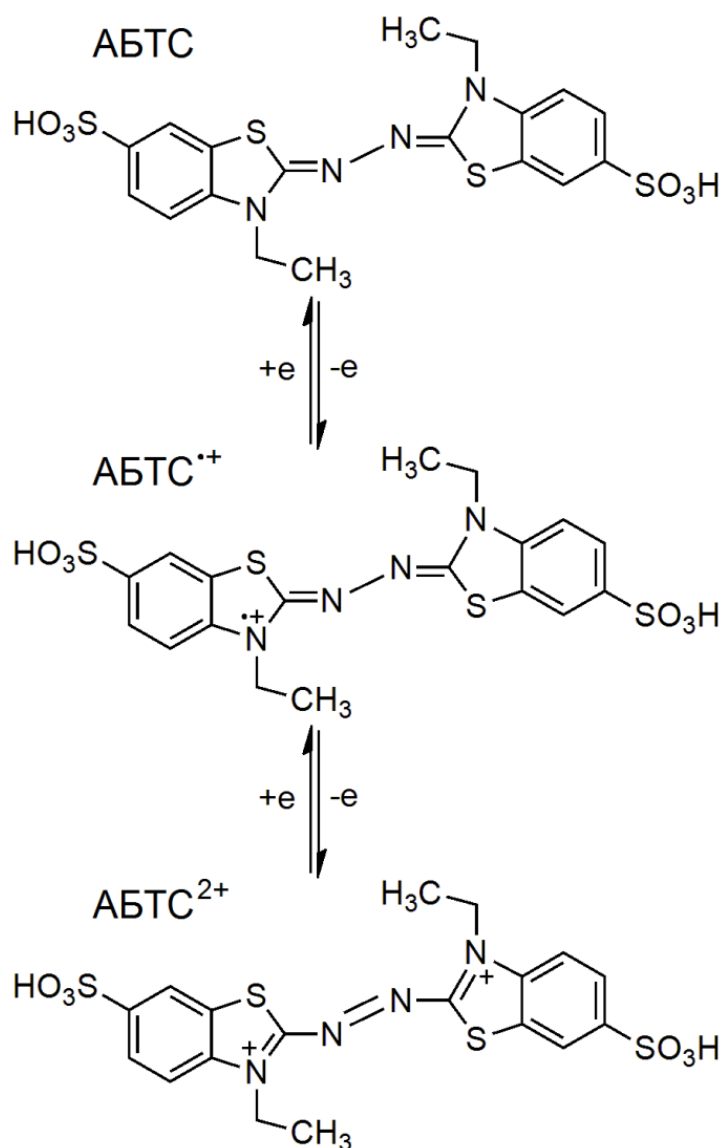


Рис. 1.10 Схема утворення катіон-радикала і дикатіона з АБТС.

Беззаперечною перевагою використання методу катіон-радикала АБТС є те, що об'єктами дослідження можуть бути як гідрофільні так і ліпофільні антиоксиданти, індивідуальні сполуки чи екстракти [127, 128].

1.2.3. Механізми реакцій природних поліфенолів із вільними радикалами

Вільні радикали можуть реагувати з поліфенолами за різними механізмами. Досить детальне вивчення механізмів взаємодії фенолів із вільними радикалами проведено на прикладі ДФПГ. У загальному вигляді реакцію антиоксиданту з ДФПГ можна записати наступним чином (1.1):



Реакція (1.1) перебігає порівняно швидко лише тоді, коли виконуються наступні умови: (1) зв'язок А–Н відносно слабкий (низька ентальпія дисоціації зв'язку); (2) радикал А· є досить стабільним і має низьку реакційну здатність; (3) А являє собою гетероатом (О, N або S) [109]. Так, вуглеводні дуже рідко здатні реагувати з ДФПГ. Наприклад, 1,4-циклогексادیєн вступає в реакцію з ДФПГ у CCl_4 при $T=298 \text{ K}$. При цьому константа швидкості такої реакції становить $\sim 0,00025 \text{ л}\times\text{моль}^{-1}\times\text{с}^{-1}$. З іншого боку токоферол реагує з ДФПГ з константою швидкості $3,6\times 10^3 \text{ л}\times\text{моль}^{-1}\times\text{с}^{-1}$ [129, 130].

Причини того, що ДФПГ швидко реагує з фенольними О–Н групами і повільно з С–Н групами наступні: (1) наявність водневого зв'язку між гетероатомом, що є донором атома водню і радикалом (через одну з його неподілених електронних пар) у передреакційному комплексі; (2) різні механізми переносу атома водню від О–Н або N–H груп та С–Н групи [131].

Раніше вважалося (і все ще вважається для С–Н груп), що Н-атом (протон+валентний електрон) просто переходить з А–Н до радикала. Зазвичай цей механізм називають НАТ (hydrogen atom transfer). Але механізм переносу атома водню від одного гетероатома до іншого (наприклад, $\text{PhO}-\text{H}/\cdot\text{OOR}$) більш складний [132]. Формування водневого зв'язку в передреакційному комплексі, що включає $\text{PhO}-\text{H}$ і неподілену пару електронів радикала $\text{ROO}\cdot$ ($\text{PhO}-\text{H}\cdots\dot{\text{O}}\text{OR}$), призводить до своєрідного обміну атома водню (рис. 1.11). У цьому комплексі, по суті, тільки протон рухається до радикала. Рух протона стимулює одночасне перенесення електрона з однієї неподіленої пари гетероатома ($\text{Ph}\ddot{\text{O}}\text{H}$) до $\text{ROO}\cdot$. В результаті виходить комплекс $\text{Ph}\dot{\text{O}}:\cdots\text{H}-\ddot{\text{O}}\text{OR}$. Цей механізм відомий як РСЕТ (proton-coupled electron transfer), тому що відбувається узгоджене (одностадійне) перенесення електрона (ЕТ) і протона (РТ) від донора (фенолу) до акцептора (радикала) без утворення іонів [109, 132, 133].

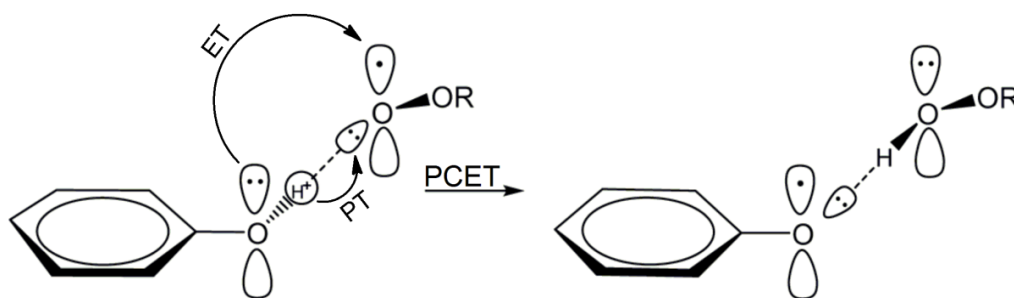


Рис. 1.11 Схема механізму PCET реакції фенола з пероксидним радикалом.

Процес переносу атома водню на радикал за участю лише одного гетероатома (або взагалі без гетероатомів) відбувається за НАТ механізмом, причому протон переходить на радикал одразу зі своїм зв'язуючим електроном.

Перенесення Н-атома через PCET механізм відбувається швидше, ніж через НАТ механізм, тому що водневий зв'язок зменшує енергетичний бар'єр реакції. Як показали розрахунки, механізм PCET енергетично вигідний для обміну атома водню між гетероатомами [131]. Механізми НАТ і PCET реалізуються переважно в неполярних апротонних розчинниках.

Полярні розчинники (PS) сильно впливають на швидкість і механізми реакції поліфенолів із вільними радикалами. Кінетичний ефект розчинника (KSE) досить детально досліджений Інгольдом зі співробітниками на прикладі реакції фенолів зДФПГ протягом останніх 20 років [116, 134]. Феноли це важливі антиоксиданти, що захищають клітинні мембрани від перекисного окиснення, зменшуючи кількість пероксидних радикалів в мембранах; вони також знешкоджують радикали в цитоплазмі, запобігаючи ушкодженню клітин [135]. Обидва ці процеси відбуваються під впливом кінетичних ефектів розчинника.

Сутність кінетичного ефекту розчинника полягає в наступному: феноли утворюють водневі зв'язки з полярним розчинником (PS), (PhOH...PS). Враховуючи наявність двох об'ємних гетероатомів навколо, «рухливий» Н-атом стає недоступним. Через такі стеричні перешкоди радикал не може взаємодіяти з цими О-Н групами за механізмом PCET і реагує лише з вільними фенольними гідроксильними групами (рис. 1.12).

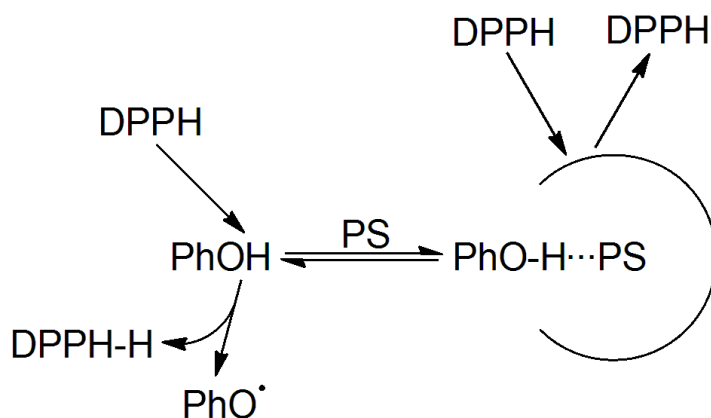


Рис. 1.12 Схема впливу полярного розчинника на реакцію з ДФПГ (DPPH).

Оскільки концентрація вільних гідроксильних груп зменшується, зі збільшенням сили водневих зв'язків, швидкість реакції зменшується пропорційно силі водневих зв'язків [109]. Ця закономірність спостерігається в переважній більшості реакцій поліфенолів з ДФПГ.

Незважаючи на це, зміна механізму реакції з одностадійного PCET на послідовний перенос протона та електрона (або навпаки) може мати значний вплив на швидкість реакції, оскільки ці механізми дозволяють обходити стеричні перешкоди, що утворюються внаслідок дії полярних розчинників. Сольватація PhO^- та PhOH^+ , утворених початковим переносом протона або переносом електрона, може зробити послідовний механізм конкурентоспроможним з PCET (рис. 1.13).

Ці послідовні механізми зазвичай створюють «аномальні» KSE. У цьому контексті Литвинієнко та Інгольд [136, 137], а також Фоті зі співробітниками [117] незалежно один від одного встановили, що в іонізуючих розчинниках (метанол, етанол, вода та їхні суміші) феноли реагують з ДФПГ по суті через перенос електрона з попередньо утворених аніонів. Цей механізм отримав назву SPLET (sequential proton loss electron transfer). Швидкість SPLET процесу визначається концентрацією фенолят іону. Цей механізм було запропоновано тому, що: (1) KSE полярних протонних розчинників був аномальний, а константи швидкості взаємодії фенолів з ДФПГ були вищими ніж передбачалося, враховуючи здатність до утворення водневих зв'язків такими розчинниками; (2) константи швидкості

зменшувались, або збільшувались після додавання кислот або основ, відповідно; (3) метилові естери коричних кислот виявились в 3-5 разів більш реакційноздатними, ніж самі кислоти. Нижча реакційна здатність коричних кислот у порівнянні з їхніми естерами дозволила зробити висновок, що вільні карбоксильні групи впливають на реакційну здатність по відношенню до ДФПГ. Це відбувається в наслідок того, що іонізація карбоксильних груп зменшує концентрацію фенолят аніонів у реакційній суміші. А отже, швидкість реакції за механізмом SPLET знижується.

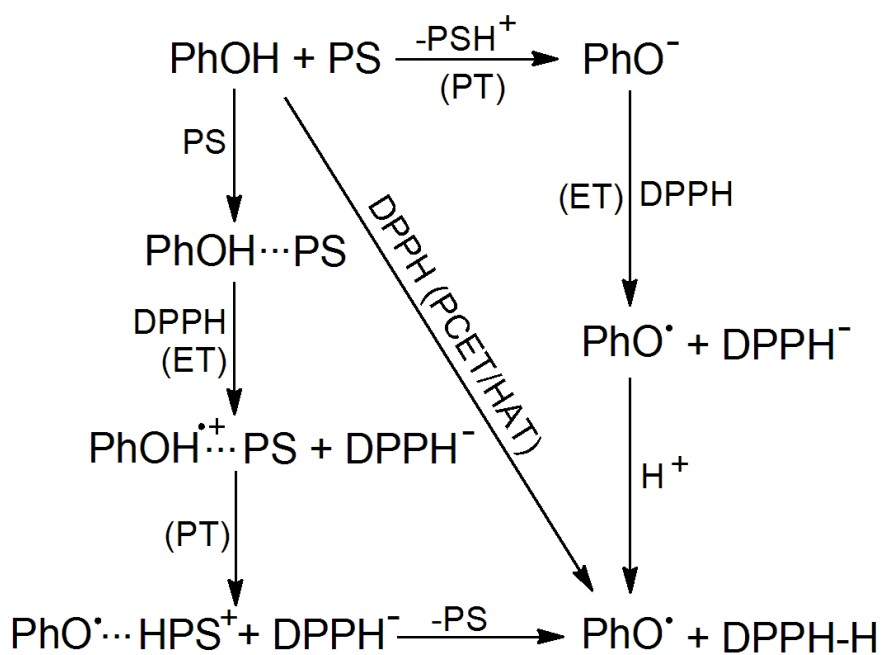


Рис. 1.13 Можливі механізми реакції фенолів з ДФПГ (DPPH).

Четвертий механізм – це ET-PT (electron-transfer proton-loss). Вважається, що це фактично окремий випадок механізму PCET, в якому протон та електрон переходять до різних (початкових) акцепторів [109, 116]. Тобто, у розчинниках, що є акцепторами водневих зв'язків, фенол буде утворювати водневий зв'язок з молекулою розчинника. Внаслідок переносу електрона на радикал (або нерадикальний електронний акцептор) утворюється проміжний катіон-радикал. Оскільки катіон-радикали є набагато більш кислими, ніж нейтральні молекули, втрата протонів буде надзвичайно швидкою, можливо, навіть одночасною з переносом електрона.

На рис.1.14 наведено схему механізму ET-PT.

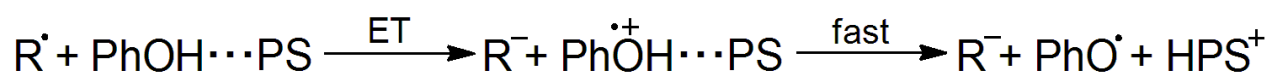


Рис. 1.14 Схема механізму ET-PT.

Реалізація цього механізму є більш імовірною для фенолів з низькими значеннями pK_a O–H груп у полярних розчинниках.

В цілому, дослідження механізмів радикального окиснення фенолів, умов і чинників, що впливають на них дозволяє прогнозувати ефективність їхньої дії у фізіологічних середовищах. А це, в свою чергу, дозволяє підвести теоретичне підґрунтя під пошук та розробку нових лікарських засобів.

Висновки до розділу 1

Дослідження імінопохідних госиполу є, безумовно, актуальною задачею, як з хімічної, так і з біологічної точки зору. З огляду літератури можна бачити, що для деяких похідних госиполу проведено досить ґрунтовне дослідження їхньої будови і хіміко-біологічних властивостей. Це дозволило створити низку ефективних лікарських засобів на основі цих сполук. Тому одержання нових похідних на основі госиполу, дослідження їхньої будови і пошук кореляцій будова-властивість є досить важливими при створенні лікарських засобів з високою селективністю дії на основі сполук рослинного походження.

РОЗДІЛ 2

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

На рис 2.1 наведено будову таутомерів і нумерацію атомів досліджуваних основ Шиффа госиполу з 4-фтораніліном (GDFA), 4-броманіліном (GDBA), 4-метоксіаніліном (GMTA), 2,5-диметоксіаніліном (GDMTA), 3-аміно-5-метилізоксазолом (GAMI), [2-(3,5-диметил-1H-1,2,4-триазол-1-іл)-1-метилетил]аміном (GDTA), 4-аміноантипірином (GSAP) і гідразонів госиполу з фенолгідрaziном (GDPG) та (карбоксиметил)-триметиламоній хлорид гідрaziном (GCTA).

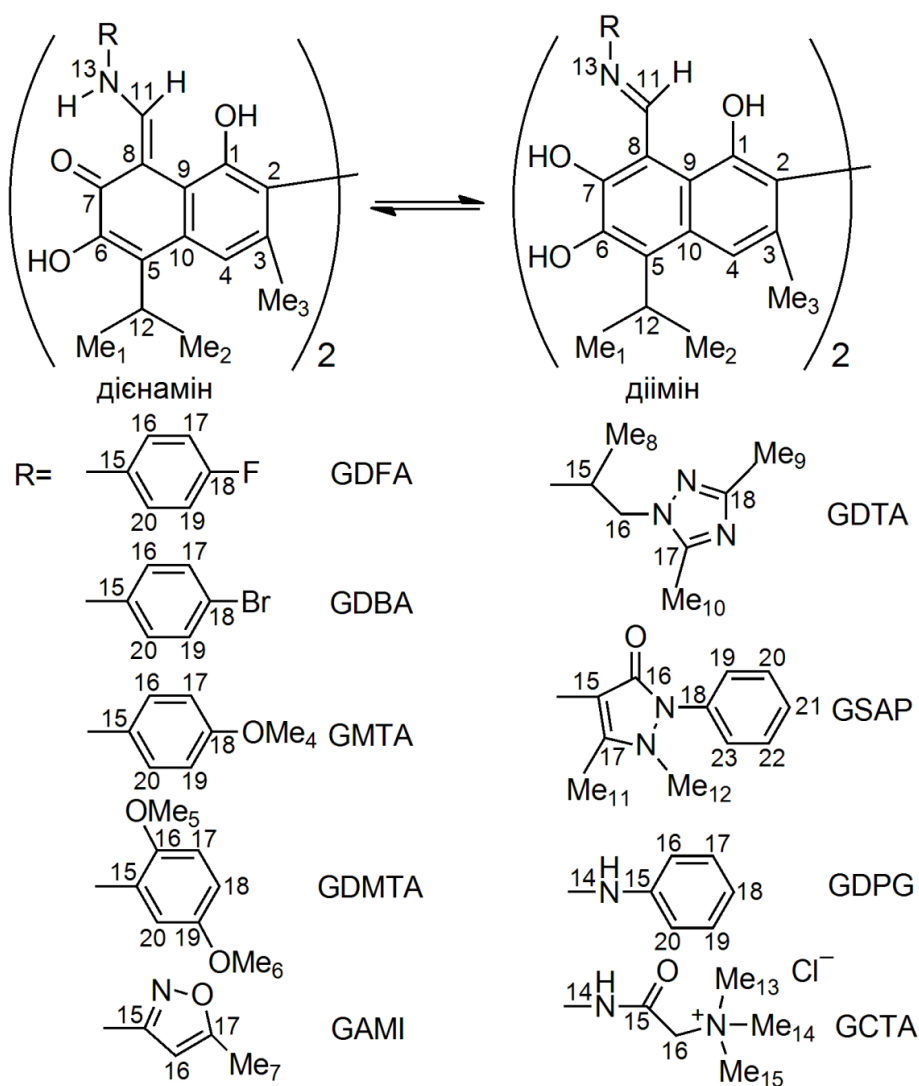


Рис. 2.1 Будова таутомерів і нумерація атомів імінопохідних госиполу (Me=CH₃).

2.1. Методи експерименту

2.1.1. Оборнено-фазова високоефективна рідинна хроматографія

Метод оборнено-фазової високоефективної рідинної хроматографії (ОФ ВЕРХ) застосовували для контролю чистоти синтезованих імінопохідних госиполу. Використовували систему Agilent 1100 з діодно-матричним детектором і колонку Zorbax Eclipse PLUS C-18 2,1x150 мм з діаметром часток 3,5 мкм у поєднанні з ізократичним елююванням MeOH:H₂O(0,05 М Н₃РO₄)=10%:90% зі швидкістю 0,5 мл/хв.

Типова хроматограма зразка і УФ спектр сигналу наведені на рис 2.2 і рис. 2.3.

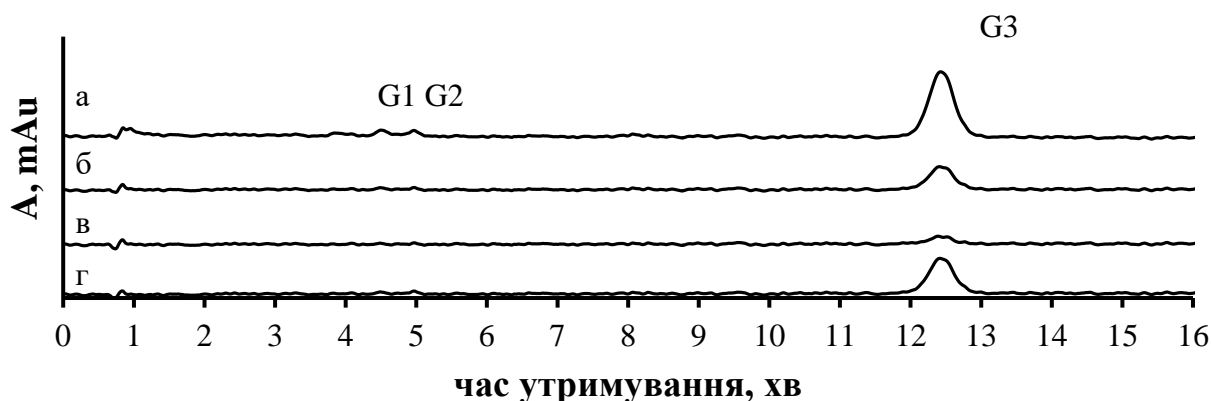


Рис. 2.2 Хроматограма зразка основи Шиффа госиполу з 4-фтораніліном (а – хроматограма, що зареєстрована при $\lambda=254$ нм; б – хроматограма, що зареєстрована при $\lambda=300$ нм; в – хроматограма, що зареєстрована при $\lambda=350$ нм; г – хроматограма, що зареєстрована при $\lambda=440$ нм; G1 і G2 – сигнали, що відповідають домішкам; G3 – сигнал, що відповідає основі Шиффа госиполу з 4-фтораніліном).

Чистота синтезованих основ Шиффа і гідразонів госиполу за даними ОФ ВЕРХ складає $\geq 95\%$. Час виходу домішок складає 4,5 хв. і 5,0 хв. (G1 і G2, відповідно). Час виходу основи Шиффа госиполу з 4-фтораніліном складає 12,4 хв.

Домішки відповідають продуктам окиснення основи Шиффа госиполу з 4-фтораніліном.

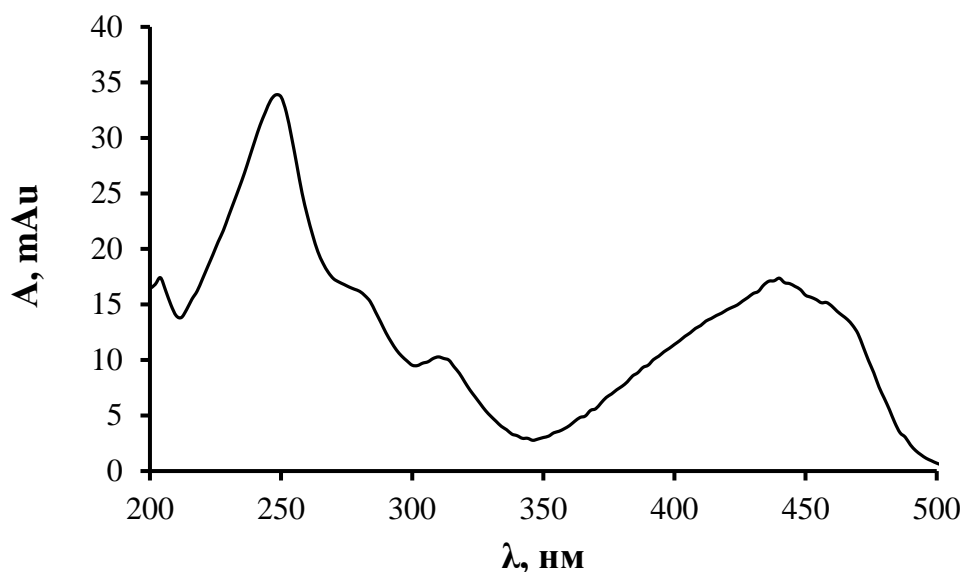


Рис. 2.3 УФ спектр сигналу хроматограми зразка основи Шиффа госиполу з 4-фтораніліном.

2.1.2. ІЧ спектроскопія

ІЧ спектри реєстрували на спектрометрі Perkin-Elmer Spectrum BX в таблетках КВг. Абсолютна похибка вимірювань частот не перевищувала $\pm 0,5 \text{ см}^{-1}$, а похибка інтенсивностей $\pm 5\%$.

2.1.3. ЯМР спектроскопія

^1H , ^{13}C , HSQC та HMBC спектри реєстрували в CDCl_3 , ДМСО $d-6$ та ДМФА $d-7$ на спектрометрі Bruker Avance II – 400 з робочою частотою 400 МГц для ядер ^1H і 100 МГц для ядер ^{13}C , при $T=293 \text{ K}$. Як внутрішній стандарт використовували залишкові сигнали протонів і ядер ^{13}C розчинника. Точність вимірювання хімічних зсувів становила $\pm 0,005 \text{ м.ч.}$ для спектрів ^1H і $\pm 0,05 \text{ м.ч.}$ для спектрів ^{13}C .

2.1.4. УФ спектроскопія

УФ спектри реєстрували на спектрометрі Shimadzu UV – 1650 у кварцових кюветах з довжиною оптичного шляху $l=1$ см при $T=293$ К. Концентрації розчинів досліджуваних сполук складали $2,1 \cdot 10^{-5}$ – $1,0 \cdot 10^{-4}$ М. Абсолютна похибка вимірювання довжин хвиль не перевищувала $\pm 0,5$ нм. Кінетичні вимірювання проводили в кюветах з довжиною оптичного шляху $l=1$ см на спектрометрі Shimadzu UV – 1650. Реєстрували зниження інтенсивностей смуг поглинання при $\lambda=518$ нм протягом 1200 с (ДФПГ) та при $\lambda=734$ нм протягом 900 с (АБТС⁺⁺) при $T=298$ К. Кінетичні вимірювання реакції досліджуваних сполук з ДФПГ із додаванням 0,03 М хлоридної кислоти проводили при $T=283$ К.

2.1.5. Квантово-хімічні розрахунки

Оптимізацію геометрій, розрахунок дипольних моментів і частот нормальних коливань проводили з використанням програмного пакета NWChem-6.1 [138] методом B3LYP/6-31G(d). Усі розраховані частоти нормальних коливань масштабувались з використанням відповідного множника ($\lambda=0,9613$) [139]. Розрахунок величин ізотропних хімічних зсувів виконували за допомогою методу GIAO-B3LYP/6-31G(d). Енергії збуджених станів для діенамінної та діімінної форм основи Шиффа з 3-аміно-5-метилізоксазолом (GAMI) обчислювали за допомогою програмного пакету GAMESS-US 12 [140] методом TDDFT B3LYP/6-31+G(d,p) з урахуванням впливу розчинника (хлороформу) в рамках моделі SMD (Solvation Model Density).

Оптимізацію геометрій і розрахунок повних енергій (E) молекул, радикалів і аніонів для визначення енергій гомолітичного і гетеролітичного розриву O–H (N–H) зв'язків проводили з використанням програмного пакету NWChem-6.1 методом B3LYP/def2-SVP у газовій фазі.

2.2. Приготування розчинів

Усі розчини речовин готували ваговим методом при $T=293$ К. Концентрації розчинів розраховували за формулою (2.1):

$$C = \frac{m_1 \times d_4^{20}}{m_2 \times M} \times 1000, \quad (2.1)$$

де m_1 – вага речовини, г;

m_2 – вага розчинника, г;

d_4^{20} – відносна густина розчинника, г/см³;

M – молярна маса речовини, г/моль.

2.3. Математична обробка результатів експерименту

Для проведення статистичної обробки експериментальних даних (оцінки статистичної значущості залежності між двома змінними і обробки результатів непрямих вимірювань) використовували коефіцієнт кореляції (2.2), середньоквадратичну похибку оцінки (2.3) і похибку результатів непрямих вимірювань (2.4):

$$r = \frac{\sum_i (X_i - \bar{X}) \times (Y_i - \bar{Y})}{\sqrt{\sum_i (X_i - \bar{X})^2 \times (Y_i - \bar{Y})^2}}, \quad (2.2)$$

де r – коефіцієнт кореляції;

X_i – i -те значення змінної X ;

\bar{X} – середнє значення змінної X ;

Y_i – експериментальне значення змінної Y при заданому значенні X_i ;

\bar{Y} – середнє значення змінної Y .

$$S_0 = \sqrt{\frac{(Y_i - \hat{Y}_1)^2}{(n-2)}}, \quad (2.3)$$

де S_0 – середньоквадратична похибка оцінки;

\hat{Y}_1 – передбачене значення змінної Y при заданому значенні X_i ;

n – число вимірювань.

$$\Delta = \sqrt{\sum_i \left(\frac{\delta f}{\delta X} \times \Delta X_i \right)^2}, \quad (2.4)$$

де Δ – похибка результатів непрямих вимірювань;

$\delta f/\delta X$ – часткові похідні функції f по змінній X ;

ΔX_i – похибка безпосередньо вимірюваної величини.

2.4. Синтез речовин, очистка реактантів і розчинників

2.4.1. Одержання «ацетату» госиполу

«Ацетат» госиполу (комплекс госиполу з оцтовою кислотою у співвідношенні 1:1) одержували за допомогою екстракції з насіння бавовни. Екстракцію проводили в апараті Сокслета за методикою Адамса [141] у два етапи: на першому етапі з подрібненого насіння бавовни за допомогою петролейного етеру ($T_{\text{кип}}=313-333 \text{ K}$) вилучали бавовняну олію і більшу частину жирних кислот (20-25 годин); на другому етапі насіння екстрагували діетиловим етером (20-25 годин).

Після завершення екстракції розчин фільтрували і упарювали до 1/20 вихідного об'єму. До отриманого концентрованого розчину додавали крижану оцтову кислоту. Протягом 4-5 днів спостерігалось випадіння жовтого (або жовто-коричневого) дрібнокристалічного осаду «ацетату» госиполу. «Ацетат» госиполу перекристалізовували із суміші діетилового і петролейного етерів і використовували для подальших синтезів.

2.4.2. Очистка розчинників

Очистка діетилового етеру полягала у видаленні перекисів. Для цього діетиловий етер промивали невеликими порціями 10 %-го розчину КОН, а потім водою до нейтральної реакції водного шару. Промитий етер переганяли над металічним натрієм ($T_{\text{кип}}=307,6 \text{ K}$) [142].

Перед використанням етанол переганяли ($T_{\text{кип}}=351,4 \text{ K}$).

2.4.3. Синтез основ Шиффа госиполу

Синтез основи Шиффа госиполу з 4-фтораніліном (GDFA): в колбу на 100 мл зі зворотним холодильником вміщували 50 мл розчину «ацетату госиполу» в етанолі (5×10^{-4} моль). Потім при безперервному перемішуванні до розчину «ацетату госиполу» додавали 10 мл етанолу з розчиненим в ньому 4-фтораніліном (1×10^{-3} моль). Реакційну суміш кип'ятили протягом 3 годин, після чого осад, що випав відфільтровували і послідовно промивали невеликими порціями петролейного та діетилового етерів. Отриману сполуку перекристалізовували із етанолу.

Синтез основи Шиффа госиполу з 4-броманіліном (GDBA): в колбу на 100 мл зі зворотним холодильником вміщували 50 мл розчину «ацетату госиполу» в етанолі (5×10^{-4} моль). Потім при безперервному перемішуванні до розчину «ацетату госиполу» додавали 10 мл етанолу з розчиненим в ньому 4-броманіліном (1×10^{-3} моль). Реакційну суміш кип'ятили протягом 3 годин, після чого осад, що випав відфільтровували і послідовно промивали невеликими порціями петролейного та діетилового етерів. Отриману сполуку перекристалізовували із етанолу.

Синтез основи Шиффа госиполу з 4-метоксіаніліном (GMTA): в колбу на 100 мл зі зворотним холодильником вміщували 50 мл розчину «ацетату госиполу» в етанолі (5×10^{-4} моль). Потім при безперервному перемішуванні до розчину «ацетату госиполу» додавали 10 мл етанолу з розчиненим в ньому 4-метоксіаніліном (1×10^{-3} моль). Реакційну суміш кип'ятили протягом 3 годин, після чого осад, що випав відфільтровували і послідовно промивали невеликими порціями петролейного та діетилового етерів. Отриману сполуку перекристалізовували із хлороформу.

Синтез основи Шиффа госиполу з 2,5-диметоксіаніліном (GDMTA): в колбу на 100 мл зі зворотним холодильником вміщували 50 мл розчину «ацетату госиполу» в етанолі (5×10^{-4} моль). Потім при безперервному перемішуванні до розчину «ацетату госиполу» додавали 10 мл етанолу з розчиненим в ньому 2,5-диметоксіаніліном (1×10^{-3} моль). Реакційну суміш кип'ятили протягом 3 годин,

після чого осад, що випав відфільтровували і послідовно промивали невеликими порціями петролейного та діетилового етерів. Отриману сполуку перекристалізовували із хлороформу.

Синтез основи Шиффа госиполу з 3-аміно-5-метилізоксазолом (GAMI): в колбу на 100 мл зі зворотним холодильником вміщували 50 мл розчину «ацетату госиполу» в етанолі (5×10^{-4} моль). Потім при безперервному перемішуванні до розчину «ацетату госиполу» додавали 10 мл етанолу з розчиненим в ньому 3-аміно-5-метилізоксазолом (1×10^{-3} моль). Реакційну суміш кип'ятили протягом 3 годин, після чого осад, що випав відфільтровували і послідовно промивали невеликими порціями петролейного та діетилового етерів. Отриману сполуку перекристалізовували із ацетонітрилу.

Синтез основи Шиффа госиполу з [2-(3,5-диметил-1H-1,2,4-триазол-1-іл)-1-метилетил]аміном (GDТА): в колбу на 100 мл зі зворотним холодильником вміщували 50 мл розчину «ацетату госиполу» в етанолі (5×10^{-4} моль). Потім при безперервному перемішуванні до розчину «ацетату госиполу» додавали 10 мл етанолу з розчиненим в ньому [2-(3,5-диметил-1H-1,2,4-триазол-1-іл)-1-метилетил]аміном (1×10^{-3} моль). Реакційну суміш кип'ятили протягом 3 годин, після чого осад, що випав відфільтровували і послідовно промивали невеликими порціями петролейного та діетилового етерів. Отриману сполуку перекристалізовували із ацетонітрилу.

Синтез основи Шиффа госиполу з 4-аміноантипірином (GSAP): в колбу на 100 мл зі зворотним холодильником вміщували 50 мл розчину «ацетату госиполу» в етанолі (5×10^{-4} моль). Потім при безперервному перемішуванні до розчину «ацетату госиполу» додавали 10 мл етанолу з розчиненим в ньому 4-аміноантипірином (1×10^{-3} моль). Реакційну суміш кип'ятили протягом 3 годин, після чого осад, що випав відфільтровували і послідовно промивали невеликими порціями петролейного та діетилового етерів. Отриману сполуку перекристалізовували із етанолу.

Сполуки GAMI і GDТА отримані вперше.

2.4.4. Синтез гідразонів госиполу

гідразонів госиполу з фенілгідазином (GDPG) та (карбоксиметил)-триметиламоній хлорид гідазином (GCTA).

Синтез гідразона госиполу з фенілгідазином (GDPG): колбу на 100 мл зі зворотним холодильником вміщували 50 мл розчину «ацетату госиполу» в етанолі (5×10^{-4} моль). Потім при безперервному перемішуванні до розчину «ацетату госиполу» додавали 10 мл етанолу з розчиненим в ньому фенілгідазином (1×10^{-3} моль). Реакційну суміш кип'ятили протягом 2 годин, після чого осад, що випав відфільтровували і послідовно промивали невеликими порціями петролейного та діетилового етерів. Отриману речовину перекристалізували із суміші петролейного етеру і хлороформу.

Синтез гідразону госиполу з (карбоксиметил)-триметиламоній хлорид гідазином (GCTA) проводили в хлороформі аналогічним чином. (Карбоксиметил)-триметиламоній хлорид гідазин малорозчинний у хлороформі. Протягом 30 хвилин при нагріванні реакційної суміші, осад вихідного гідразину зникав. Після 1 години кип'ятіння почав з'являтися осад жовтого кольору. Осад, що випав відфільтровували і промивали невеликими порціями етанолу. Отриману речовину перекристалізували із ацетонітрилу.

Сполука GCTA отримана вперше.

2.5. Опис ^1H - ^{13}C HSQC і HMBC спектрів

Для повного віднесення сигналів у ^{13}C ЯМР спектрах досліджуваних сполук, застосовувалися двомірні ЯМР методики ^1H - ^{13}C HSQC (heteronuclear single quantum correlation) і ^1H - ^{13}C HMBC (heteronuclear multiple bond correlation), що визначають гетероядерні кореляції через один або 2-4 зв'язки, відповідно.

На рис. 2.4 наведено ^1H - ^{13}C HSQC спектр основи Шиффа госиполу з 3-аміно-5-метилізоксазолом (GAMI) в ДМСО- d_6 .

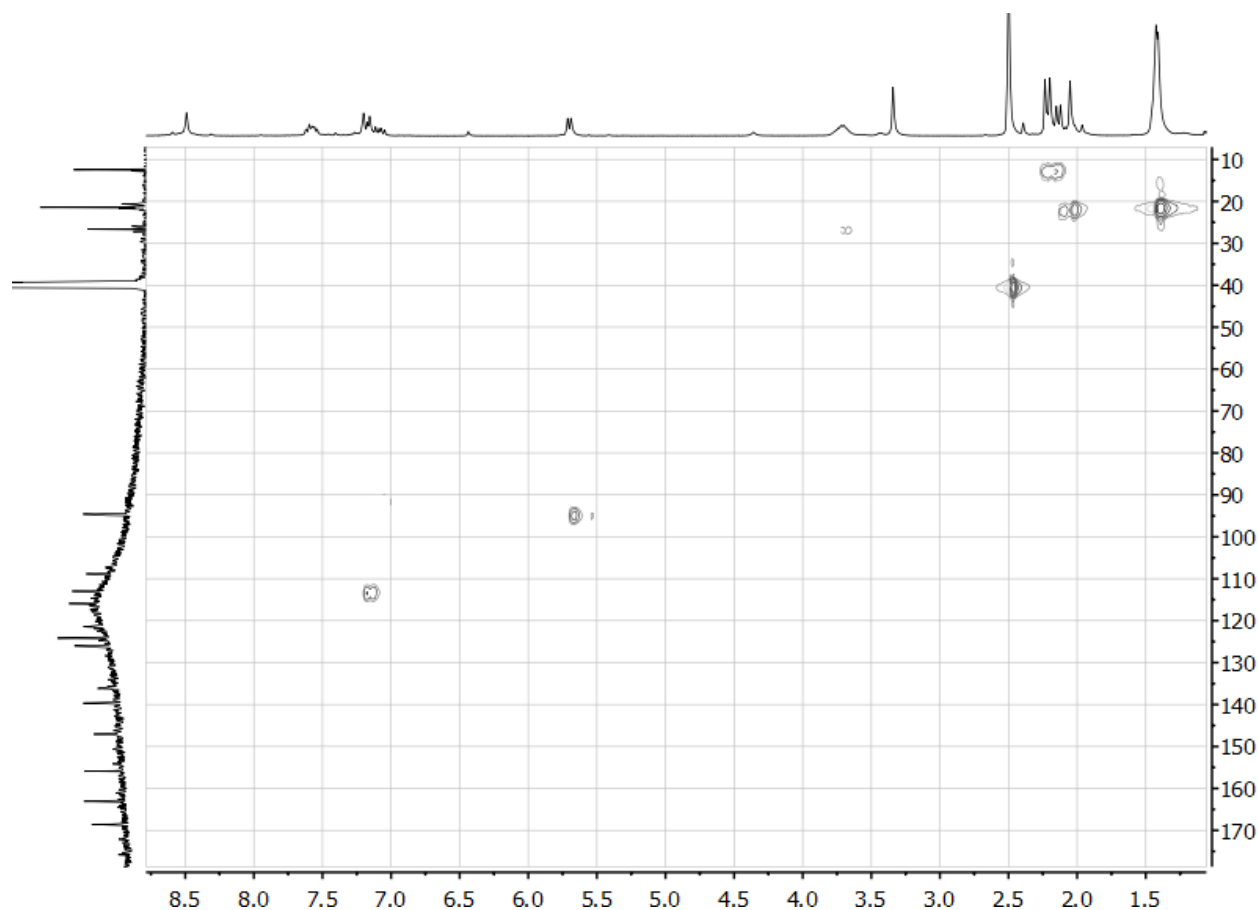


Рис. 2.4 ^1H - ^{13}C HSQC спектр основи Шиффа госиполу GAMI в ДМСО- d_6 .

Крос-піки в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 1,4/21 м.ч. відповідають взаємодії протонів метильних груп Me(1) і Me(2) з ядрами атомів вуглецю цих груп, крос-пик в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 2,1/21 м.ч. – взаємодії протонів Me(3) з атомом вуглецю цієї групи. Крос-пик в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 2,2/12 м.ч. відповідає взаємодії протонів Me(7) з атомом вуглецю цієї групи. Положення сигналу атома C(12) було встановлене за наявністю крос-піка в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 3,7/26 м.ч.

Крос-пик в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 5,7/94 м.ч. утворюється внаслідок взаємодії вуглецю C(16) з протоном, що зв'язаний з цим атомом. Внаслідок взаємодії атома вуглецю C(4) з його протоном утворюється крос-пик в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 7,1/112 м.ч.

На рис. 2.5 наведено ^1H - ^{13}C HMBC спектр основи Шиффа госиполу з 3-аміно-5-метилізоксазолом (GAMI) в ДМСО- d_6 .

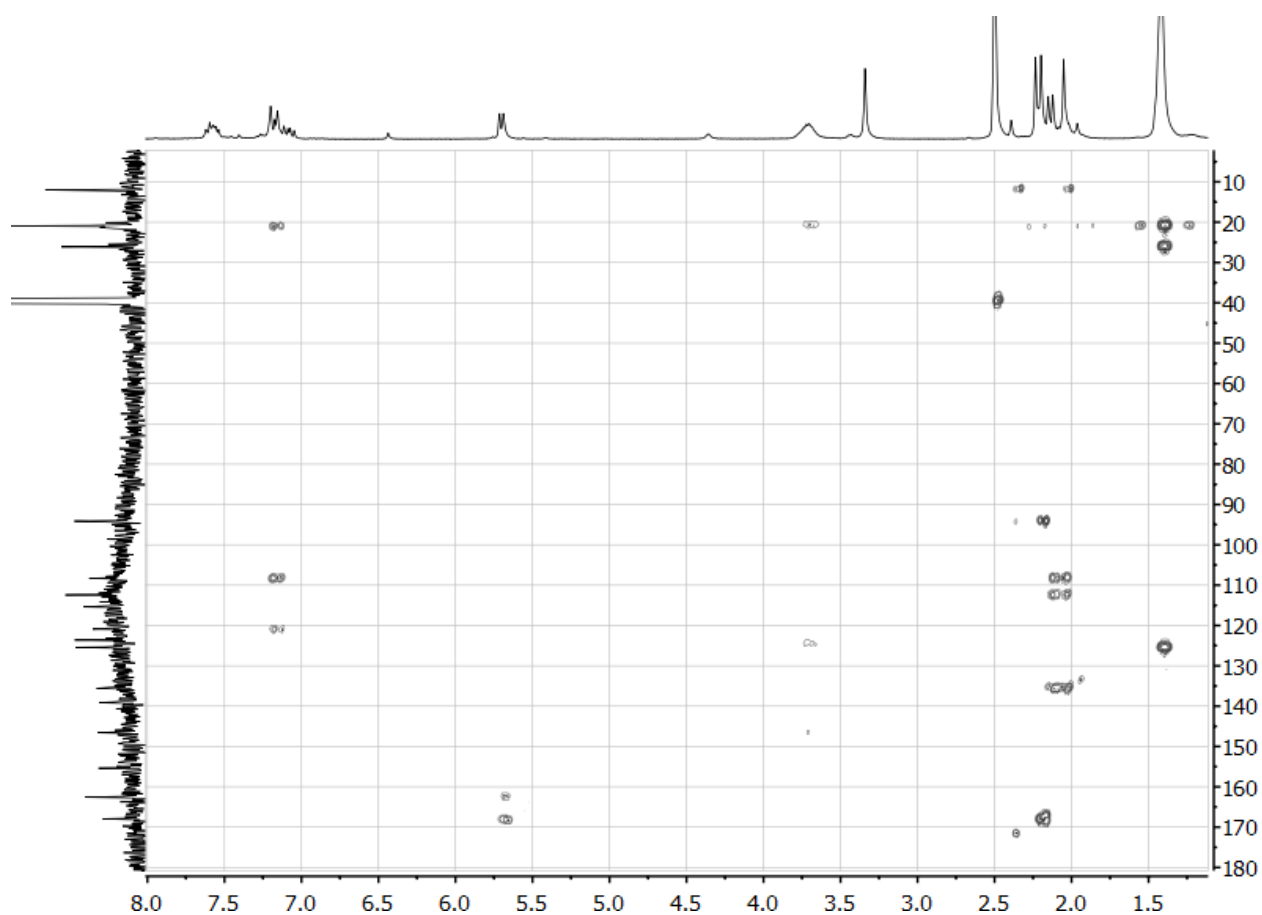


Рис. 2.5 ^1H - ^{13}C HMQC спектр основи Шиффа госиполу GAM1 в ДМСО- d_6 .

Крос-пік в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 1,4/126 м.ч. утворюється внаслідок взаємодії метильних протонів груп Me(1) і Me(2) з атомом вуглецю C(5). Крос-пік в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 2,1/112 м.ч. відповідає взаємодії протонів метильної групи Me(3) і вуглецю C(4), а крос-пік в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 2,1/135 м.ч. – протонів Me(3) і C(3). Протони метильної групи Me(7) утворюють крос-пік з атомом вуглецю C(16) ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 2,2/94 м.ч.). Крос-пік в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 2,2/168 м.ч. утворюється внаслідок взаємодії протонів Me(7) з атомом вуглецю C(17). Слабий крос-пік в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 3,7/126 м.ч. виникає внаслідок взаємодії протона ізопропільної групи C(12)H і атома вуглецю C(5). Внаслідок взаємодії протона C(16)H групи з атомами вуглецю C(15) і C(16), утворюються крос-піки в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 5,7/163 м.ч. і 5,7/168 м.ч., відповідно. Крос-піки в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 7,2/108 м.ч. і 7,2/121 м.ч. виникають внаслідок взаємодії протона C(11)H групи і атомів вуглецю C(8) і C(9), відповідно. А крос-пік в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 7,1/21 м.ч. відповідає взаємодії протона C(4)H групи і вуглецю метильної групи Me(3).

На рис. 2.6 наведено ^1H - ^{13}C HSQC спектр основи Шиффа госиполу з [2-(3,5-диметил-1H-1,2,4-триазол-1-іл)-1-метилетил]аміном (GDТА) в ДМСО- d_6 .

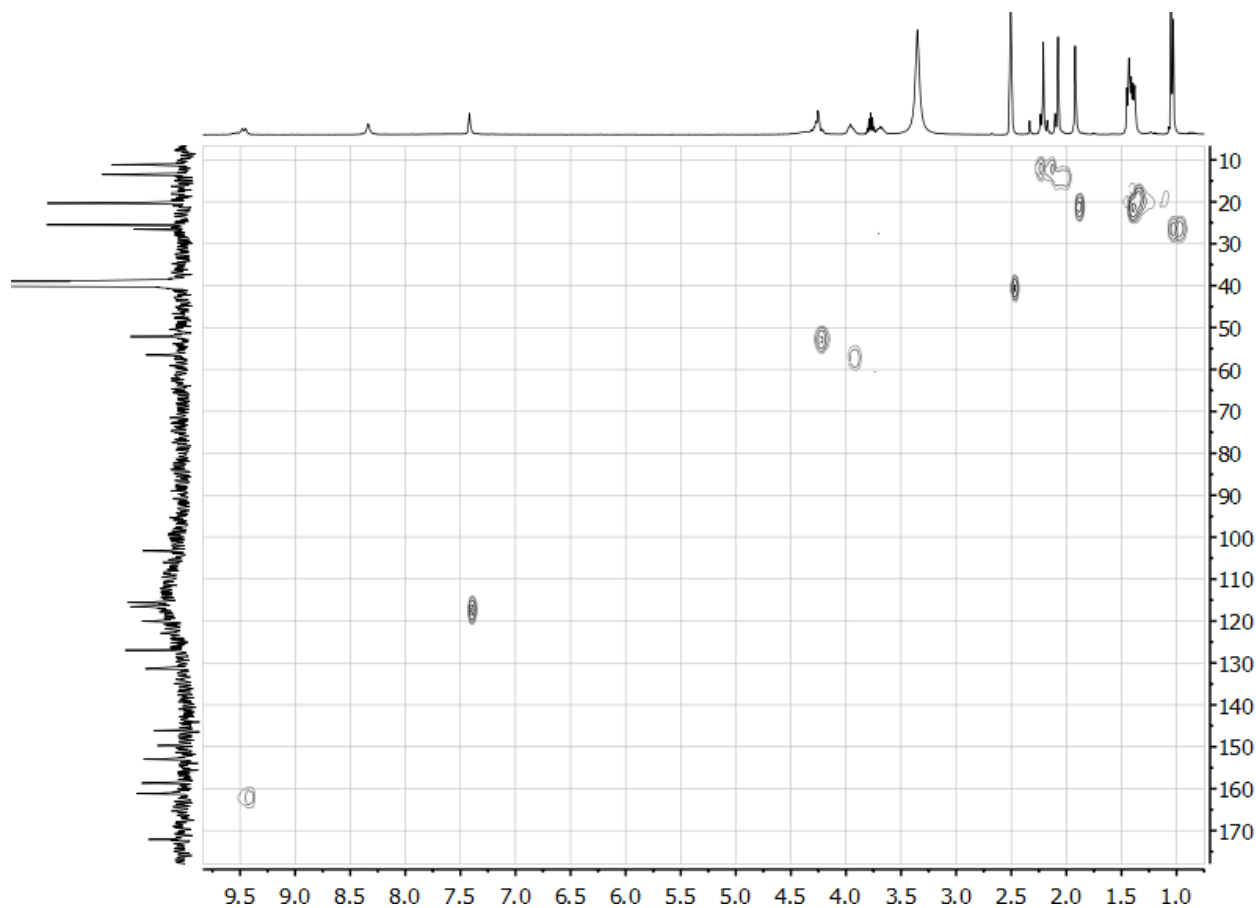


Рис. 2.6 ^1H - ^{13}C HSQC спектр основи Шиффа госиполу GDТА в ДМСО- d_6 .

Крос-пік в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 1,0/25 м.ч. відповідає взаємодії протонів метильної групи Me(8) з атомом вуглецю цієї групи. Крос-піки в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 2,1/11 м.ч. і 2,2/13 м.ч. виникають внаслідок взаємодії протонів метильних груп Me(10) і Me(9) з атомами вуглецю цих груп. Протони метильних груп Me(1) і Me(2) утворюють крос-піки з атомами вуглецю цих груп ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 1,4/20 м.ч.). Крос-пік в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 4,2/52 м.ч. відповідає взаємодії протона і вуглецю C(15)H групи. Крос-пік в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 3,9/56 м.ч. відповідає взаємодії протонів і вуглецю C(16)H₂ групи. Внаслідок взаємодії протона і вуглецю C(4)H групи утворюється крос-пік в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 7,4/116 м.ч. Крос-пік в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 9,4/161 м.ч. відповідає взаємодії протона і атома вуглецю C(11)H групи.

На рис. 2.7 наведено ^1H - ^{13}C HMBC спектр основи Шиффа госиполу з [2-(3,5-диметил-1H-1,2,4-триазол-1-іл)-1-метилетил]аміном (GDТА) в ДМСО- d_6 .

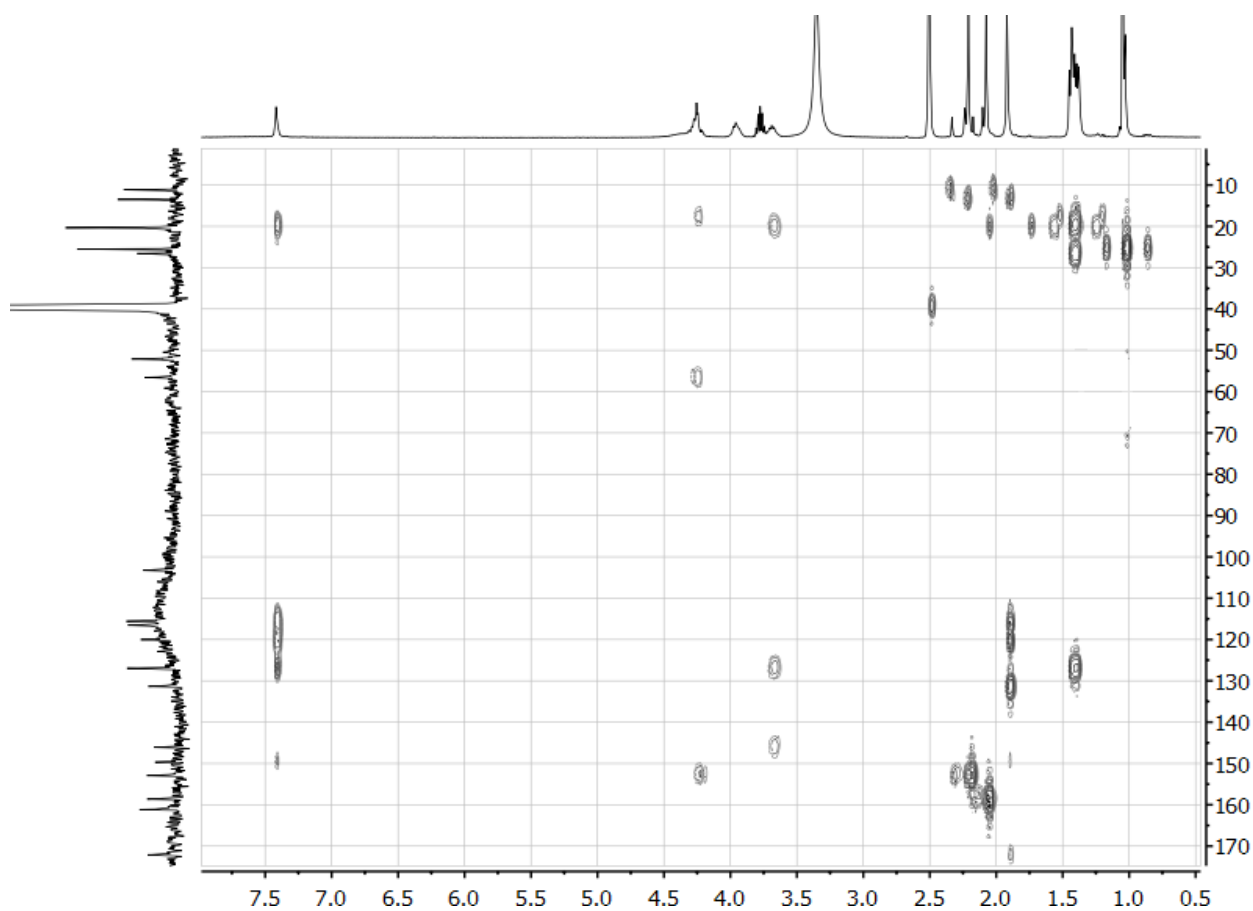


Рис. 2.7 ^1H - ^{13}C HMBSC спектр основи Шиффа госсиполу GDТА в ДМСО- d_6 .

Крос-пік в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 1,4/127 м.ч. утворюється внаслідок взаємодії протонів Me(1) і Me(2) з атомом вуглецю C(5). Протони метильної групи Me(3) утворюють крос-піки з атомами вуглецю C(2), C(3) і C(4) ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 1,9/120 м.ч., 1,9/131 м.ч. і 1,9/115 м.ч., відповідно). Протони метильної групи Me(10) утворюють крос-пік з атомом вуглецю C(17) ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 2,1/158 м.ч.), а протони Me(9) – крос-пік з вуглецем C(18) ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 2,2/153 м.ч.). Крос-пік в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 7,4/20 м.ч. відповідає взаємодії протона C(4)H групи з атомом вуглецю групи Me(3). Внаслідок взаємодії протона C(4)H групи з вуглецем C(9) утворюється крос-пік в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 7,4/116 м.ч. А слабкий крос-пік в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 7,4/150 м.ч. обумовлений взаємодією протона C(4)H групи з атомом вуглецю C(1).

На рис. 2.8 наведено ^1H - ^{13}C HSQC спектр основи Шиффа госсиполу з 4-аміноантипірином (GSAP) в CDCl_3 .

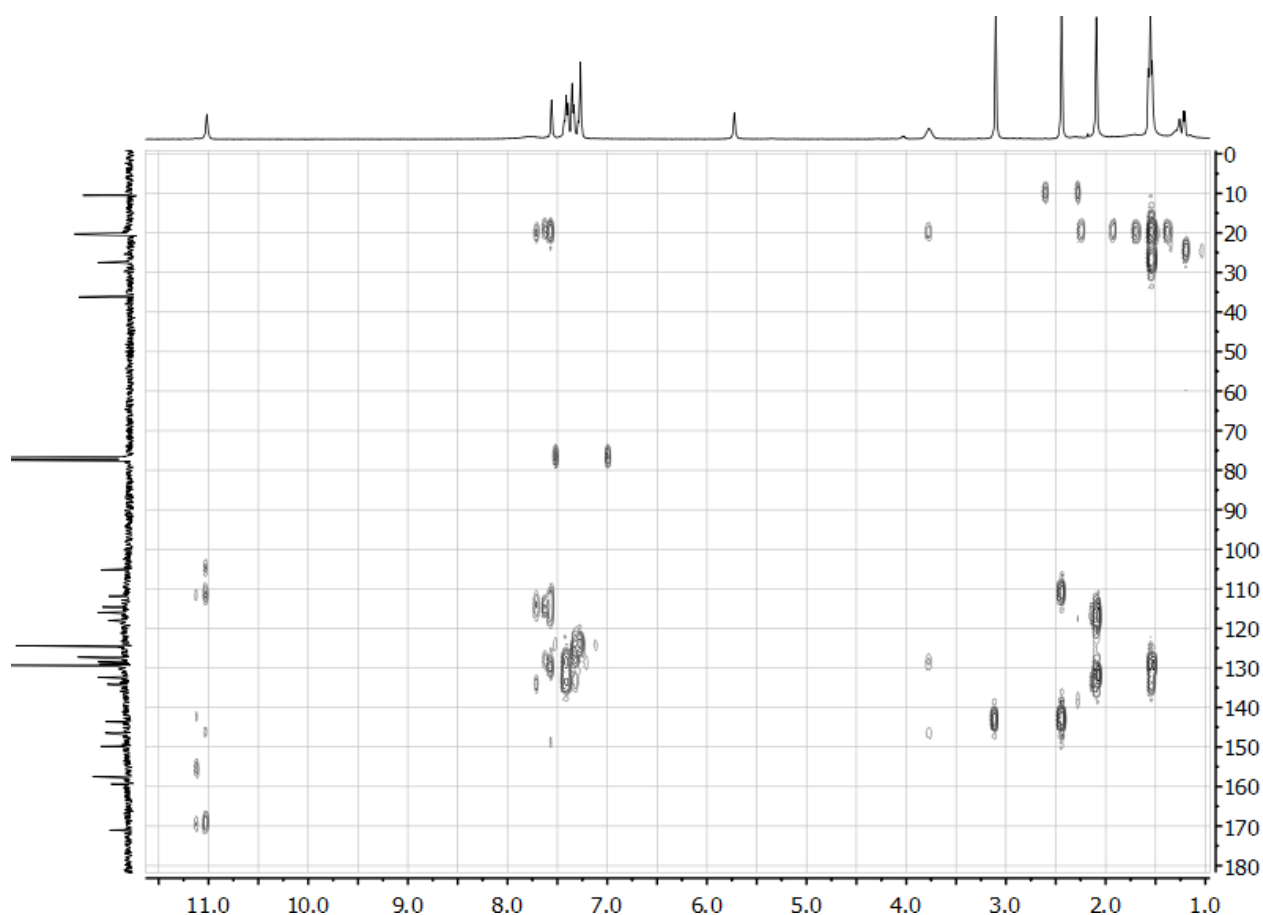


Рис. 2.8 ^1H - ^{13}C HMQC спектр основи Шиффа госиполу GSAP в CDCl_3 .

У спектрі відображається крос-пік атомів вуглецю груп Me(1), Me(2) і їхніх протонів ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 1,5/20 м.ч.). Крім того в спектрі проявляється розщеплення через один зв'язок C–H цих груп ($^1J(\text{C–H})=125$ Гц). Аналогічним чином відображаються розщеплення, що відбувається внаслідок взаємодії протонів Me(3) і вуглецю цієї групи ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 2,1/20 м.ч.; $^1J(\text{C–H})=129$ Гц). Протони Me(11) і атоми вуглецю цієї групи утворюють крос-піки в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 2,4/10 м.ч. ($^1J(\text{C–H})=128$ Гц). Внаслідок взаємодії протонів груп Me(1) і Me(2) з атомом вуглецю C(5) утворюється крос-пік в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 1,5/128 м.ч. Протони метильної групи Me(3) утворюють крос-пік з атомами вуглецю C(2) і C(3) ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 2,1/116 м.ч. і 2,1/132 м.ч., відповідно). Крос-пік в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 2,4/112 м.ч. відповідає взаємодії протонів групи Me(11) з атомом вуглецю C(15), а крос-пік в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 2,4/143 м.ч. – взаємодії протонів Me(11) з C(17). Додатково положення в ^{13}C ЯМР спектрі сигналу C(17) підтверджує наявність крос-піка протонів Me(12) з цим атомом вуглецю ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 3,1/143 м.ч.). Протон C(4)H групи утворює крос-піки з атомами вуглецю

групи Me(3), C(9) і C(10) ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 7,5/20 м.ч., 7,5/115 м.ч. і 7,5/129 м.ч., відповідно). Протони C(19)H і C(23)H утворюють крос-піки з атомами C(18) і C(20, 22) ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 7,4/134 м.ч. і 7,4/129 м.ч.). А протони C(20)H і C(22)H груп, в свою чергу, утворюють крос-піки з атомами вуглецю C(19, 23) ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 7,3/124 м.ч.). Крос-піки в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 11,0/105 м.ч., 11,0/112 м.ч. і 11,0/171 м.ч. відповідають взаємодії протона C(11)H групи з атомами вуглецю C(8), C(15) і C(7), відповідно.

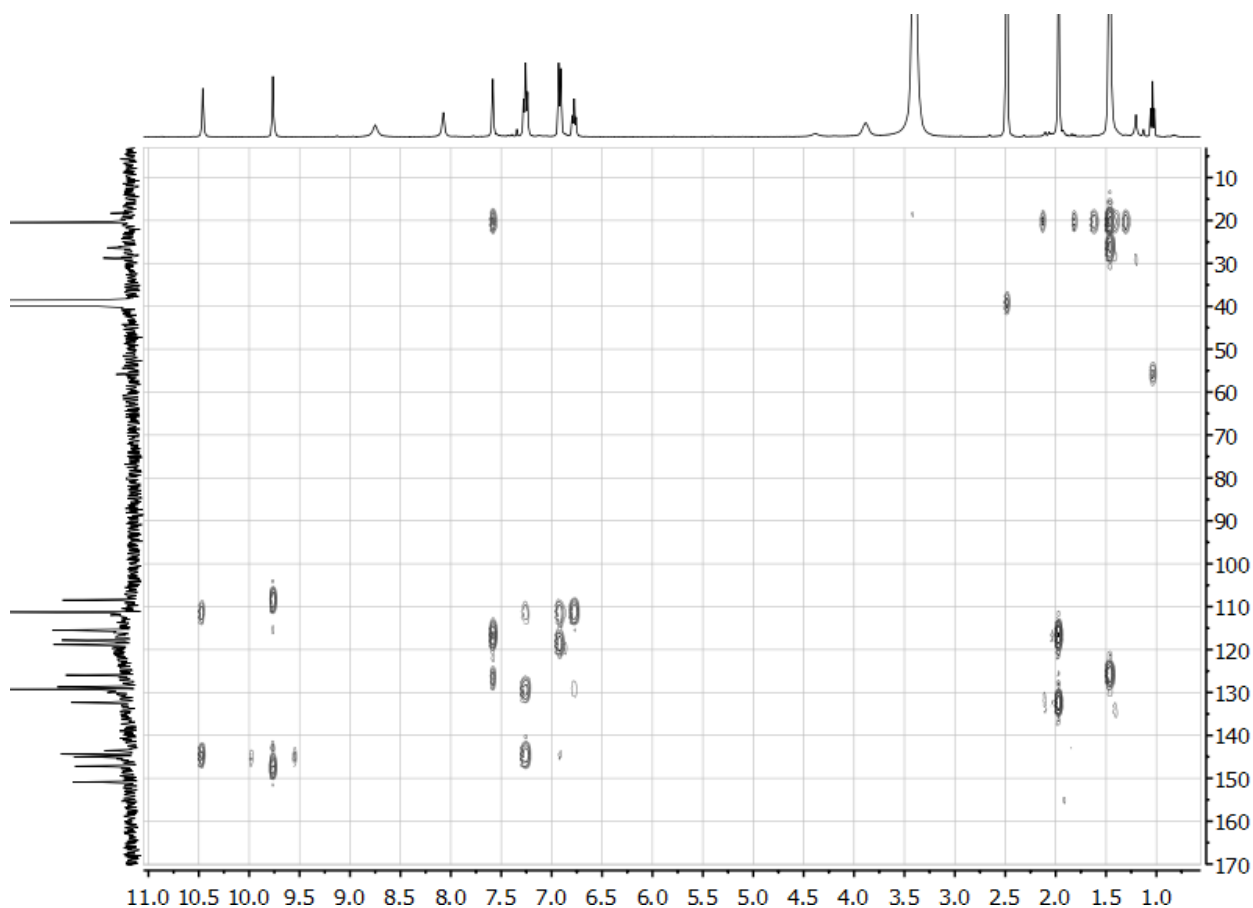


Рис. 2.9 ^1H - ^{13}C HMBSC спектр гідрозона госиполу GDPG в ДМСО- d_6 .

На рис. 2.9 наведено ^1H - ^{13}C HMBSC спектр гідрозона госиполу з фенілгіdraзином (GDPG) в ДМСО- d_6 .

У спектрі відображається крос-пік атомів вуглецю груп Me(1), Me(2) і протонів цих груп ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 1,4/20 м.ч.). Крім того в спектрі проявляється розщеплення через один зв'язок C–H цих груп ($^1J(\text{C–H})=126$ Гц). Аналогічним чином відображається розщеплення, що відбувається внаслідок взаємодії протонів Me(3) і вуглецю цієї групи ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 2,0/20 м.ч., $^1J(\text{C–H})=125$ Гц). Утворення крос-піка в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 1,4/26 м.ч. обумовлене взаємодією протонів груп Me(1) і

Me(2) з атомом вуглецю C(12), а в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 1,4/126 м.ч. – взаємодією протонів цих груп і атома вуглецю C(5). Протони групи Me(3) утворюють крос-піки з атомами вуглецю C(2) і C(3) ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 2,0/116 м.ч. і 2,0/132 м.ч., відповідно). Протон групи C(4)H утворює крос-піки з атомами вуглецю групи Me(3), C(2) і C(10) ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 7,6/20 м.ч., 7,6/116 м.ч. і 7,6/126 м.ч., відповідно). Крос-пик в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 6,8/111 м.ч. обумовлений взаємодією протона C(18)H групи з атомами вуглецю C(16, 20), а крос-пик в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 6,8/129 м.ч. – протона C(18)H з C(17, 19). Крос-піки в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 6,9/111 м.ч. і 6,9/119 м.ч. обумовлені взаємодією протонів C(16)H і C(20)H груп з атомами вуглецю цих груп і атомом C(18). Внаслідок взаємодії протонів C(17)H і C(19)H груп з атомами вуглецю C(16, 20), C(17, 19) і C(15) утворюються крос-піки в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 7,3/111 м.ч., 7,3/129 м.ч. і 7,3/144 м.ч., відповідно. Крос-піки в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 9,8/109 м.ч. і 9,8/147 м.ч. утворюються внаслідок взаємодії протона N(14)H групи з атомами вуглецю C(8) і C(11), відповідно. Протон C(11)H групи утворює крос-піки з атомами вуглецю C(16, 20) і C(15).

Таким чином, використання ^1H - ^{13}C НМВС методу (без реєстрації ^1H - ^{13}C HSQC спектра) дозволило зробити віднесення сигналів у ^{13}C ЯМР спектрі гідрозона госиполу GDPG. Аналогічна ситуація спостерігалась для деяких інших досліджуваних імінопохідних госиполу.

На рис. 2.10 наведено ^1H - ^{13}C HSQC спектр гідрозона госиполу з (карбоксиметил)-триметиламоній хлорид гідрозином (GCTA) в ДМСО-d₆.

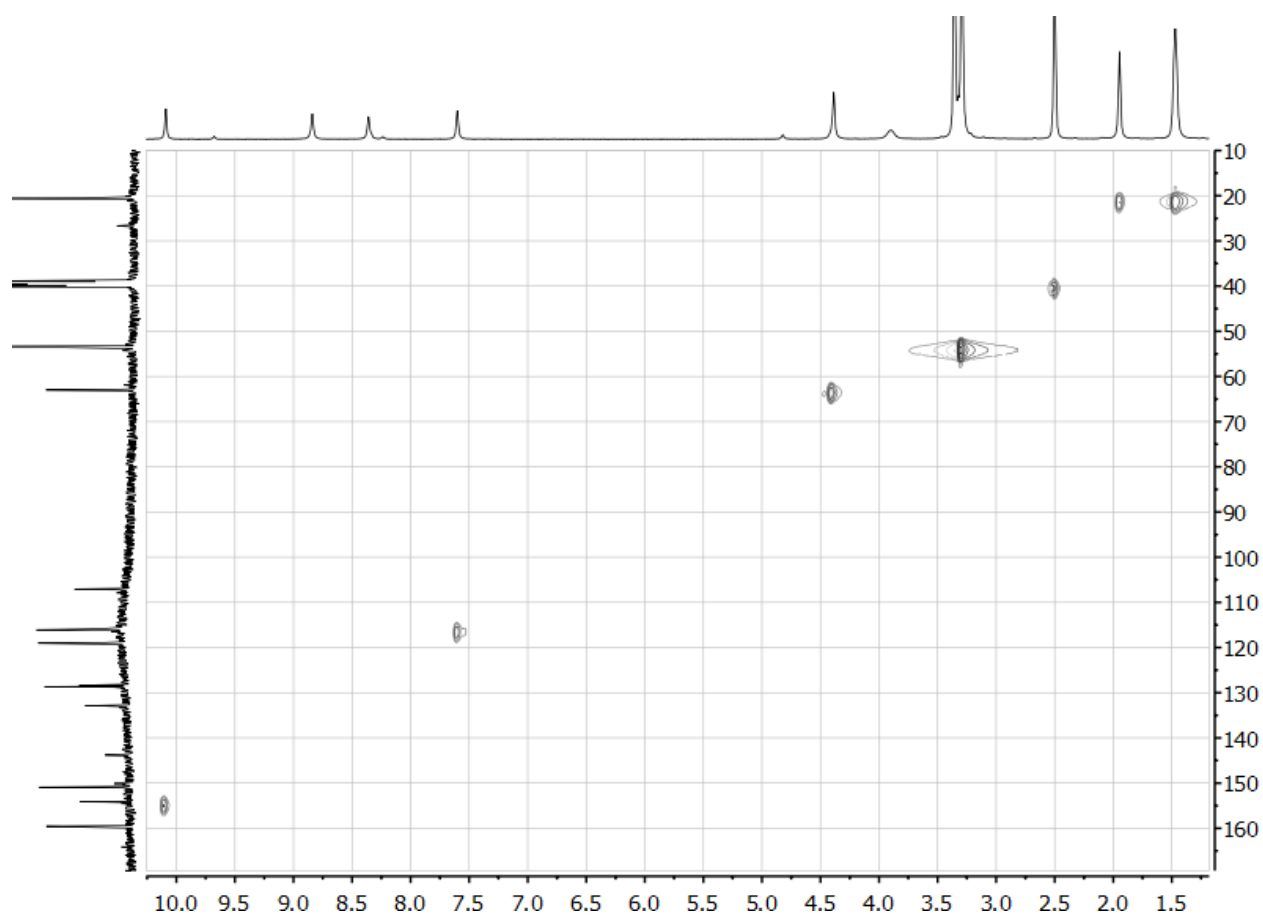


Рис. 2.10 ^1H - ^{13}C HSQC спектр гідрозона госиполу GCTA в ДМСО- d_6 .

Протони груп Me(1) і Me(2) утворюють крос-пик з атомами вуглецю цих груп в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 1,4/21 м.ч. Протони групи Me(3) утворюють крос-пик із атомом вуглецю цієї групи в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 1,9/21 м.ч. Наявність крос-піка в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 3,3/53 м.ч. обумовлена взаємодією протонів груп Me(13), Me(14) і Me(15) з атомами вуглецю цих груп. Крос-пик в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 4,4/63 м.ч. обумовлений взаємодією протонів і атома вуглецю C(16)H групи. Крос-пик в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 7,6/119 м.ч. обумовлений взаємодією протона і атома вуглецю C(4)H групи. Протон і атом вуглецю C(11)H групи утворюють крос-пик в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 10,1/154 м.ч.

На рис. 2.11 наведено ^1H - ^{13}C НМВС спектр гідрозона госиполу з (карбоксиметил)-триметиламоній хлорид гідратином (GCTA) в ДМСО- d_6 .

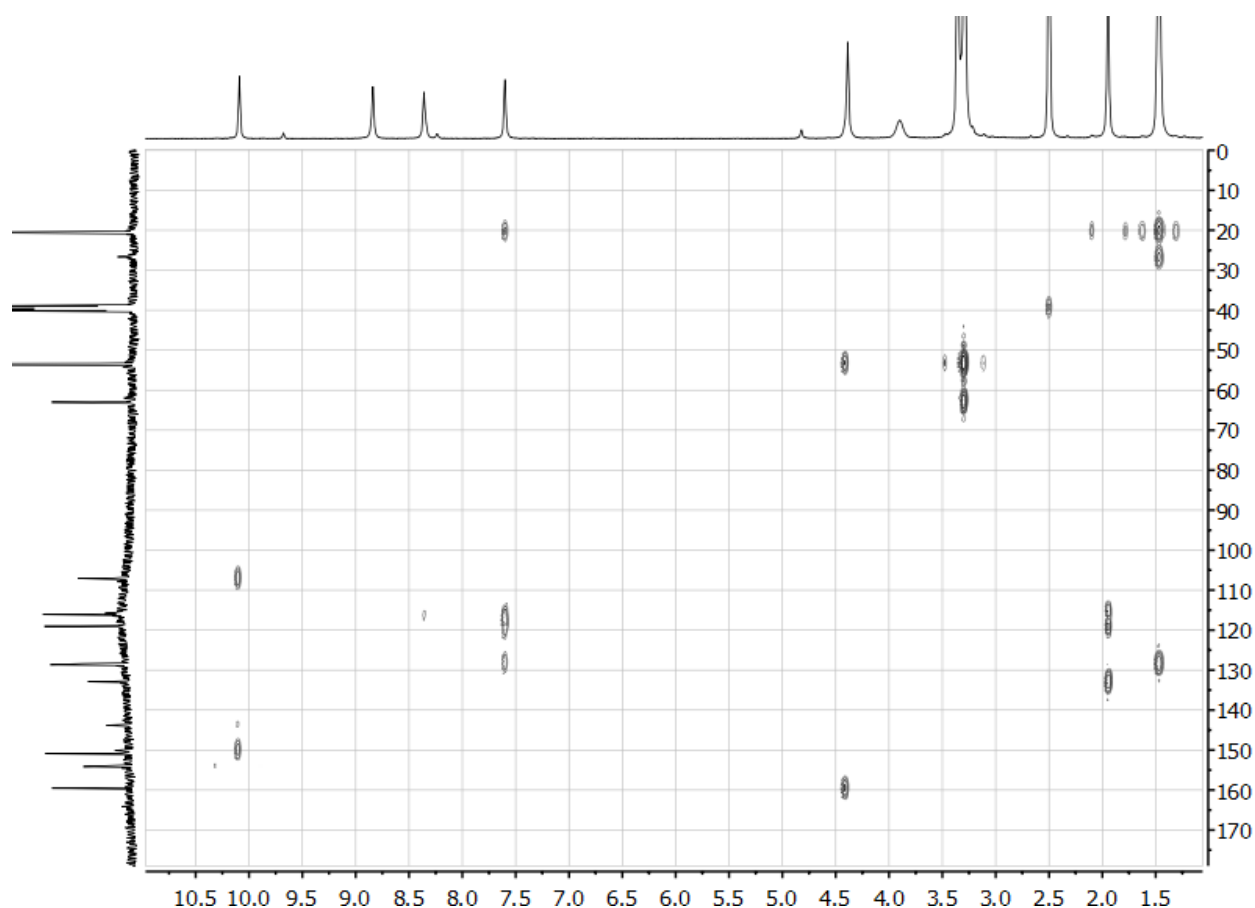


Рис. 2.11 ^1H - ^{13}C НМВС спектр гідрозона госиполу GSTA в ДМСО- d_6 .

У спектрі відображається крос-пік атомів вуглецю груп Me(1), Me(2) і протонів цих груп ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 1,4/21 м.ч.). Як і у випадку деяких інших імінопохідних госиполу, в спектрі проявляється розщеплення через один зв'язок C–N цих груп ($^1J(\text{C–N})=128$ Гц). Аналогічним чином відображається розщеплення, що відбувається внаслідок взаємодії протонів Me(3) і вуглецю цієї групи ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 2,0/21 м.ч., $^1J(\text{C–N})=126$ Гц). Крос-пік в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 1,4/26 м.ч. утворюється внаслідок взаємодії протонів груп Me(1) і Me(2) і атома вуглецю C(12)N групи. Крос-пік в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 1,4/128 м.ч. обумовлений взаємодією протонів груп Me(1) і Me(2) з атомом вуглецю C(5). Внаслідок взаємодії протонів метильної групи Me(3) з атомами вуглецю C(2), C(3) і C(4) утворюються крос-піки в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 2,0/116 м.ч., 2,0/133 м.ч і 2,0/119 м.ч., відповідно. Метильні групи Me(13), Me(14) і Me(15) утворюють крос-піки зі атомами вуглецю цих груп ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 3,3/53 м.ч.). Крім того, в спектрі проявляється розщеплення через один зв'язок C–N цих груп ($^1J(\text{C–N})=143$ Гц). Крос-пік в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 3,3/63 м.ч. обумовлений взаємодією протонів груп

Me(13), Me(14) і Me(15) з атомом вуглецю C(16). А наявність крос-піка в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 4,4/53 м.ч. обумовлена взаємодією протонів C(16)H групи з атомами вуглецю Me(13), Me(14) і Me(15) груп. Крос-пик в області $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 4,4/159 м.ч. виникає внаслідок взаємодії протонів C(16)H групи з атомом вуглецю C(15). Протон C(4)H групи утворює крос-піки з атомами вуглецю групи Me(3), C(2), C(9) і C(10) ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 7,6/21 м.ч., 7,6/117 м.ч., 7,6/116 м.ч., і 7,6/128 м.ч., відповідно). Протон C(11)H групи утворює крос-піки з атомами вуглецю C(8) і C(7) ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 10,1/107 м.ч., 10,1/151 м.ч.).

2.6. Обчислення хімічних зсувів

Для порівняння розрахованих хімічних зсувів (δ_{p}) з експериментальними ($\delta_{\text{експ}}$) їх приводили до єдиної шкали за формулою (2.5):

$$\delta_{\text{p}} = \delta_{\text{ст}}^* - \delta_{\text{рн}}^* + \delta_{\text{ст}}^0, \quad (2.5)$$

де $\delta_{\text{ст}}^*$ – розраховане ізотропне ядерне екранування стандарту;

$\delta_{\text{рн}}^*$ – розраховане ізотропне ядерне екранування досліджуваної речовини;

$\delta_{\text{ст}}^0$ – хімічний зсув, що приписують стандарту (як стандарт використовували бензол, $\delta_{\text{ст}}^0=128,5$ м.ч.).

2.7. Обчислення енергій гомолітичного і гетеролітичного розриву зв'язків

Обчислення енергій гомолітичного розриву зв'язків (BDE) і енергій гетеролітичного розриву зв'язків (PA) проводили за формулами (2.6), (2.7):

$$\text{BDE} = E(\text{PhO}^\cdot) + E(\text{H}^\cdot) - E(\text{PhOH}), \quad (2.6)$$

$$\text{PA} = E(\text{PhO}^-) + E(\text{H}^+) - E(\text{PhOH}), \quad (2.7)$$

де $E(\text{H}^\cdot)$ – енергія атома водню ($-1313,5$ кДж×моль⁻¹);

$E(\text{H}^+)$ – енергія протона ($6,2$ кДж×моль⁻¹);

$E(\text{e}^-)$ – енергія електрона ($3,1$ кДж×моль⁻¹).

2.8. Проведення реакції імінопохідних госиполу з радикалом ДФПГ

Для проведення реакції з ДФПГ, готували розчини імінопохідних госиполу в етанолі з концентрацією $(4,0 \pm 0,2) \times 10^{-4}$ М. Від 0,05 мл до 0,20 мл розчинів антиоксидантів змішували з 3,3 мл розчину ДФПГ в етанолі з концентрацією $(1,0 \pm 0,04) \times 10^{-4}$ М. Співвідношення концентрацій антиоксидант/ДФПГ варіювали від 4 до 14. Стехіометричні коефіцієнти визначали при співвідношенні концентрацій ДФПГ/антиоксидант $7,5 \pm 0,3$. Використовували ДФПГ фірми Sigma-Aldrich.

2.9. Проведення реакції імінопохідних госиполу з катіон-радикалом АБТС

Для проведення реакції з АБТС^{•+}, готували розчини імінопохідних госиполу в етанолі з концентрацією $(5,5 \pm 0,2) \times 10^{-5}$ М. Від 0,05 мл до 0,20 мл розчинів антиоксидантів змішували з 3,3 мл розчину АБТС^{•+} в етанолі з концентрацією $(4,4 \pm 0,3) \times 10^{-5}$ М. Співвідношення концентрацій АБТС^{•+}/антиоксидант варіювали від 12 до 50. Стехіометричні коефіцієнти визначали при співвідношенні концентрацій АБТС^{•+}/антиоксидант $26,0 \pm 1,0$. Використовували АБТС фірми Sigma-Aldrich. Катіон-радикал АБТС отримували за методикою, наведеною в [118].

2.10. Визначення величин EC₅₀

Оцінку антирадикальних властивостей досліджуваних поліфенолів проводили з використанням величин EC₅₀ (концентрація антиоксиданту, що необхідна для зменшення концентрації радикала на 50%). Для визначення величин EC₅₀, вимірювали зниження оптичної густини в часі при 5 різних початкових концентраціях досліджуваного імінопохідного госиполу.

Кінетичні криві витрачання ДФПГ у часі в присутності основи Шиффа госиполу з 2,5-диметоксіаніліном (GDMTA) наведено на рис 2.12.

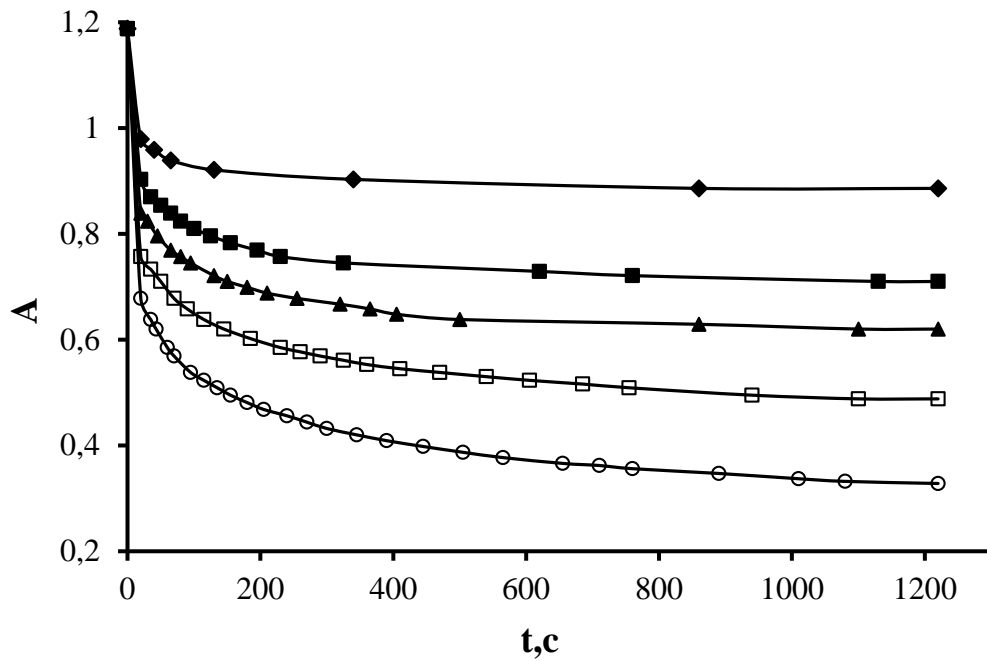


Рис. 2.12 Зниження оптичної густини в часі розчину ДФПГ при $\lambda=518$ нм в етанолі в присутності GDMTA при $T=298$ К (C_0 ДФПГ= $(1,0\pm 0,04)\times 10^{-4}$ М; \blacklozenge – C_0 GDMTA= $0,69\times 10^{-5}$ М; \blacksquare – C_0 GDMTA= $1,14\times 10^{-5}$ М; \blacktriangle – C_0 GDMTA= $1,37\times 10^{-5}$ М; \square – C_0 GDMTA= $1,83\times 10^{-5}$ М; \circ – C_0 GDMTA= $2,23\times 10^{-5}$ М).

Використовуючи залежності залишкового вмісту радикала (%) від концентрацій досліджуваних імінопохідних госиполу, розраховували EC_{50} .

Залишковий вміст радикала в реакційній суміші (Rad) визначали за формулою (2.8):

$$\text{Rad}(\%) = \frac{A_k}{A_0} \times 100, \quad (2.8)$$

де A_k – оптична густина при $\lambda=518$ нм по завершенні реакції;

A_0 – початкова оптична густина при $\lambda=518$ нм.

На рис. 2.13 наведено типовий графік залежності залишкового вмісту ДФПГ (%) від концентрації основи Шиффа госиполу з 2,5-диметоксианіліном (GDMTA).

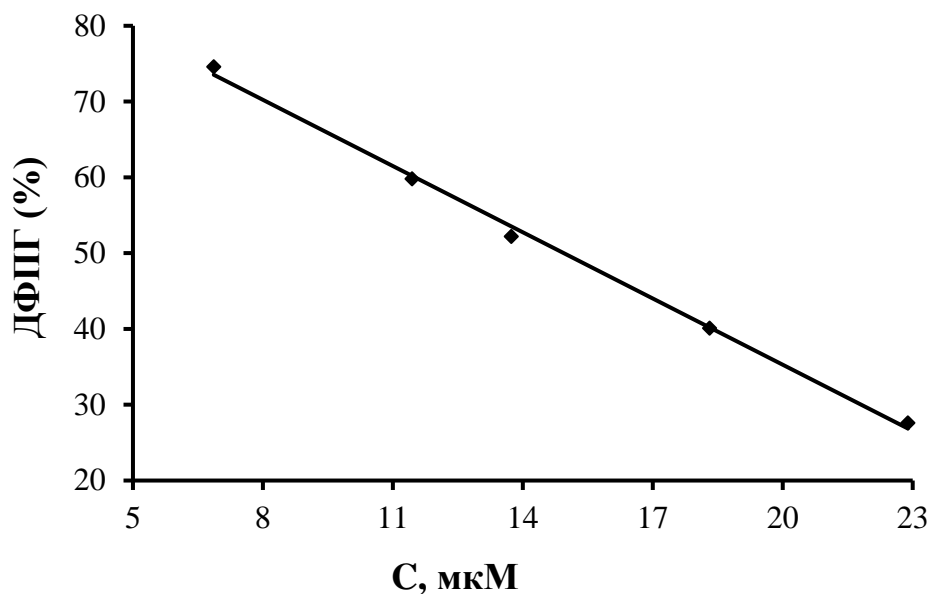


Рис. 2.13 Залежність залишкового вмісту ДФПГ (%) від концентрації GDMTA ($EC_{50}=(1,50\pm 0,08)\times 10^{-5}$ М; $C_{0\text{ДФПГ}}=(1,0\pm 0,04)\times 10^{-4}$ М).

Залежність залишкового вмісту ДФПГ (%) від початкової концентрації GDMTA в реакційній суміші має вигляд (2.9):

$$\begin{aligned} \text{ДФПГ}(\%) &= -2,9 \times C(\text{GDMTA}) + 94, & (2.9) \\ |R| &= 0,999; S = 1,10; n = 5; \end{aligned}$$

Визначення EC_{50} для реакції імінопохідних госиполу з катіон-радикалом АБТС проводили аналогічним чином.

2.11. Визначення стехіометричних коефіцієнтів

Важливим параметром, що характеризує реакції поліфенолів із вільними радикалами є стехіометричний коефіцієнт (n). Стехіометричний коефіцієнт визначається як кількість радикалів, що захоплює (здатна реагувати з ними) одна молекула антиоксиданту.

Обчислення стехіометричних коефіцієнтів реакцій імінопохідних госиполу з радикалом ДФПГ і катіон-радикалом АБТС проводили за формулою (2.10):

$$n = \frac{A_0 - A_k}{\varepsilon \times c_0 \times l} \quad (2.10)$$

де A_0 – початкова оптична густина;

A_k – оптична густина по завершенні реакції;

ε – молярний коефіцієнт екстинкції;

c_0 – початкова концентрація антиоксиданту в кюветі;

l – товщина кювети, см.

Стехіометричний коефіцієнт залежить від механізму реакції і структури антиоксиданту. Слід відзначити, що в реакцію з радикалами можуть вступати не тільки гідроксильні групи (або аміногрупи) вихідних антиоксидантів, але і гідроксильні групи продуктів реакції. Це призводить до збільшення значень стехіометричних коефіцієнтів. При аналізі експериментальних даних і розрахунку стехіометричних коефіцієнтів на це необхідно зважати.

2.12. Визначення величин VCEAC і TEAC

Окрім EC_{50} і стехіометричних коефіцієнтів, для оцінки антирадикальних властивостей використовували параметри VCEAC (vitamin C equivalent antioxidant capacity) і TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity). Величина VCEAC індивідуальної сполуки дорівнює концентрації розчину аскорбінової кислоти (мМ), що має таку саму антирадикальну дію, як розчин досліджуваної речовини з концентрацією 1 мМ [121, 124-126]. У випадку TEAC, як стандарт використовували водорозчинний аналог вітаміну Е – тролокс. Чим більше величини VCEAC і TEAC, тим більш ефективним антирадикальним агентом є сполука.

Для розрахунку величин VCEAC одержана залежність зменшення оптичної густини розчину, що містить АБТС⁺, від початкової концентрації аскорбінової кислоти.

На рис. 2.14 наведено типовий графік залежності зниження оптичної густини розчину, що містить АБТС⁺ (ΔA) від концентрації аскорбінової кислоти, який було використано при розрахунку величин VCEAC.

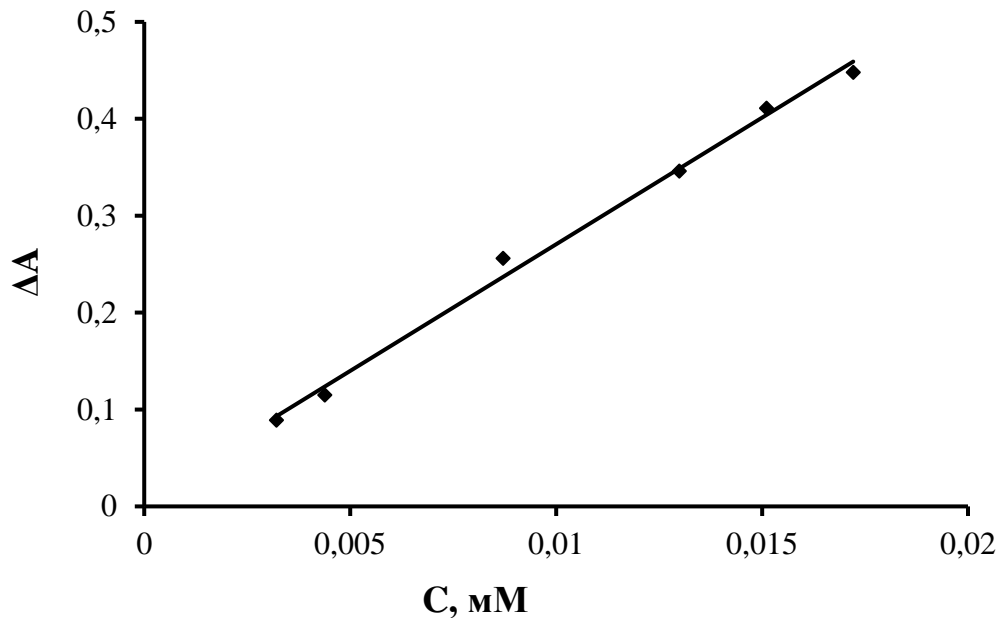


Рис. 2.14 Залежність зниження оптичної густини розчину, що містить АБТС⁺ (ΔA) від концентрації аскорбінової кислоти (C).

Між зниженням оптичної густини розчину, що містить АБТС⁺ і початковою концентрацією аскорбінової кислоти в реакційній суміші виконується лінійна залежність (2.11):

$$\Delta A = 26,1 \times C(\text{VC}) + 0,009, \quad (2.11)$$

$$|R| = 0,997; S = 0,01; n = 6;$$

де $C(\text{VC})$ – початкова концентрація аскорбінової кислоти (M).

Вимірювали зниження оптичної густини при 5 різних початкових концентраціях досліджуваного імінопохідного госиполу і за рівнянням (2.11),

визначали концентрації розчину аскорбінової кислоти, що має таку саму антирадикальну дію. З отриманої залежності знаходили значення VCEAC.

Визначення VCEAC (TEAC) для реакції імінопохідних госиполу з ДФПГ проводили аналогічним чином.

2.13. Визначення біологічної активності імінопохідних госиполу

Для визначення біологічної активності імінопохідних госиполу було проведено біотести на кореневій системі огірків (*Cucumis sativus L.*). Насіння огірка висівали на зволоженому дистильованою водою фільтрувальному папері і пророщували в темряві при постійній температурі 300 К. Через дві доби відбирали ті проростки, у яких корені досягли довжини 3-5 мм і по 10 штук вміщували в чашки Петрі на зволожений дистильованою водою фільтрувальний папір (попередньо просякнутий розчинами імінопохідних госиполу). Паралельно проводили експеримент без додавання імінопохідних госиполу, як контрольний дослід. Через дві доби проводили вимірювання довжини головного кореня і кількості бічних коренів. Їхній приріст виражали у відсотках до приросту довжини головного кореня і кількості бічних коренів контрольного дослід, який брали за 100 %. Статистичну обробку даних проводили з використанням *t*-критерія Стьюдента ($P=0,95$).

Окрім біотестів на кореневій системі огірків для прогнозування біологічної активності використовували QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) методи.

Висновки до розділу 2

Дослідження будови, спектрохімічних характеристик і антирадикальних властивостей було проведене із застосуванням сучасних спектроскопічних методів. Квантово-хімічні розрахунки, як допоміжний метод, досить добре доповнили експериментальні дані. Сумісне використання експериментальних і розрахункових методик сприяло одержанню об'єктивних результатів. Для проведення досліджень використовувались реактанти і розчинники високої чистоти. Вцілому, матеріали і методики, що були застосовані при дослідженні спектрохімічних характеристик і антирадикальних властивостей основ Шиффа і гідразонів госиполу, дозволили провести ґрунтовне дослідження цих сполуксполук.

Основні положення цього розділу викладені в роботах автора [145-147, 151, 157].

РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ БУДОВИ І ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ОСНОВ ШИФФА І ГІДРАЗОНІВ ГОСИПОЛУ

3.1. Дослідження будови основ Шиффа і гідразонів госиполу

3.1.1. Аналіз ЯМР спектрів

3.1.1.1. ^1H ЯМР спектри

Імінопохідні госиполу можуть існувати у двох таутомерних формах (дієнамінній та діїмінній).

Аналіз ^1H ЯМР спектрів свідчить, що всі досліджувані основи Шиффа госиполу (GDFA, GDBA, GMTA, GDMTA, GAMI, GDTA і GSAP) у CDCl_3 існують у дієнамінній таутомерній формі. Це підтверджується наявністю сигналів протонів N(13)–H груп в області 13,2–16,2 м.ч. (табл. 3.1). Зсув сигналів цих протонів у слабке поле обумовлений утворенням внутрішньомолекулярних водневих зв'язків N(13)–H \cdots O=C(7). У ^1H ЯМР спектрах також присутні сигнали протонів C(1)–OH і C(6)–OH груп. Реалізацію дієнамінної таутомерної форми додатково підтверджує наявність у ^1H ЯМР спектрах усіх досліджуваних основ Шиффа дублета протонів C(11)–H груп в області 10–11 м.ч. з константами спінової взаємодії $^3J(\text{HC}, \text{NH})=10\text{--}12$ Гц (рис. 3.1), що характерно для сполук, які існують у дієнамінній формі [56, 143, 144].

У ^1H ЯМР спектрах досліджуваних імінопохідних з аніліновими замісниками в області 7,0–7,8 м.ч. спостерігаються сигнали ароматичних протонів. Сигнал протона C(4)H групи проявляється у вигляді синглетна в області 7,6 м.ч. Положення цього сигналу в ^1H ЯМР спектрах не залежить від таутомерної форми.

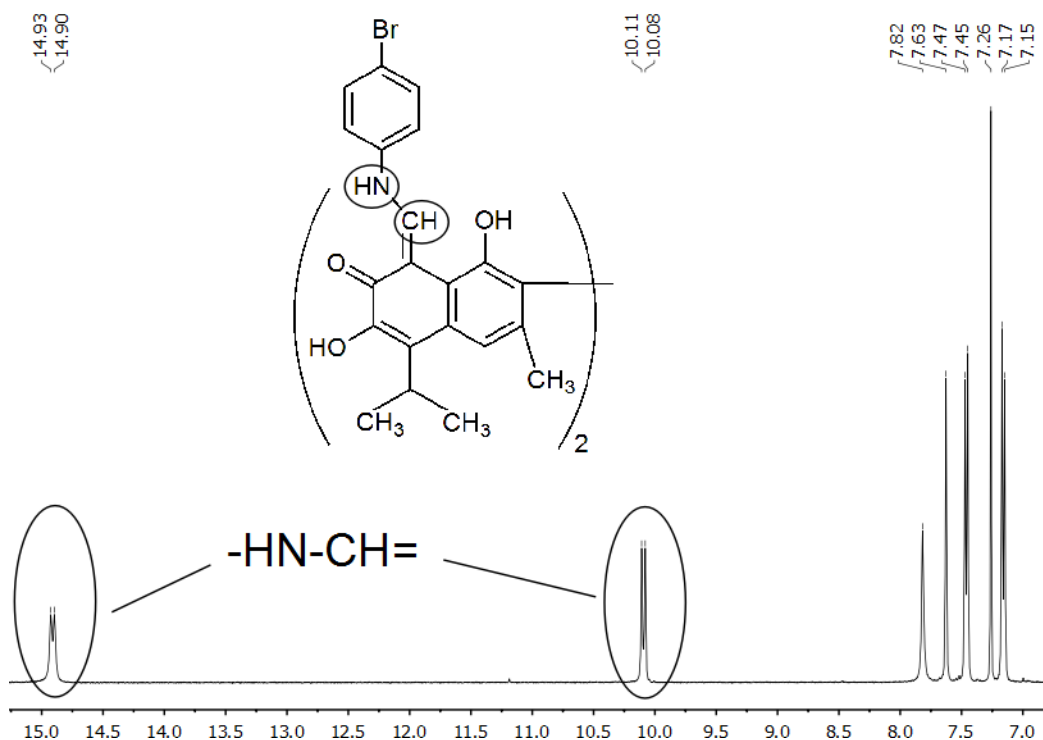


Рис. 3.1 ^1H ЯМР спектр основи Шиффа госиполу GDBA в CDCl_3 ($^3\text{J}(\text{HC}, \text{NH})=11,7$ Гц).

В табл. 3.1 наведено хімічні зсуви протонів деяких функціональних груп досліджуваних сполук в розчинах CDCl_3 .

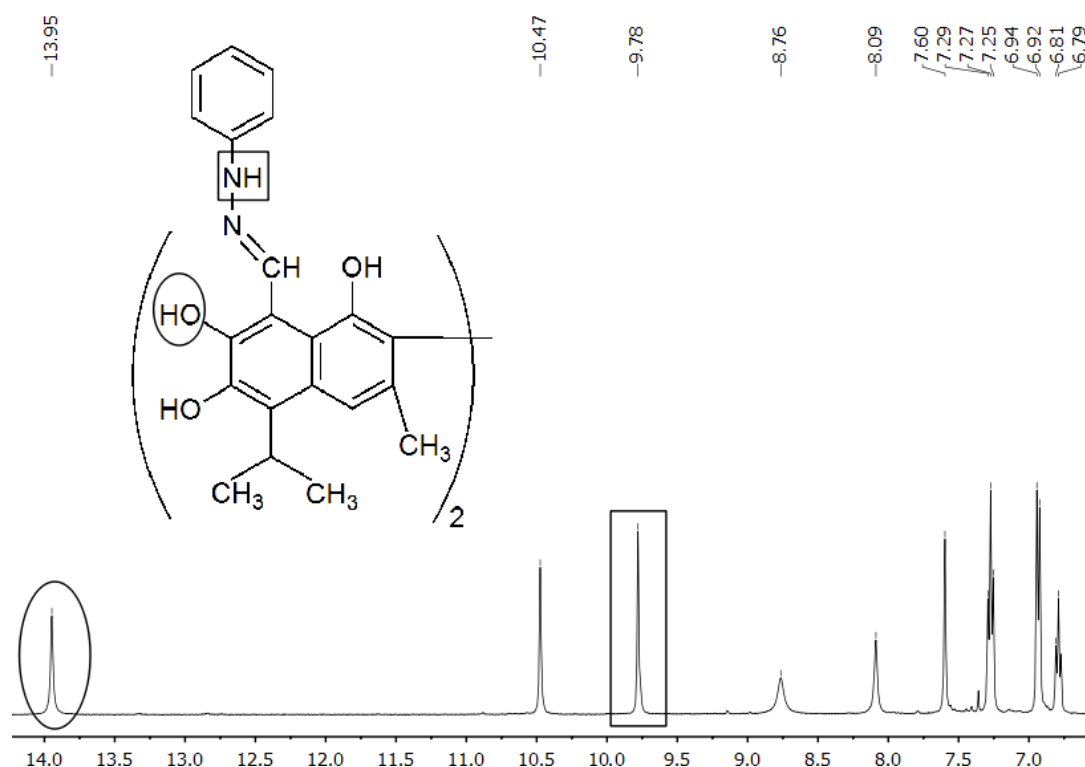
Таблиця 3.1

**Хімічні зсуви (м.ч.) протонів імінопохідних госиполу в CDCl_3
(нумерація згідно рис. 2.1)**

Група атомів	Хімічні зсуви, м.ч.							
	G DFA	G DBA	G MTA	G DMTA	G AMI	G DTA	G SAP	G DPG
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Me(1)	1,53	1,52	1,54	1,55	1,52	1,52	1,53	1,57
Me(2)	1,55	1,54	1,56	1,57	1,54	1,54	1,55	1,58
Me(3)	2,15	2,15	2,15	2,15	2,12	2,13	2,08	2,14
C(12)H	3,72	3,71	3,74	3,73	3,68	3,70	3,71	3,72
C(1)OH	5,79	5,79	5,77	5,79	5,79	5,21	5,74	5,66
C(6)OH	7,85	7,82	7,91	7,95	7,66	7,89	7,80	6,61

Продовж. табл. 3.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9
C(4)H	7,63	7,63	7,63	7,63	7,56	7,61	7,55	7,75
C(11)H	10,09	10,10	10,09	10,13	10,02	9,25	11,01	9,64
N(13)H	15,01	14,91	15,09	14,67	14,27	13,41	16,14	–
N(14)H	–	–	–	–	–	–	–	3,91
C(7)OH	–	–	–	–	–	–	–	13,85

Рис. 3.2 ^1H ЯМР спектр гідрозона госиполу GDPG в ДМСО- d_6 .

Синглети протонів C(7)–ОН і N(14)–Н груп присутні в ^1H ЯМР спектрах гідрозонів GDPG і GCTA в ДМСО- d_6 і CDCl_3 (табл. 3.1, табл. 3.2). Протони C(7)–ОН груп беруть участь в утворенні водневих зв'язків з атомами азоту N(13). Це призводить до зсуву їхніх сигналів в слабке поле у порівнянні з сигналами протонів C(1)–ОН і C(6)–ОН груп (рис. 3.2). Отже, для гідрозонів госиполу в розчинах реалізується діїмінна форма [145-149]. Зсув сигналів протонів N(14)–Н груп в слабке поле в ДМСО- d_6 , у порівнянні з сигналами цих протонів в CDCl_3 ,

обумовлений утворенням водневих зв'язків між цими протонами і розчинником [150].

Основи Шиффа госиполу G DFA, GMTA, GDMTA і GDTA в DMSO-d6, а основи Шиффа GDBA і GSAP в розчині CDCl₃/DMSO-d6, також існують у дієнамінній таутомерній формі. Зсув сигналів протонів їхніх C(1)–OH і C(6)–OH груп в слабке поле обумовлений утворенням водневих зв'язків з ДМСО-d6.

В табл. 3.2 наведено хімічні зсуви протонів деяких функціональних груп досліджуваних сполук в розчинах ДМСО-d6.

Таблиця 3.2

**Хімічні зсуви (м.ч.) протонів імінопохідних госиполу в ДМСО-d6
(нумерація згідно рис. 2.1)**

Група атомів	Хімічні зсуви, м.ч.							
	G DFA	GMTA	GDMTA	GAMI		GDTA	GDPG	GCTA
				діімін	дієнамін			
Me(1)	1,45	1,45	1,45	1,41	1,41	1,42	1,47	1,45
Me(2)	1,47	1,47	1,47	1,43	1,43	1,44	1,48	1,47
Me(3)	1,97	1,99	1,97	2,05	2,05	1,91	1,98	1,95
C(12)H	3,74	3,75	3,71	3,71	3,71	3,78	3,90	3,90
C(1)OH	8,25	8,18	8,32	7,60	7,41	7,66	8,09	8,36
C(6)OH	8,57	8,51	8,68	8,49	8,59	8,33	8,76	8,84
C(4)H	7,52	7,52	7,51	7,16	7,16	7,41	7,60	7,60
C(11)H	10,31	10,29	10,39	7,20	10,18	9,45	10,47	10,09
N(13)H	14,97	15,14	14,61	–	14,42	13,21	–	–
N(14)H	–	–	–	–	–	–	9,78	13,11
C(7)OH	–	–	–	9,88	–	–	13,95	14,25

У ¹H ЯМР спектрах усіх досліджуваних сполук в області 1,4–1,6 м.ч. спостерігаються два дублета, що частково перекриваються, з константами спінової взаємодії ³J(HC, CH)=6–7 Гц. Ці дублети віднесено до сигналів протонів

метильних груп Me(1) і Me(2). Розщеплення цих сигналів обумовлене діастереотопністю груп Me(1) і Me(2).

Причини, через які більшість основ Шиффа госиполу існують у дієнамінній таутомерній формі, не є цілком очевидними. Одним із факторів, що впливає на можливість реалізації дієнамінної форми, може бути внутрішньомолекулярний водневий зв'язок між воднем C(6)–ОН групи і киснем карбонільної групи C(7)=O [147, 151]. Існування цього зв'язку підтверджується зсувом сигналів протонів C(6)–ОН груп GDFА, GDBА, GMТА, GDMТА, GSAP і GDТА у хлороформі в слабке поле ($\delta=7,8-8,0$ м.ч.), тоді як для самого госиполу і гідразону GDPG сигнали цих протонів спостерігаються в області 6,5–7,0 м.ч.

Дані табл. 3.1 свідчать, що для GAMІ сигнал протона C(6)–ОН групи в CDCl₃, у порівнянні з іншими досліджуваними основами Шиффа, має незначний зсув у бік сильного поля. Отже, внутрішньомолекулярний водневий зв'язок C(6)O–H \cdots O=C(7) в молекулі GAMІ, що приймає участь у стабілізації дієнамінної форми, слабший ніж у інших основ Шиффа. При переході до більш полярного розчинника (ДМФА-d₇, ДМСО-d₆), сигнал протона C(6)–ОН групи зміщується в слабке поле, тобто утворюються міжмолекулярні водневі зв'язки з розчинником, що сприяє зсуву рівноваги в бік діїмінної таутомерної форми.

3.1.1.2. Визначення термодинамічних параметрів таутомерного переходу основи Шиффа госиполу з 3-аміно-5-метилізоксазолом

Згідно даних ¹H ЯМР спектрів, основа Шиффа госиполу GAMІ в розчинах ДМСО-d₆ і ДМФА-d₇ існує як у дієнамінній так і у діїмінній таутомерних формах. На це вказує наявність у спектрах сигналів протонів обох форм. Так у ¹H ЯМР спектрі GAMІ в ДМСО-d₆ сигнал протона C(11)–H групи діїмінної таутомерної форми знаходиться при $\delta=7,20$ м.ч. А при $\delta=9,88$ м.ч. спостерігається синглет протона C(7)–ОН групи. Дублети при $\delta=14,42$ м.ч. і $\delta=10,18$ м.ч. віднесені до протонів N(13)–H і C(11)–H груп дієнамінної таутомерної форми, відповідно (³J(HC, NH)=10,9 Гц) [147, 152].

Із співвідношення інтегральних інтенсивностей сигналів протонів С(11)–Н груп (у ДМФА-d7 $\delta=10,51$ м.ч.; у ДМСО-d6 $\delta=10,18$ м.ч.) і С(16)–Н груп (у ДМФА-d7 $\delta=5,96$ м.ч.; у ДМСО-d6 $\delta=5,70$ м.ч.) був визначений вміст дієнамінної таутомерної форми при $T=293$ К, що складає 60% в ДМФА-d7 і 10% в ДМСО-d6. При підвищенні температури від 293 К до 363 К в ДМСО-d6 вміст дієнамінної таутомерної форми зростає від 10% до 80%.

Для визначення термодинамічних параметрів реакції таутомерного переходу основи Шиффа ГАМІ, було проведено реєстрацію ^1H ЯМР спектрів у ДМСО-d6 при п'яти різних температурах ($T_1=296$ К; $T_2=308$ К; $T_3=323$ К; $T_4=348$ К; $T_5=363$ К). Далі, зіставлення інтегральних інтенсивностей сигналів протонів С(11)–Н груп дозволило визначити константи рівноваги. Використовуючи співвідношення $\Delta G = -RT \ln K$, було одержано значення вільної енергії Гіббса.

Далі, використовуючи рівняння $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$, була побудована залежність ΔG від температури для переходу діїмінної таутомерної форми в дієнамінну (рис. 3.3) і визначені ΔH і ΔS процесу.

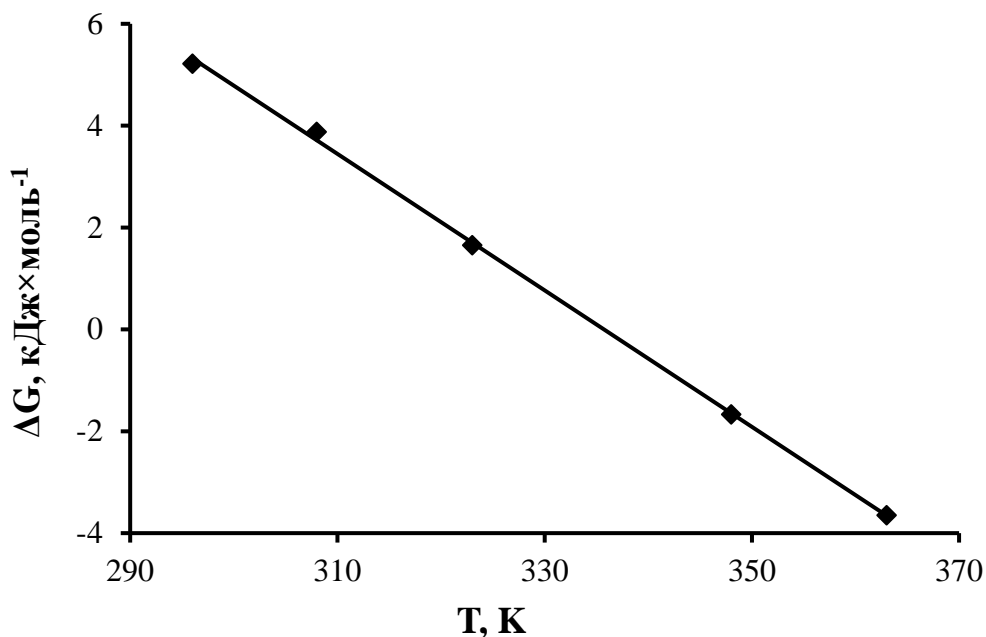


Рис. 3.3 Залежність ΔG (кДж×моль⁻¹) від температури (К) для таутомерного переходу діїмінної форми в дієнамінну.

Таким чином, термодинамічні параметри реакції таутомерного переходу основи Шиффа ГАМІ в ДМСО-d6 з діїмінної до дієнамінної форми складають: $\Delta G^{298} = 5,1 \pm 0,6$ кДж \times моль $^{-1}$, $\Delta H = 45,0 \pm 0,7$ кДж \times моль $^{-1}$, $\Delta S = -134 \pm 5$ Дж \times моль $^{-1} \times K^{-1}$.

3.1.1.3. ^{13}C ЯМР спектри

Дані ^{13}C ЯМР спектрів вказують на значну різницю між хімічними зсувами діїмінної та дієнамінної форм імінопохідних госиполу. Так, сигнали атомів C(6) і C(7) у випадку реалізації діїмінної форми зсунуті в бік сильного поля у порівнянні із сигналами цих атомів дієнамінної форми (табл. 3.3). Таким чином, реалізація діїмінної таутомерної форми в ДМСО-d6 підтверджується для ГАМІ, GDPG і GCTA. Основи Шиффа GDFA, GDBA, GMTA, GDMTA, GDTA і GSAP існують у дієнамінній таутомерній формі. Сигнали атомів C(1) основи Шиффа ГАМІ і гідрозона GDPG також зсунуті в бік сильного поля у порівнянні з іншими досліджуваними імінопохідними госиполу. Однак, у випадку гідрозона GCTA у діїмінній формі, положення сигналу атома C(1) таке ж як і в ^{13}C ЯМР спектрах основ Шиффа в дієнамінній таутомерній формі. Сигнали атомів C(8) в ^{13}C ЯМР спектрах основ Шиффа в дієнамінній формі мають незначний зсув у бік сильного поля у порівнянні з аналогічними сигналами імінопохідних у діїмінній формі [147, 153, 154]. Слід відмітити, що внаслідок таутомерних перетворень електронне оточення атома C(11) змінюється, а отже, змінюється і положення сигналу цього атома в ^{13}C ЯМР спектрі. Крім таутомерних перетворень істотний вплив на положення сигналу C(11) в ^{13}C ЯМР спектрі має імінний (або гідразиновий) фрагмент основ Шиффа (гідрозонів) госиполу.

Таким чином, метод ^{13}C ЯМР спектроскопії добре підходить для визначення таутомерних форм імінопохідних госиполу.

На рис. 3.4 наведено ^{13}C ЯМР спектр основи Шиффа госиполу GMTA.

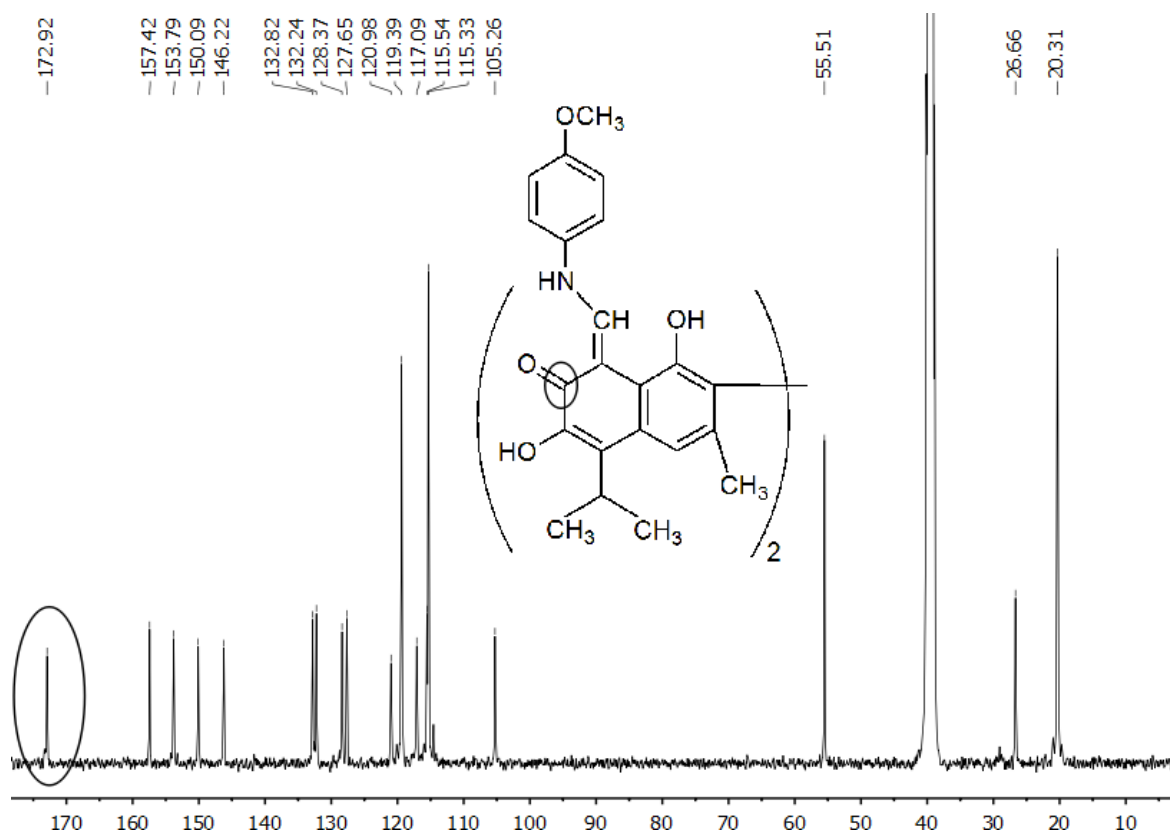


Рис. 3.4 ^{13}C ЯМР спектр основи Шиффа госиполу GMTA в ДМСО- d_6 .

В табл. 3.3 наведено хімічні зсуви досліджуваних імінопохідних в ^{13}C ЯМР спектрах в CDCl_3 і ДМСО- d_6 .

Таблиця 3.3

**Хімічні зсуви (м.ч.) в ^{13}C ЯМР спектрах в CDCl_3 і ДМСО- d_6
(нумерація згідно рис. 2.1)**

Номер атома вуглецю	ДМСО- d_6							CDCl_3	
	G DFA дієнамін	G MTA дієнамін	G DMTA дієнамін	G AMI діімін	G DTA дієнамін	G DPG діімін	G CTA діімін	G DBA дієнамін	G SAP дієнамін
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Me(1-3)	20,3	20,3	20,2	21,0	20,3	20,7	20,6	20,3	20,3
Me(4)	—	55,5	—	—	—	—	—	—	—
Me(5)	—	—	55,6	—	—	—	—	—	—
Me(6)	—	—	56,5	—	—	—	—	—	—
Me(7)	—	—	—	12,1	—	—	—	—	—

^a – в спектрі GDFA спостерігається розщеплення сигналу C(18) внаслідок спіно-спінової взаємодії з ядром F; $^1J(C, F)=243$ Гц.

На рис. 3.5 наведено кореляцію між експериментальними ($\delta_{\text{експ}}$) і розрахованими (δ_p) значеннями хімічних зсувів у ^{13}C ЯМР спектрах основи Шиффа GAMI.

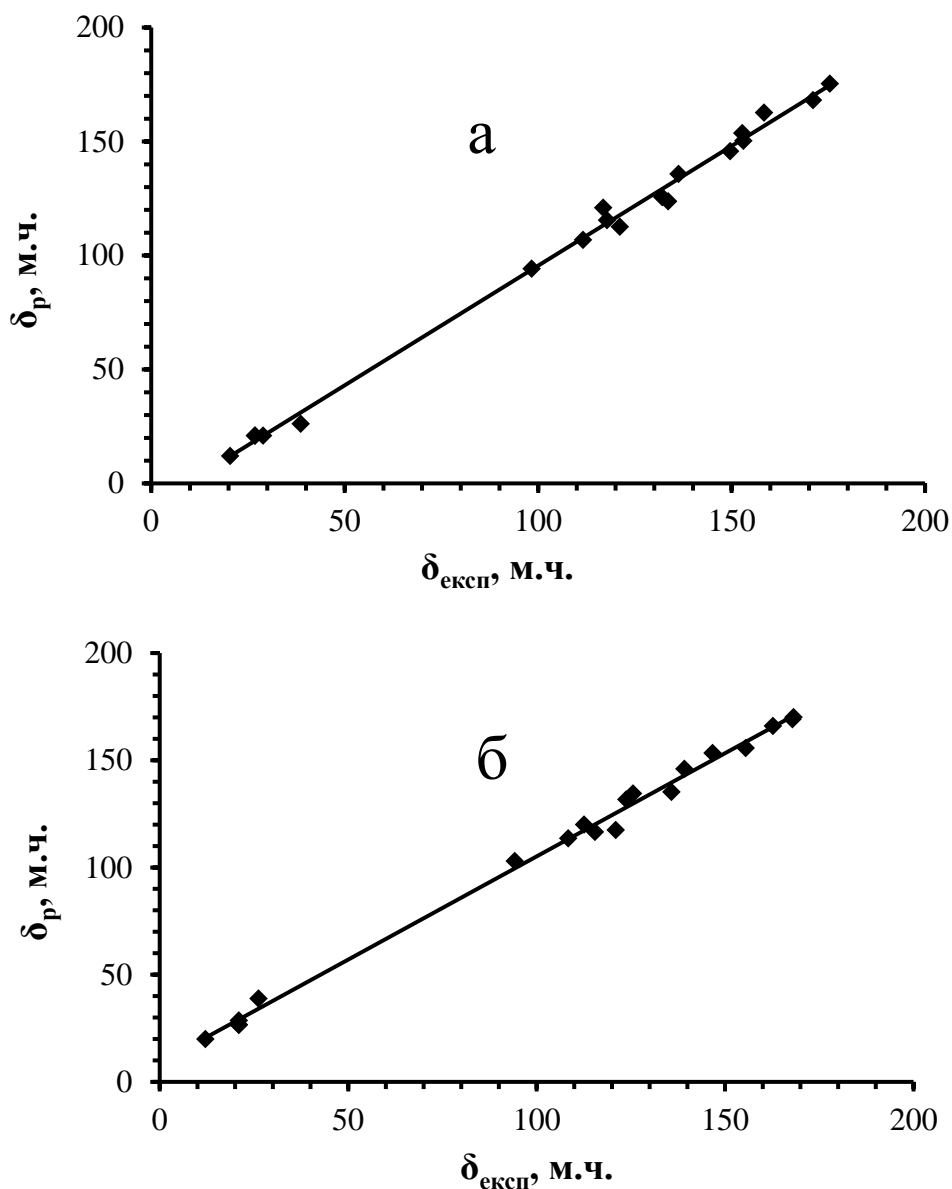


Рис. 3.5 Кореляція між експериментальними ($\delta_{\text{експ}}$) і розрахованими (δ_p) значеннями хімічних зсувів у ^{13}C ЯМР спектрах основи Шиффа GAMI: а – дієнамінна форма ($\delta_p=0,95(\pm 0,02)\delta_{\text{експ}}+9,4(\pm 1,8)$; $|R|=0,998$; $S=3,58$; $n=19$); б – діїмінна форма ($\delta_p=0,96(\pm 0,02)\delta_{\text{експ}}+8,9(\pm 1,8)$; $|R|=0,998$; $S=3,56$; $n=19$).

Для повного віднесення усіх сигналів у ^{13}C ЯМР спектрах паралельно із експериментальними двомірними ЯМР методиками, було застосовано моделювання ^{13}C ЯМР спектрів за допомогою квантово-хімічних розрахунків. Такий підхід дозволив виконати повне віднесення хімічних зсувів усіх досліджуваних сполук і обох таутомерних форм основи Шиффа ГАМІ в ДМСО-d6 (рис. 3.5). Добре узгодження експериментальних і розрахованих величин хімічних зсувів підтверджується високими значеннями коефіцієнтів кореляції (не нижче 0,998).

У ^{13}C ЯМР спектрі ГАМІ в ДМСО-d6 спостерігаються сигнали атомів C(1), C(6), C(7), C(8) і C(11) діїмінної таутомерної форми ($\delta=146,7$ м.ч.; $\delta=139,2$ м.ч.; $\delta=155,5$ м.ч.; $\delta=108,4$ м.ч. і $\delta=167,9$ м.ч., відповідно) [151]. Сигнали цих атомів дієнамінної таутомерної форми реєструються з меншою інтенсивністю ($\delta=150,3$ м.ч.; $\delta=145,8$ м.ч.; $\delta=175,4$ м.ч.; $\delta=106,9$ м.ч. і $\delta=153,7$ м.ч., відповідно).

3.1.2. Аналіз УФ спектрів

Аналіз УФ спектрів імінопохідних госиполу в хлороформі свідчить, що найбільш характерні смуги поглинання основ Шиффа госиполу в дієнамінній таутомерній формі знаходяться в області 385–480 нм. Молярні коефіцієнти екстинкції цих смуг поглинання змінюються в межах від $16000 \text{ л} \times \text{моль}^{-1} \times \text{см}^{-1}$ до $45000 \text{ л} \times \text{моль}^{-1} \times \text{см}^{-1}$. При переході від хлороформу до ДМСО відбувається батохромний зсув довгохвильових смуг поглинання, а їхня інтенсивність зменшується. Це відбувається внаслідок утворення міжмолекулярних водневих зв'язків з розчинником. Довгохвильові смуги поглинання гідразонів у діїмінній формі знаходяться в області 385–395 нм.

В УФ спектрі ГАМІ в хлороформі при $T=293 \text{ К}$ спостерігаються три смуги поглинання: при $\lambda=250 \text{ нм}$, при $\lambda=310 \text{ нм}$ і при $\lambda=425 \text{ нм}$ ($\epsilon=67000 \text{ л} \times \text{моль}^{-1} \times \text{см}^{-1}$; $\epsilon=26000 \text{ л} \times \text{моль}^{-1} \times \text{см}^{-1}$; $\epsilon=30000 \text{ л} \times \text{моль}^{-1} \times \text{см}^{-1}$, відповідно) (рис. 3.6). При переході до ДМСО відбувається зсув усіх смуг поглинання ($\lambda=262 \text{ нм}$; $\lambda=300 \text{ нм}$ і $\lambda=442 \text{ нм}$, відповідно). Крім того спостерігається значне зниження інтенсивності

найбільш довгохвильової смуги (від $\varepsilon=30000 \text{ л} \times \text{моль}^{-1} \times \text{см}^{-1}$ до $\text{л} \times \text{моль}^{-1} \times \text{см}^{-1}$).

$\varepsilon=6200$

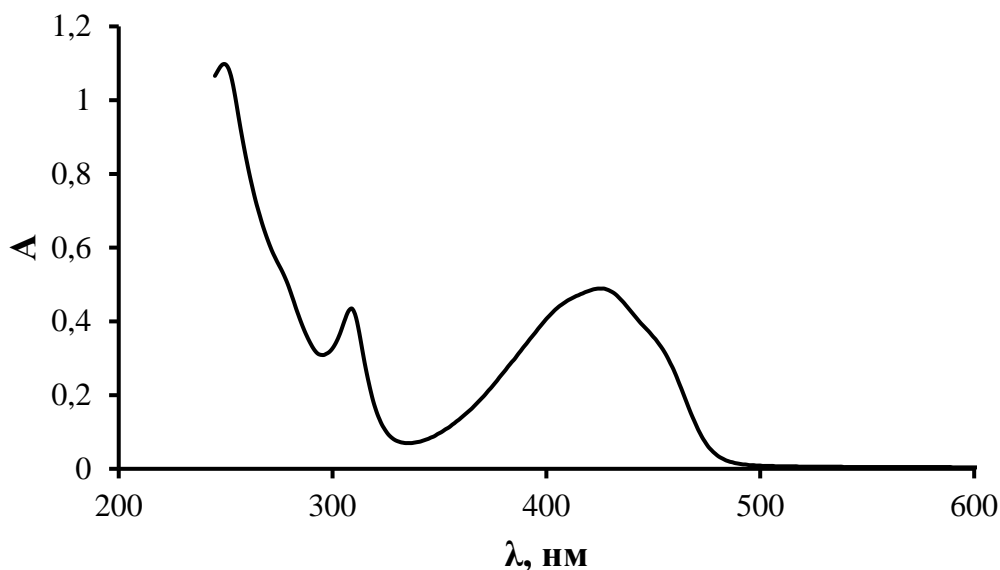


Рис. 3.6 УФ спектр основи Шиффа госиполу GAMI в хлороформі.

Підвищення температури призводить до збільшення інтенсивності довгохвильової смуги поглинання в ДМСО [147]. Інтенсивності смуг поглинання з максимумами при $\lambda=262 \text{ нм}$ і $\lambda=300 \text{ нм}$ практично не змінюються.

На рис. 3.7 неведений УФ спектр основи Шиффа госиполу з 3-аміно-5-метилізоксазолом (GAMI) в ДМСО при різних температурах.

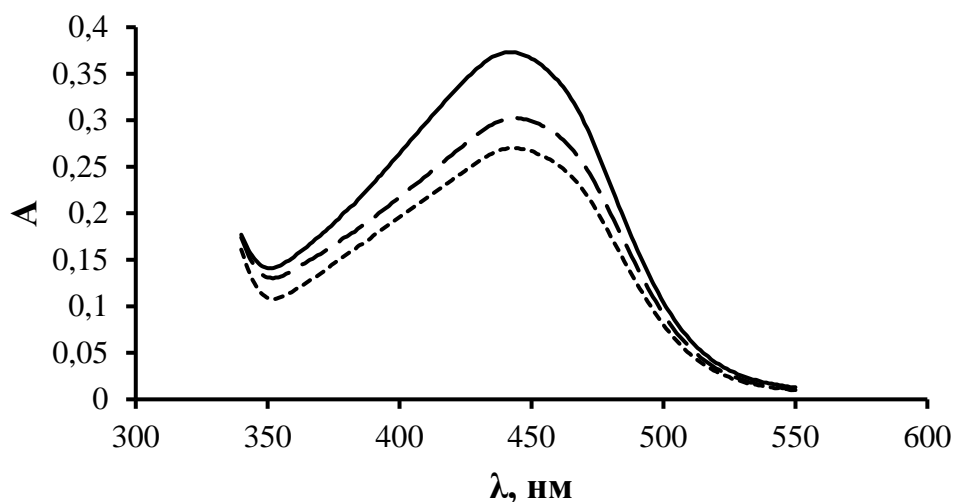


Рис. 3.7 УФ спектр основи Шиффа госиполу GAMI в ДМСО при різних температурах (- - - 298 К; - - - 308 К; — 328 К).

Згідно даним квантово-хімічних розрахунків, широка смуга поглинання в експериментальному спектрі при $\lambda=425$ нм (рис. 3.6) складається із п'яти окремих смуг ($\lambda=430$ нм; $\lambda=426$ нм; $\lambda=421$ нм; $\lambda=417$ нм і $\lambda=402$ нм). Для кожної розрахованої смуги були розглянуті електронні переходи, внесок яких у відповідну смугу поглинання складає не менше 10 %. А висновки про природу цих переходів були зроблені на основі аналізу локалізації відповідних молекулярних орбіталей. Смуга при $\lambda=430$ нм має найбільшу силу осцилятора ($f=0,327$). Цій смузі поглинання відповідають три електронних переходи. Перший і другий переходи обумовлюють перерозподіл електронної густини у нафтільних фрагментах з частковим переміщенням електронної густини на C–N–C групу імінного фрагмента. Третій перехід відбувається між вищою зайнятою і найнижчою вакантною молекулярними орбіталами. Як і у попередньо розглянутих випадках, відбувається перерозподіл електронної густини у нафтільних фрагментах з частковим переміщенням електронної густини на C–N–C групу імінного фрагмента. В усіх випадках електронна густина частково розміщується на карбонільній групі. Всі три переходи можуть бути віднесені до електронних переходів $\pi \rightarrow \pi^*$ типу.

Друга смуга поглинання ($\lambda=426$ нм) має силу осцилятора $f=0,244$. Цій смузі поглинання відповідають два електронних переходи. Перший електронний перехід обумовлює перерозподіл електронної густини між нафтільними фрагментами (зі зміщенням від центрального зв'язку C(2)–C(2') між двома половинами імінопохідного в бік C=O групи, C–N групи та ізоксазольного кільця) (рис. 3.8). Другий електронний перехід обумовлює перерозподіл електронної густини від центрального C(2)–C(2') зв'язку, C=C зв'язків нафтільних фрагментів і C–O зв'язку C(6)ОН групи на C–N групу та ізоксазольне кільце. Обидва переходи можуть бути віднесені до електронних переходів $\pi \rightarrow \pi^*$ типу.

Третя смуга поглинання ($\lambda=421$ нм) має силу осцилятора $f=0,064$. Цій смузі поглинання відповідають три електронних переходи. Всі три електронні переходи обумовлюють перерозподіл електронної густини від C=C зв'язків нафтільного фрагменту біля центрального C(2)–C(2') зв'язку і C–O групи (C(1)ОН)) на частину

нафтільного фрагменту, що містить C=O групу і на C–N групу та ізоксазольне кільце. Ці переходи можуть бути віднесені до електронних переходів $\pi \rightarrow \pi^*$ типу.

Четверта смуга поглинання ($\lambda=417$ нм) має силу осцилятора $f=0,259$. Цій смузі поглинання відповідають три електронних переходи. Всі три електронні переходи обумовлюють перерозподіл електронної густини від центрального C(2)–C(2') зв'язку і частини нафтільного фрагменту біля центрального зв'язку, а також C–O групи (C(6)OH) на частину нафтільного фрагменту, що містить C=O групу і на C–N–C групу імінного фрагменту та ізоксазольне кільце. Ці переходи можуть бути віднесені до електронних переходів $\pi \rightarrow \pi^*$ типу.

П'ята смуга поглинання ($\lambda=402$ нм) має силу осцилятора $f=0,002$. В експериментальному спектрі вона не спостерігається.

При переході до діїмінної таутомерної форми відбувається перенос протона від N(13)–H групи на карбонільний атом кисню, внаслідок чого змінюється електронна структура молекули. Це призводить до появи близько розташованих одна до одної двох смуг поглинання у короткохвильовій області ($\lambda=375$ нм і $\lambda=371$ нм). Перша смуга поглинання ($\lambda=375$ нм) має силу осцилятора $f=0,176$. Цій смузі відповідають два електронних переходи. Обидва переходи обумовлюють перерозподіл електронної густини від нафтільних фрагментів і гідроксильних груп (C(6)OH) на C=N групу та ізоксазольне кільце. Ці переходи можуть бути віднесені до електронних переходів $\pi \rightarrow \pi^*$ типу. Друга смуга поглинання ($\lambda=371$ нм) має силу осцилятора $f=0,025$. Через низьку інтенсивність ця смуга поглинання практично не має впливу на загальний вигляд спектра і детально не розглядалась. В експериментальному спектрі в ДМСО (присутня діїмінна форма) ці смуги поглинання практично повністю перекривається інтенсивною широкою смугою при $\lambda=300$ нм.

Крім того, у розрахованому спектрі діїмінної таутомерної форми спостерігається три окремі смуги поглинання в області 420 нм. Але інтенсивність цих смуг зменшується у порівнянні із аналогічними смугами поглинання для дієнамінної таутомерної форми.

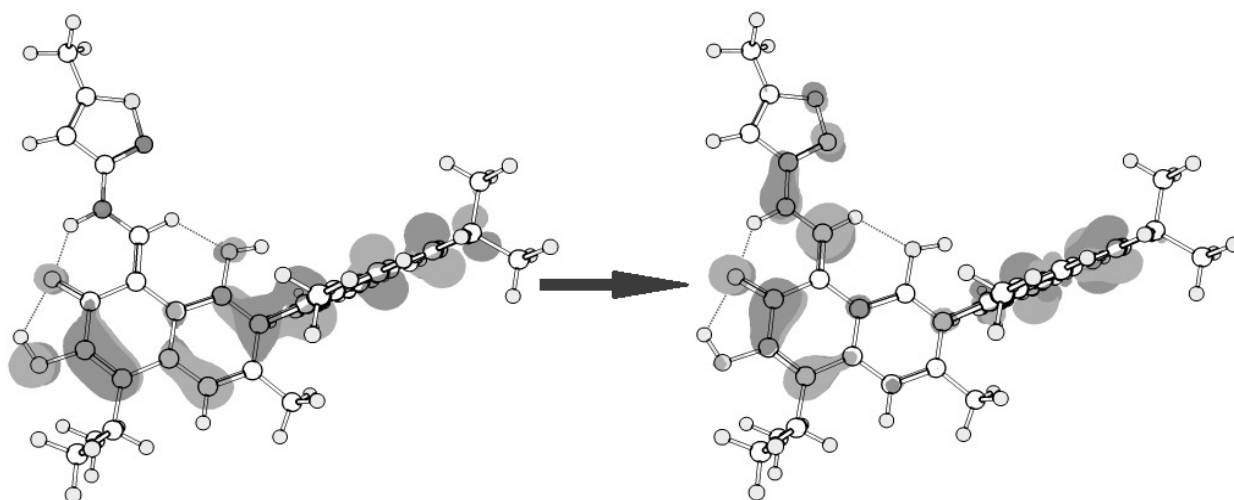


Рис. 3.8 8 Електронний перехід $\pi \rightarrow \pi^*$ типу в молекулі GAM1 (дієнамінна форма) з перерозподілом електронної густини від нафтільних фрагментів на C–N групу та ізоксазольне кільце, що відповідає смузі поглинання при $\lambda=426$ нм.

На рис. 3.9 наведений електронний перехід $\pi \rightarrow \pi^*$ типу в молекулі GAM1 (діімінна форма) з перерозподілом електронної густини від нафтільних фрагментів і гідроксильних груп на C=N групу та ізоксазольне кільце, що відповідає смузі поглинання при $\lambda=375$ нм.

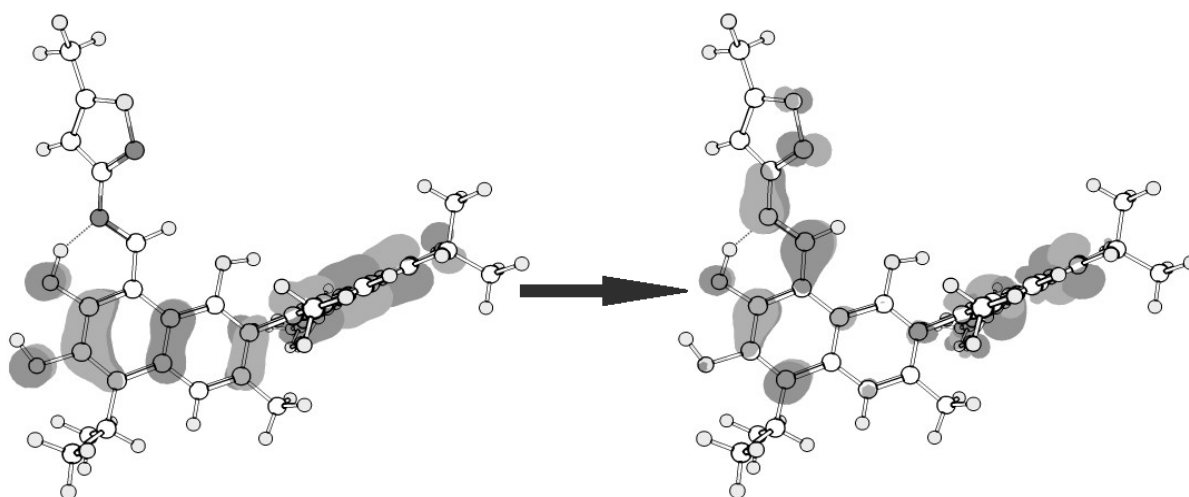


Рис. 3.9 Електронний перехід $\pi \rightarrow \pi^*$ типу в молекулі GAM1 (діімінна форма) з перерозподілом електронної густини від нафтільних фрагментів і гідроксильних груп на C=N групу та ізоксазольне кільце, що відповідає смузі поглинання при $\lambda=375$ нм.

Отже, в експериментальному УФ спектрі ГАМІ зниження інтенсивності найбільш довгохвильової смуги поглинання при переході від хлороформу до ДМСО пояснюється зміщенням таутомерної рівноваги в бік діїмінної форми, що узгоджується з даними ЯМР спектроскопії.

3.1.3. Аналіз ІЧ спектрів

В ІЧ спектрах досліджуваних сполук в KBr реєструються інтенсивні смуги поглинання в області 1600–1620 cm^{-1} . Ці смуги можуть бути віднесені до кільцевих коливань нафтільного фрагменту, а також до валентних коливань $\text{C}(7)=\text{O}$ групи (дієнамінна таутомерна форма). В ІЧ спектрі основи Шиффа GSAP при 1652 cm^{-1} реєструється інтенсивна смуга поглинання, що відповідає валентним коливанням $\text{C}=\text{O}$ групи антипіринового фрагменту. В ІЧ спектрі гідрозона GCTA смуга поглинання при 1691 cm^{-1} відповідає коливанням $\nu(\text{C}(15)=\text{O})$. Відмінності в спектрах основ Шиффа і гідрозонів госиполу спостерігаються в області валентних коливань $\text{O}-\text{H}$ і $\text{N}-\text{H}$ груп. Так, у випадку основ Шиффа спостерігаються інтенсивні широкі смуги в області $\sim 3480 \text{ cm}^{-1}$ і $\sim 3350 \text{ cm}^{-1}$, що відповідають коливанням $\nu(\text{O}-\text{H})$ ($\text{C}(1)\text{O}-\text{H}$ і $\text{C}(6)\text{O}-\text{H}$ груп, відповідно). У випадку гідрозонів госиполу в ІЧ спектрі з'являється смуга поглинання при $\sim 3400 \text{ cm}^{-1}$ (рис. 3.10). Очевидно, ця смуга відповідає коливанням $\nu(\text{O}-\text{H})$ $\text{C}(7)\text{O}-\text{H}$ групи. В області $\sim 1500\sim 1600 \text{ cm}^{-1}$ спостерігаються смуги поглинання, що відповідають коливанням $\nu(\text{C}=\text{C})$. В ІЧ спектрі гідрозона GCTA в цій області спостерігаються менш інтенсивні смуги, ніж у інших досліджуваних імінопохідних госиполу. Це, імовірно, обумовлене відсутністю $\text{C}=\text{C}$ зв'язків в імінному фрагменті [155, 156].

На рис. 3.10 наведено ІЧ спектр гідрозона госиполу GDPG в KBr.

Для визначення таутомерної форми основи Шиффа ГАМІ в твердому стані, були проведені розрахунки ІЧ спектрів дієнамінної і діїмінної таутомерних форм цієї сполуки.

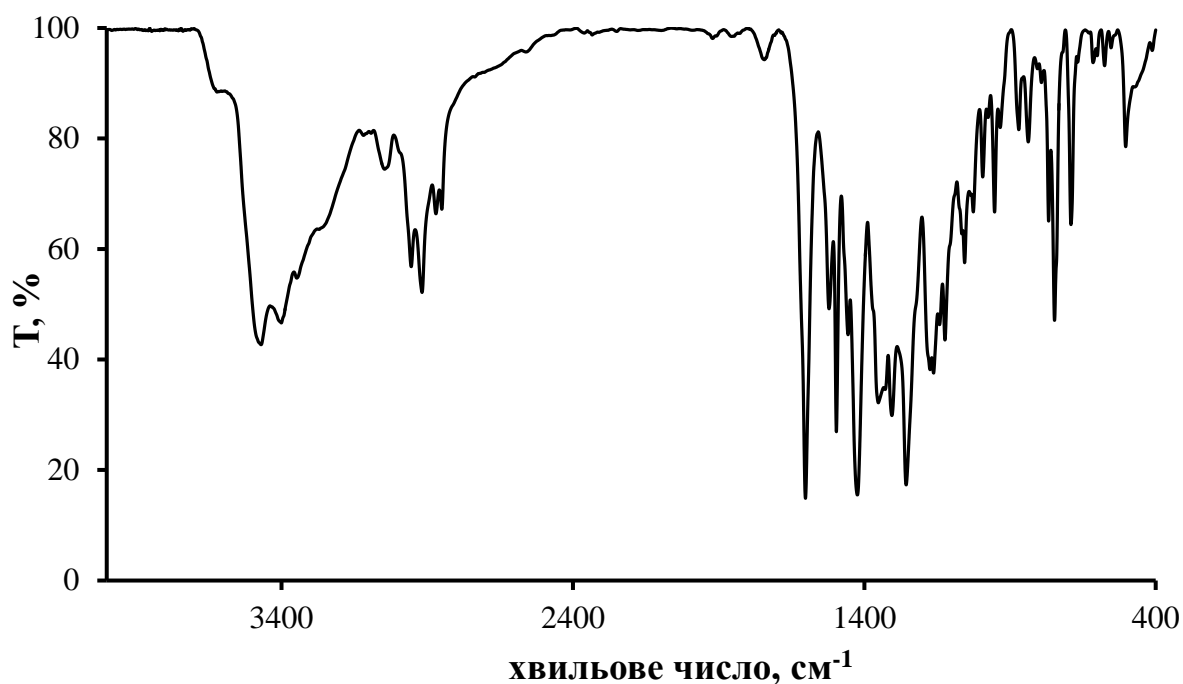


Рис. 3.10 ІЧ спектр гідразона госиполу GDPG в KBr.

На рис. 3.11 наведено нумерацію атомів і фрагментів молекули GAMІ (дієнамінна форма), що була використана при віднесенні смуг в ІЧ спектрі. В табл. 3.4 наведено віднесення смуг поглинання в ІЧ спектрі молекули GAMІ.

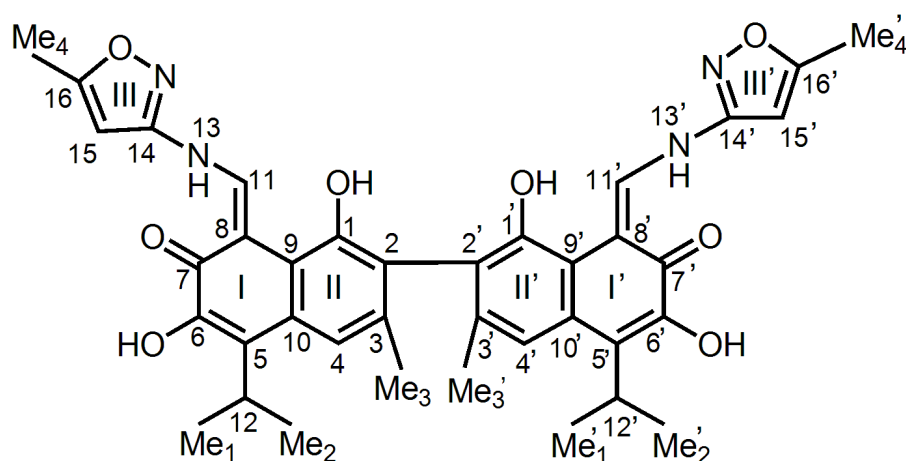


Рис. 3.11 Нумерація атомів і фрагментів молекули GAMІ (дієнамінна форма), що була використана при віднесенні смуг в ІЧ спектрі (Me=CH₃).

Експериментальні коливальні частоти зазвичай менші розрахованих [139]. Така невідповідність викликана неврахуванням ангармонічності реальних

коливань [139]. Відносно однорідний характер завищення частот розрахованих гармонічних коливань для конкретних методів розрахунку дозволяє використовувати масштабуючі множники.

Зіставлення експериментального і розрахованого ІЧ спектрів ГАМІ в дієнамінній таутомерній формі свідчить про добре узгодження положення смуг поглинання, що відповідають $\nu(\text{O}_{1,1'}\text{-H})$ і $\nu(\text{O}_{6,6'}\text{-H})$ (табл. 3.4). В експериментальному ІЧ спектрі при 1605 cm^{-1} спостерігається інтенсивна смуга поглинання. В розрахованому ІЧ спектрі (дієнамінна форма) при 1604 cm^{-1} знаходиться аналогічна смуга поглинання, яка відповідає коливанням $\delta(\text{N}_{13,13'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{15,15'}=\text{C}_{16,16'}) + \nu(\text{C}_{7,7'}=\text{O})$. Причому, згідно розрахунків внесок потенційної енергії коливання $\nu(\text{C}_{7,7'}=\text{O})$ для смуги при 1604 cm^{-1} складає всього 2,7 %. А найбільший внесок потенційної енергії $\nu(\text{C}_{7,7'}=\text{O})$ спостерігається для смуги, що має середню інтенсивність і знаходиться при 1576 cm^{-1} (39,0 %). Таке нехарактерне для карбонільної групи положення смуги поглинання в ІЧ спектрі може бути обумовлене утворенням внутрішньомолекулярних водневих зв'язків $\text{O-H}\cdots\text{O}=\text{C}$ і $\text{N-H}\cdots\text{O}=\text{C}$. В розрахованому ІЧ спектрі діїмінної таутомерної форми, окрім смуг поглинання, що відповідають коливанням $\nu(\text{O}_{1,1'}\text{-H})$ і $\nu(\text{O}_{6,6'}\text{-H})$, з'являється додаткова інтенсивна смуга поглинання в області 3000 cm^{-1} , що відповідає коливанням $\nu(\text{O-H})$. Інтенсивна смуга при 1604 cm^{-1} (яка є характерною для імінопохідних госиполу в дієнамінній формі) зникає, а замість неї з'являється інтенсивна смуга поглинання при 1564 cm^{-1} , що відповідає коливанням $\nu(\text{C}=\text{N}) + \nu(\text{C}=\text{C})$. Отже, зіставлення експериментального і розрахованих ІЧ спектрів основи Шиффа ГАМІ свідчить, що в твердому стані ця сполука існує в дієнамінній таутомерній формі.

На рис. 3.12 наведено експериментальний і розрахований (дієнамінна форма) ІЧ спектри основи Шиффа ГАМІ.

Таблиця 3.4

Віднесення смуг поглинання в ІЧ спектрі молекули ГАМІ

(метод розрахунку B3LYP/6-31G(d); нумерація згідно рис. 3.11)

Експериментальні частоти, см ⁻¹	Розраховані частоти, см ⁻¹	Коливання ^a
1	2	3
3491	3483	$\nu(\text{O}_{1,1'}\text{-H})$
3327	3327	$\nu(\text{O}_{6,6'}\text{-H})$
3134	3151	$\nu(\text{C}_{11,11'}\text{-H}) + \nu(\text{N}_{13,13'}\text{-H})$
3107	3114	$\nu(\text{N}_{13,13'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{11,11'}\text{-H})$
	3100	$\nu(\text{C}_{4,4'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{12,12'}\text{-H})$
2963	3029	$\nu^{\text{as}}(\text{C-H})_{\text{Me}1,1'} + \nu^{\text{as}}(\text{C-H})_{\text{Me}2,2'} + \nu(\text{C}_{12,12'}\text{-H})$
	3009	$\nu^{\text{as}}(\text{C-H})_{\text{Me}3,3'}$
	2992	$\nu^{\text{as}}(\text{C-H})_{\text{Me}1,1'} + \nu^{\text{as}}(\text{C-H})_{\text{Me}2,2'} + \nu^{\text{as}}(\text{C-H})_{\text{Me}4,4'}$
	2981	$\nu^{\text{as}}(\text{C-H})_{\text{Me}3,3'} + \nu(\text{C}_{12,12'}\text{-H})$
2928	2933	$\nu^{\text{s}}(\text{C-H})_{\text{Me}4,4'}$
	2924	$\nu^{\text{s}}(\text{C-H})_{\text{Me}1,1'} + \nu^{\text{s}}(\text{C-H})_{\text{Me}2,2'}$
	2921	$\nu^{\text{s}}(\text{C-H})_{\text{Me}1,1'} + \nu^{\text{s}}(\text{C-H})_{\text{Me}2,2'}$
	2919	$\nu^{\text{s}}(\text{C-H})_{\text{Me}3,3'}$
1624	1634	$\nu(\text{C}_{5,5'}=\text{C}_{6,6'}) + \delta(\text{N}_{13,13'}\text{-H})$
	1625	$\delta(\text{N}_{13,13'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{11,11'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{15,15'}=\text{C}_{16,16'})$
1605	1604	$\delta(\text{N}_{13,13'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{15,15'}=\text{C}_{16,16'}) + \nu(\text{C}_{7,7'}=\text{O})$
	1599	$\nu(\text{R}_{\text{I,I'}}) + \nu(\text{R}_{\text{II,II'}})$
1553	1576	$\nu(\text{C}_{7,7'}=\text{O}) + \delta(\text{N}_{13,13'}\text{-H})$
1512	1518	$\nu(\text{C}_{8,8'}=\text{C}_{11,11'}) + \delta(\text{N}_{13,13'}\text{-H}) + \nu(\text{C}=\text{N})_{\text{RIII,III'}}$
	1513	$\nu(\text{C}_{2,2'}=\text{C}_{3,3'}) + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}3,3'}$
1485	1489	$\delta(\text{O}_{1,1'}\text{-H}) + \delta(\text{O}_{6,6'}\text{-H}) + \nu(\text{C}=\text{N})_{\text{RIII,III'}} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}1,1'} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}2,2'} + \delta(\text{C}_{12,12'}\text{-H})$
	1486	$\nu(\text{C}_{7,7'}=\text{C}_{8,8'}) + \delta(\text{O}_{1,1'}\text{-H}) + \delta(\text{O}_{6,6'}\text{-H}) + \nu(\text{C}=\text{N})_{\text{RIII,III'}} + \delta(\text{C}_{4,4'}\text{-H}) + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}1,1'} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}2,2'} + \delta(\text{C}_{12,12'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{16,16'}-\text{C}_{\text{Me}4,4'})$
1462	1473	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me}1,1'} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}2,2'} + \delta(\text{C}_{12,12'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{11,11'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{14,14'}=\text{C}_{15,15'})$
	1468	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me}1,1'} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}2,2'} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}4,4'} + \delta(\text{O}_{1,1'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{14,14'}=\text{C}_{15,15'}) + \delta(\text{C}_{11,11'}\text{-H})$
	1462	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me}1,1'} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}2,2'} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}4,4'} + \delta(\text{O}_{1,1'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{14,14'}=\text{C}_{15,15'}) + \delta(\text{C}_{11,11'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{15,15'}\text{-H})$
	1454	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me}1,1'} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}2,2'} + \delta(\text{C}_{12,12'}\text{-H})$
	1449	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me}3,3'} + \nu(\text{C}_{1,1'}=\text{C}_{9,9'})$

Продовж. табл. 3.4

1	2	3
1423	1436	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me}4,4'} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}3,3'}$

	1433	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me3,3}'}$
	1427	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me4,4}'}$
	1424	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me3,3}'} + \delta(\text{C}_{12,12'}\text{-H}) + \delta(\text{O}_{1,1'}\text{-H}) + \delta(\text{O}_{6,6'}\text{-H}) + \delta(\text{C-H})_{\text{Me4,4}'}$
	1423	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me3,3}'} + \delta(\text{C}_{12,12'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{4,4'}\text{-H}) + \delta(\text{O}_{1,1'}\text{-H}) + \delta(\text{O}_{6,6'}\text{-H}) + \delta(\text{C-H})_{\text{Me4,4}'} + \nu(\text{C}_{6,6'}\text{-C}_{7,7'})$
	1411	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me3,3}'} + \nu(\text{C}_{1,1'}\text{-C}_{9,9'}) + \nu(\text{C}_2\text{-C}_2')$
1383	1396	$\nu(\text{C}_{2,2'}\text{-C}_{3,3'}) + \delta(\text{C}_{4,4'}\text{-H}) + \delta(\text{C-H})_{\text{Me3,3}'} + \delta(\text{O}_{6,6'}\text{-H})$
	1375	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me3,3}'} + \delta(\text{C}_{12,12'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{4,4'}\text{-H})$
	1367	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me1,1}'} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me2,2}'} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me3,3}'} + \delta(\text{O}_{6,6'}\text{-H})$
	1365	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me3,3}'} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me4,4}'} + \delta(\text{C}_{12,12'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{7,7'}\text{-C}_{8,8'}) + \delta(\text{O}_{6,6'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{15,15'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{11,11'}\text{-H})$
1319	1348	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me1,1}'} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me2,2}'}$
	1339	$\delta(\text{C}_{12,12'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{4,4'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{5,5'}\text{-C}_{12,12'}) + \delta(\text{O}_{1,1'}\text{-H}) + \delta(\text{O}_{6,6'}\text{-H})$
	1331	$\delta(\text{O}_{1,1'}\text{-H}) + \delta(\text{O}_{6,6'}\text{-H}) + \delta(\text{C-H})_{\text{Me3,3}'} + \delta(\text{C}_{11,11'}\text{-H}) + \delta(\text{N}_{13,13'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{1,1'}\text{-O})$
	1318	$\delta(\text{C}_{12,12'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{9,9'}\text{-C}_{10,10'}) + \delta(\text{O}_{1,1'}\text{-H}) + \delta(\text{O}_{6,6'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{11,11'}\text{-H}) + \delta(\text{N}_{13,13'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{15,15'}\text{-H}) + \delta(\text{C-H})_{\text{Me4,4}'}$
	1313	$\delta(\text{C}_{11,11'}\text{-H}) + \delta(\text{O}_{6,6'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{15,15'}\text{-H})$
	1311	$\delta(\text{C}_{11,11'}\text{-H}) + \delta(\text{O}_{6,6'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{12,12'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{7,7'}\text{-C}_{8,8'}) + \nu(\text{C}_{9,9'}\text{-C}_{10,10'})$
	1309	$\delta(\text{C}_{12,12'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{9,9'}\text{-C}_{10,10'}) + \nu(\text{C}_{1,1'}\text{-C}_{2,2'})$
	1290	$\delta(\text{C}_{11,11'}\text{-H}) + \delta(\text{O}_{1,1'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{12,12'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{8,8'}\text{-C}_{9,9'}) + \nu(\text{C}_{5,5'}\text{-C}_{10,10'}) + \nu(\text{C}_2\text{-C}_2')$
	1287	$\nu(\text{C}_{11,11'}\text{-N}_{13,13'}) + \nu(\text{C}_{5,5'}\text{-C}_{10,10'}) + \nu(\text{C}_{3,3'}\text{-C}_{\text{Me3,3}'})$
	1286	$\nu(\text{C}_{16,16'}\text{-O})_{\text{RV,V}'} + \nu(\text{C}_{11,11'}\text{-N}_{13,13'}) + \delta(\text{O}_{6,6'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{5,5'}\text{-C}_{12,12'})$
1273	$\delta(\text{C}_{11,11'}\text{-H}) + \delta(\text{O}_{6,6'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{6,6'}\text{-O}) + \nu(\text{C}_{6,6'}\text{-C}_{7,7'}) + \nu(\text{C}_{8,8'}\text{-C}_{9,9'}) + \delta(\text{C}_{12,12'}\text{-H})$	

Продовж. табл. 3.4

1	2	3
---	---	---

1244	1259	$\nu(\text{C}_{16,16'}\text{-O})_{\text{RV},\text{V}'} + \nu(\text{C}_{14,14'}\text{-C}_{15,15'}) + \delta(\text{C}_{11,11'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{6,6'}\text{-O}) + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}_{4,4'}}$
	1252	$\delta(\text{O}_{1,1'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_2\text{-C}_2') + \delta(\text{C}_{4,4'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{8,8'}\text{-C}_{9,9'})$
	1245	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me}_{4,4'}} + \delta(\text{O}_{1,1'}\text{-H}) + \delta(\text{N}_{13,13'}\text{-H}) +$ $\delta(\text{O}_{1,1'}\text{-H}) + \delta(\text{O}_{6,6'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{11,11'}\text{-H}) +$
	1242	$\delta(\text{C}_{4,4'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{12,12'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{5,5'}\text{-C}_{10,10'}) +$ $\nu(\text{C}_{8,8'}\text{-C}_{9,9'})$
	1237	$\delta(\text{C}_{4,4'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{5,5'}\text{-C}_{10,10'}) + \nu(\text{C}_{5,5'}\text{-C}_{12,12'})$
1171	1197	$\delta(\text{O}_{1,1'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{4,4'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{11,11'}\text{-H}) +$ $\delta(\text{N}_{13,13'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{1,1'}\text{-C}_{9,9'}) + \nu(\text{C}_{6,6'}\text{-O})$
	1160	$\delta(\text{C}_{12,12'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{4,4'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{15,15'}\text{-H}) + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}_{1,1'}} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}_{2,2'}} + \delta(\text{C}_{6,6'}\text{-C}_{7,7'})$
	1156	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me}_{1,1'}} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}_{2,2'}} + \delta(\text{O}_{1,1'}\text{-H}) +$ $\delta(\text{C}_{11,11'}\text{-H}) + \nu(\text{C}_{6,6'}\text{-O})$
1138	1134	$\delta(\text{C}_{15,15'}\text{-H}) + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}_{1,1'}} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}_{2,2'}} +$ $\delta(\text{C}_{12,12'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{4,4'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{5,5'}\text{-C}_{12,12'}) +$ $\delta(\text{C}_{12,12'}\text{-Me}_{1,1'}) + \delta(\text{C}_{12,12'}\text{-Me}_{2,2'})$
	1115	$\delta(\text{C}_{15,15'}\text{-H}) + \delta(\text{N}_{13,13'}\text{-H})$
1105	1089	$\delta(\text{C}_{15,15'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{4,4'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{12,12'}\text{-H}) + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}_{1,1'}} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}_{2,2'}} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}_{3,3'}}$
1062	1071	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me}_{1,1'}} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}_{2,2'}} + \delta(\text{C}_{12,12'}\text{-H}) +$ $\delta(\text{O}_{6,6'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{11,11'}\text{-H}) + \delta(\text{N}_{13,13'}\text{-H})$
	1062	$\delta(\text{C}_{15,15'}\text{-H}) + \nu(\text{O-N})_{\text{RIII,III}'} + \delta(\text{C}_{12,12'}\text{-H}) +$ $\delta(\text{C}_{4,4'}\text{-H}) + \delta(\text{N}_{13,13'}\text{-H})$
1036	1056	$\nu(\text{O-N})_{\text{RIII,III}'} + \delta(\text{C}_{15,15'}\text{-H})$
1005	1011	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me}_{3,3'}} + \nu(\text{C}_{5,5'}\text{-C}_{10,10'})$
	996	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me}_{4,4'}} + \delta(\text{C}_{15,15'}\text{-H})$
976	973	$\delta^{\text{op}}(\text{N}_{13,13'}\text{-H}) + \delta^{\text{op}}(\text{C}_{11,11'}\text{-H})$
	953	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me}_{1,1'}} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}_{2,2'}} + \delta(\text{C}_{12,12'}\text{-H}) +$ $\delta(\text{N}_{13,13'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{11,11'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{8,8'}=\text{C}_{11,11'}) +$ $\delta(\text{C}_{1,1'}=\text{C}_{9,9'})$
926	928	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me}_{4,4'}} + \delta(\text{C}_{15,15'}\text{-H}) + \nu(\text{O-N})_{\text{RIII,III}'}$
	925	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me}_{1,1'}} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}_{2,2'}}$
839	843	$\delta(\text{C-H})_{\text{Me}_{1,1'}} + \delta(\text{C-H})_{\text{Me}_{2,2'}} + \delta(\text{C}_{12,12'}\text{-H}) +$ $\delta(\text{C}_{5,5'}\text{-C}_{12,12'}) + \delta(\text{C}_{12,12'}\text{-Me}_{1,1'}) + \delta(\text{C}_{12,12'}\text{-Me}_{2,2'})$
	830	$\delta^{\text{op}}(\text{N}_{13,13'}\text{-H})$
	804	$\delta^{\text{op}}(\text{C}_{4,4'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{11,11'}\text{-N}_{13,13'})$
779	780	$\delta(\text{C}_{11,11'}\text{-N}_{13,13'}) + \delta(\text{N}_{13,13'}\text{-H}) + \delta(\text{C}_{11,11'}\text{-H}) +$ $\delta(\text{C}_{16}\text{-O})_{\text{RIII,III}'}$

Продовж. табл. 3.4

1	2	3
---	---	---

760	759	$\delta^{op}(C_{15,15'}-H)$
	747	$\delta(C-H)_{Me1,1'} + \delta(C-H)_{Me2,2'} + \delta(C_{12,12'}-H) + \delta(C_{4,4'}-C_{10,10'}) + \delta(C_{9,9'}-C_{10,10'}) + \delta(C_{11,11'}-N_{13,13'})$
708	727	$\delta^{op}(N_{13,13'}-H) + \delta^{op}(O_{6,6'}-H) + \delta^{op}(R_{I,I'}) + \delta^{op}(R_{II,II'}) + \delta(C_2-C_2')$
682	677	$\delta^{op}(O_{6,6'}-H) + \delta^{op}(C_{4,4'}-H)$
578	578	$\delta^{op}(O_{1,1'}-H)$
505	511	$\delta^{op}(O_{1,1'}-H)$
	495	$\delta(C_{8,8'}=C_{11,11'}) + \delta(C_{15,15'}-H) + \delta(C_{14,14'}-N_{13,13'})$

^a – умовні позначення фрагментів молекули і види коливань: R – кільце; Me – метил; ν – валентні коливання; δ – деформаційні коливання; as – антисиметричні коливання; s – симетричні коливання; op – позаплощинні коливання.

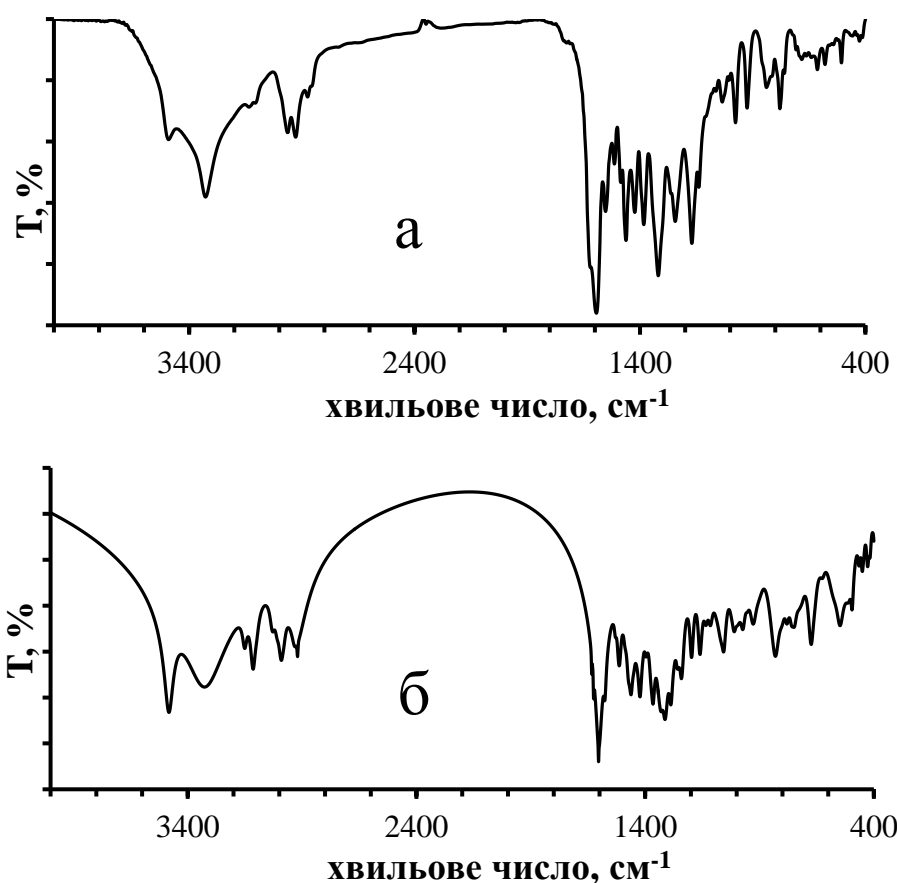


Рис. 3.12 Експериментальний (а) і розрахований (б) (дієнамінна форма) ІЧ спектри основи Шиффа GAMI (метод розрахунку TDDFT B3LYP/6-31G(d)).

3.1.4. Аналіз розрахованих структурних характеристик

Квантово-хімічні розрахунки підтверджують наявність водневого зв'язку $N(13)\cdots H-OC(7)$ у гідразонів GDPG і GCTA (табл. 3.5). Довжина водневого зв'язку $C(7)O\cdots H-OC(6)$ основ Шиффа менша, ніж довжина аналогічного зв'язку гідразонів. Водневий зв'язок $C(7)O\cdots H-N(13)$ GSAP має дещо меншу довжину, ніж у інших досліджених основ Шиффа госиполу. Валентні кути $C(7)O\cdots H-OC(6)$ у гідразонів менші ніж у основ Шиффа. Нафтільні фрагменти всіх досліджуваних сполук мають некопланарне положення, причому дієдральний кут між ними більше 90° , що відповідає антиклінальній конформації. Проведено сканування поверхні потенційної енергії для дієдрального кута $C(1)-C(2)-C(2')-C(1')$ обох таутомерних форм GAMІ (рис. 3.13) з оптимізацією геометрії в кожній точці. Встановлено, що мінімальні повні електронні енергії відповідають структурам з величиною дієдрального кута $C(1)-C(2)-C(2')-C(1')$ для дієнамінної форми $\pm 102,0^\circ$, в той час як для діїмінної форми оптимальна величина цього кута складає $\pm 101,8^\circ$ [147]. Довжини центральних зв'язків між нафталіновими фрагментами не залежать від таутомерних форм і практично не змінюються в ряду досліджуваних сполук і складають $1,50 \text{ \AA}$. Як видно з рис. 3.13, розраховані величини енергетичних бар'єрів переходу однієї конформації в іншу основи Шиффа госиполу з 3-аміно-5-метилізоксазолом (GAMІ) є досить високими і перевищують аналогічне значення для госиполу. Це свідчить про те, що індивідуальні енантіомери цієї сполуки будуть досить стабільними за нормальних умов.

В табл. 3.5 наведено структурні характеристики найбільш стійких таутомерних форм досліджуваних імінопохідних госиполу.

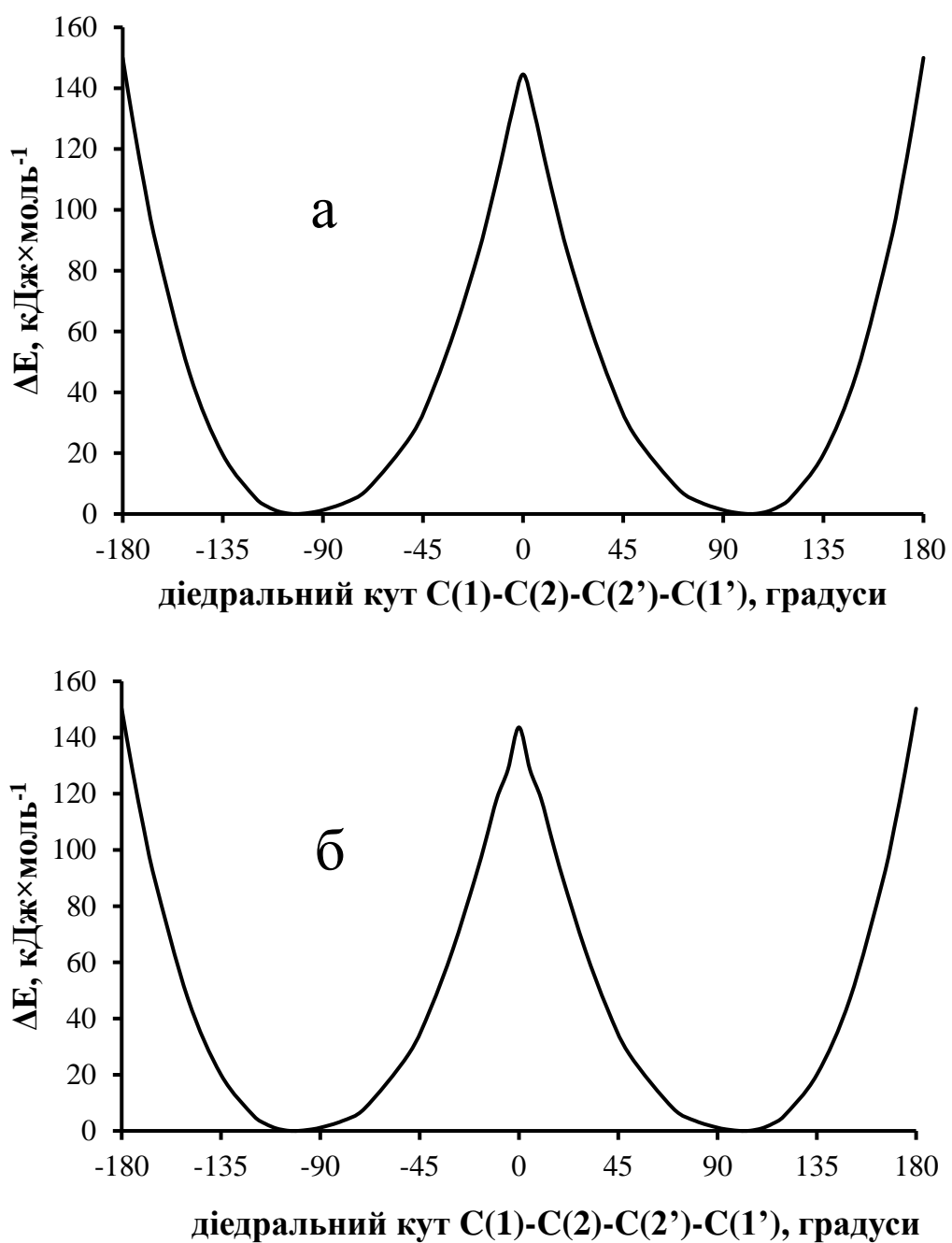


Рис. 3.13 Профілі поверхні потенційної енергії для дієнамінної (а) і діїмінної (б) таутомерних форм GAM1 (метод розрахунку B3LYP/6-31G(d)).

**Структурні характеристики імінопохідних госиполу
(метод розрахунку B3LYP/6-31G(d); нумерація згідно рис. 2.1)**

Сполука	Характеристики водневих зв'язків			Діедральний кут C(1)–C(2)– C(2')–C(1'), °
	Водневий зв'язок	Довжина водневого зв'язку ^a , Å	Валентний кут ^b , °	
GDFА (дієнамін)	C(7)O⋯H–N(13)	1,73	137,0	100,8
	C(7)O⋯H–OC(6)	1,87	122,4	
GDBА (дієнамін)	C(7)O⋯H–N(13)	1,75	135,6	98,7
	C(7)O⋯H–OC(6)	1,90	120,5	
GMTА (дієнамін)	C(7)O⋯H–N(13)	1,73	137,2	101,0
	C(7)O⋯H–OC(6)	1,87	122,7	
GDMТА (дієнамін)	C(7)O⋯H–N(13)	1,77	133,9	101,3
	C(7)O⋯H–OC(6)	1,86	123,0	
GAMI (дієнамін)	C(7)O⋯H–N(13)	1,72	135,8	102,0
	C(7)O⋯H–OC(6)	1,88	122,2	
GDTА (дієнамін)	C(7)O⋯H–N(13)	1,74	135,4	100,5
	C(7)O⋯H–OC(6)	1,87	122,7	
GSAP (дієнамін)	C(7)O⋯H–N(13)	1,67	140,1	102,6
	C(7)O⋯H–OC(6)	1,86	123,0	
GDPG (діімін)	N(13)⋯H–OC(7)	1,67	145,6	100,0
	C(7)O⋯H–OC(6)	1,95	118,3	
GCTА (діімін)	N(13)⋯H–OC(7)	1,66	149,5	105,9
	C(7)O⋯H–OC(6)	1,96	116,7	

^a – для дієнамінів наведено довжини водневих зв'язків O⋯H, а для діамінів – O⋯H і N⋯H;

^b – для дієнамінів наведені значення валентних кутів O⋯H–N і O⋯H–O, а для діамінів – N⋯H–O і O⋯H–O.

Розраховані дипольні моменти дієнамінної та діїмінної таутомерних форм молекули ГАМІ складають 3,1 Д і 0,6 Д відповідно. Більше значення дипольного момента для дієнамінної форми ГАМІ, вочевидь, обумовлене наявністю в її структурі двох карбонільних груп, розташованих в різних площинах. В той час як для діїмінної таутомерної форми відбувається перетворення карбонільних груп у гідроксильні. Це призводить до суттєвого зменшення дипольного момента.

Різниця розрахованих енергій дієнамінної та діїмінної таутомерних форм молекули ГАМІ складає $-133,6 \text{ кДж} \times \text{моль}^{-1}$, тобто дієнамінна форма є енергетично більш вигідною в газовій фазі.

На рис. 3.14-3.18 наведені оптимізовані 3D структури деяких імінопохідних госиполу.

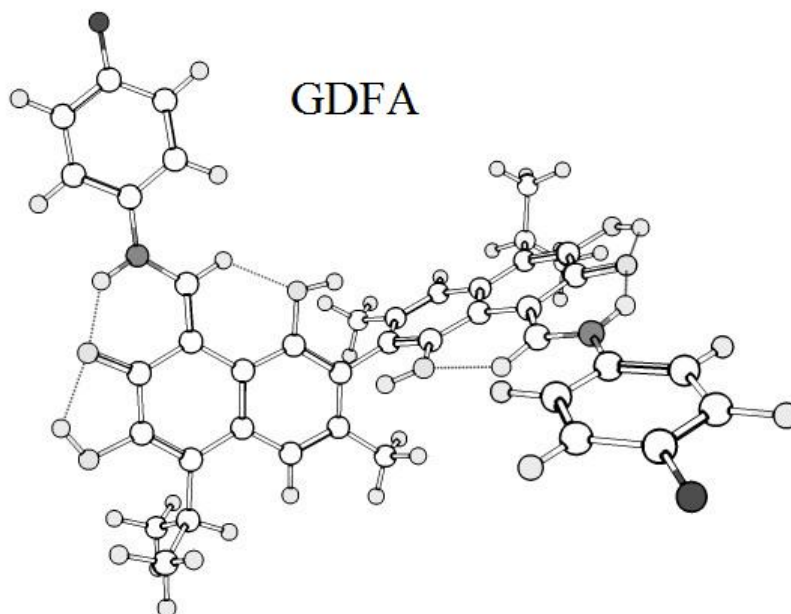


Рис. 3.14 Оптимізована 3D структура основи Шиффа госиполу з фтораніліном (дієнамінна форма; метод розрахунку B3LYP/6-31G(d)).

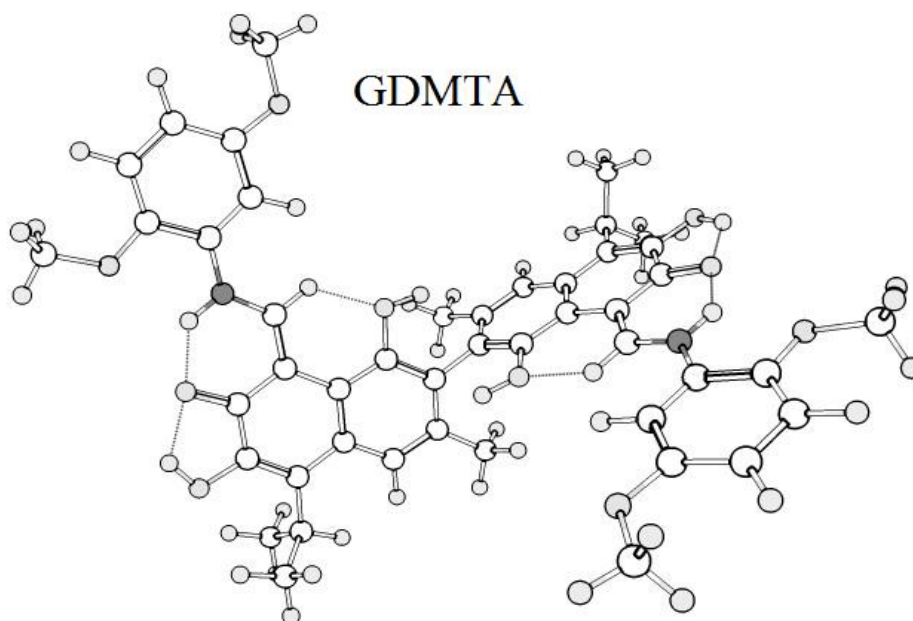


Рис. 3.15 Оптимізована 3D структура основи Шиффа госиполу з 2,5-диметоксіаніліном (діенамінна форма; метод розрахунку B3LYP/6-31G(d)).

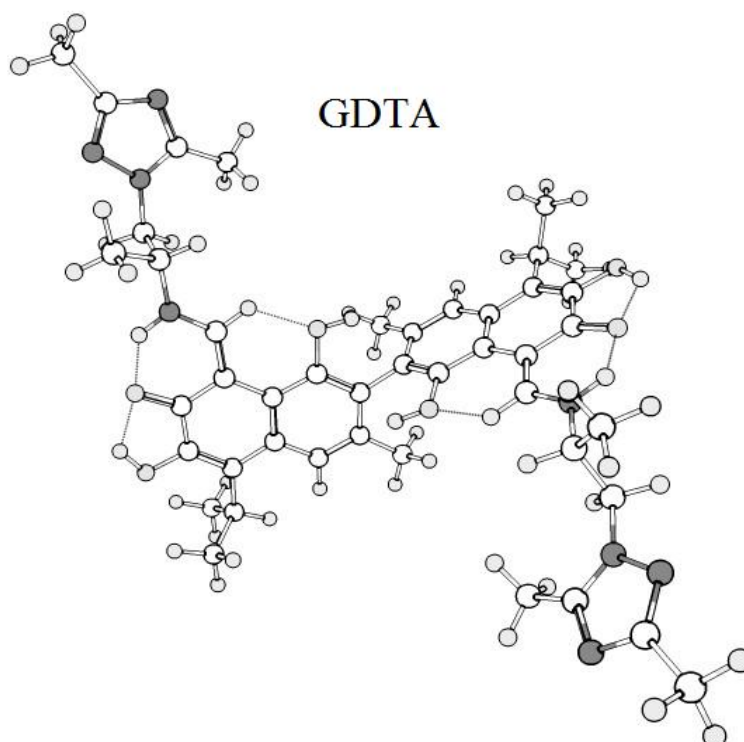


Рис. 3.16 Оптимізована 3D структура основи Шиффа госиполу з 2-(3,5-диметил-1H-1,2,4-триазол-1-іл)-1-метилетил]аміном (діенамінна форма; метод розрахунку B3LYP/6-31G(d)).

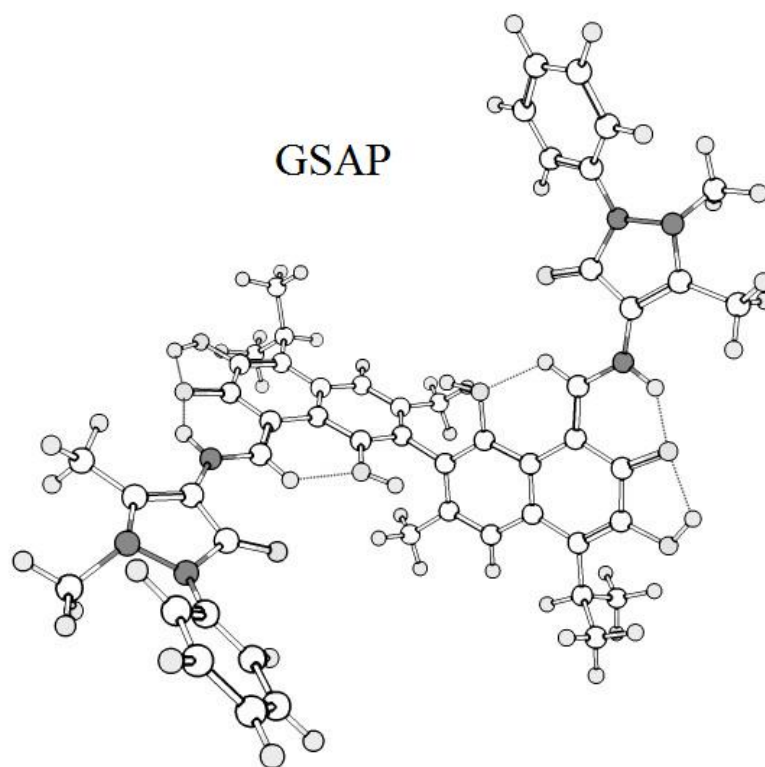


Рис. 3.17 Оптимізована 3D структура основи Шиффа госиполу з 4-аміноантипірином (дієнамінна форма; метод розрахунку B3LYP/6-31G(d)).

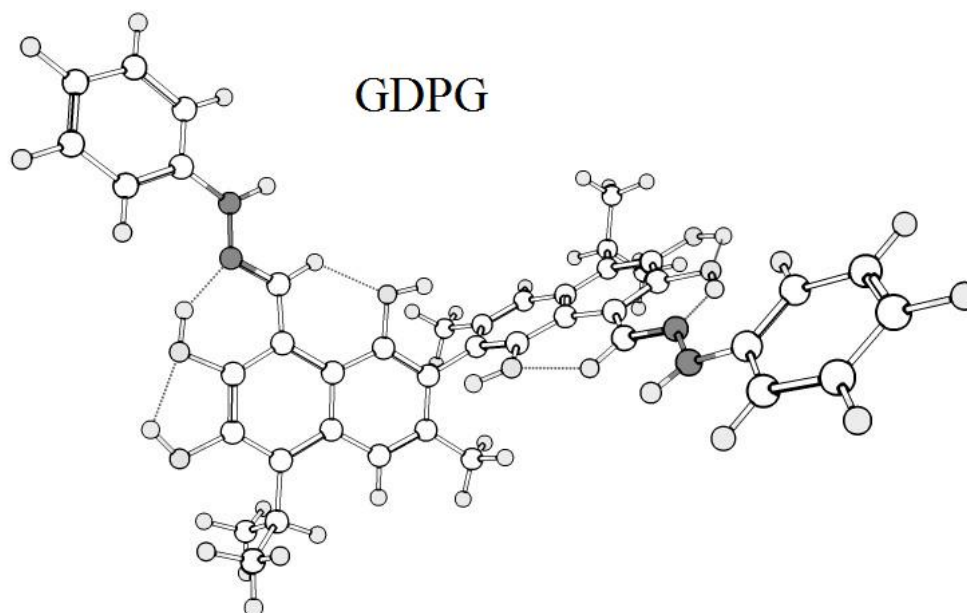


Рис. 3.18 Оптимізована 3D структура гідразона госиполу з фенілгідразином (діїмінна форма; метод розрахунку B3LYP/6-31G(d)).

У випадку основ Шиффа госиполу з 4-фтораніліном (GDFA), 4-броманіліном (GDBA), 4-метоксіаніліном (GMTA), 2,5-диметоксіаніліном (GDMTA), спостерігається некопланарність нафтільних фрагментів та імінних замісників один по відношенню до одного.

3.2. Дослідження антирадикальних властивостей основ Шиффа і гідразонів госиполу

3.2.1. Дослідження реакції основ Шиффа і гідразонів госиполу з ДФПГ

Реакції ДФПГ і катіон-радикала АБТС з імінопохідними госиполу можна розділити на швидку і повільну стадії. Якщо у випадку взаємодії радикала з тіолами, амінами та більшістю одноатомних фенолів за перебігом реакції зручно спостерігати в умовах псевдопершого порядку, то у випадку флаваноїдів та інших поліфенолів початкові стадії процесу перебігають настільки швидко, що навіть при нестачі антиоксиданту по відношенню до радикала, кінетичні криві вдається зареєструвати тільки при значних ступенях перетворення, якщо не застосовувати обладнання для дослідження кінетики швидких реакцій.

У випадку реакції імінопохідних госиполу з ДФПГ, швидка стадія триває 20-30 секунд. Ступінь перетворення ДФПГ за цей час складає 55-70 %, а стехіометричні коефіцієнти близькі до 2. Слід відзначити, що тривалість швидкої стадії має дещо умовний характер і визначалась візуально [157].

На рис. 3.19 наведено кінетичні криві витрачання ДФПГ у часі в присутності основ Шиффа госиполу GDMTA і GMTA.

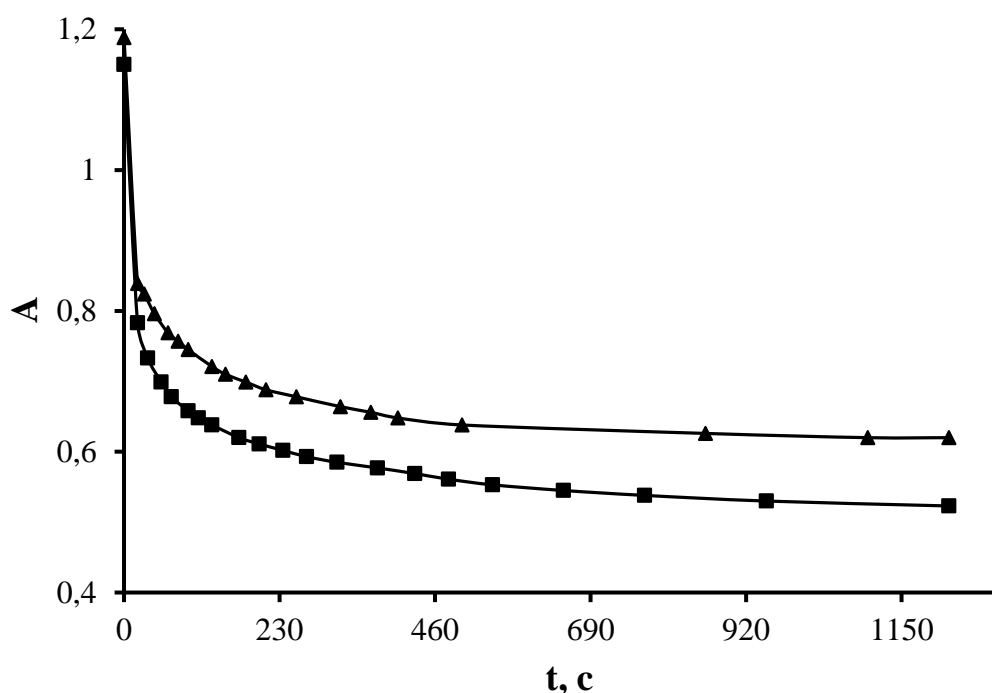


Рис. 3.19 Зниження оптичної густини в часі $(1,0 \pm 0,04) \times 10^{-4}$ М розчину ДФПГ при $\lambda=518$ нм в етанолі після додавання $(1,3 \pm 0,07) \times 10^{-5}$ М імінопохідних госиполу при $T=298$ К (\blacktriangle – GDMTA, \blacksquare – GMTA).

Кінетичні криві зменшення оптичної густини розчину ДФПГ в часі при взаємодії з імінопохідними госиполу на повільній стадії спрямляються в координатах інтегрального рівняння кінетичної кривої реакції другого порядку (3.1).

$$\ln \frac{1-A_k/A}{1-A_k/A_0} = -\frac{k \times c}{A_0/A_k - 1} t, \quad (3.1)$$

де A_0 – початкова оптична густина;

A – оптична густина в момент часу t ;

A_k – оптична густина по завершенні реакції;

c – початкова концентрація антиоксиданту.

Таким чином, залежність $\ln((1-A_k/A)/(1-A_k/A_0))$ від часу лінійна з певним відхиленням від прямої, якщо A наближається до A_k . Нахил прямої дозволяє визначити константу швидкості (k) (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Константи швидкості ($\text{л} \times \text{моль}^{-1} \times \text{с}^{-1}$) реакції імінопохідних госиполу ($(1,3 \pm 0,07) \times 10^{-5} \text{М}$) з ДФПГ ($(1,0 \pm 0,04) \times 10^{-4} \text{М}$) в етанолі при $T=298 \text{ К}$ на повільній стадії

	G DFA	G DBA	G MTA	G DMTA	G AMI	G DTA	G SAP	G DPG	G CTA
$k \times (10^{-2}),$ $\text{л} \times \text{моль}^{-1} \times \text{с}^{-1}$	$1,9 \pm 0,3$	$4,7 \pm 0,5$	$2,7 \pm 0,3$	$2,9 \pm 0,3$	$1,5 \pm 0,2$	$0,9 \pm 0,1$	$1,3 \pm 0,3$	$4,3 \pm 0,4$	$2,5 \pm 0,3$

Недоліком величин k є те, що вони не дають уявлення про реакційну здатність імінопохідних госиполу на швидкій стадії. Однак, ці величини дозволяють порівняти реакційну здатність імінопохідних госиполу на повільній стадії. Дані табл. 3.6 свідчать, що найбільшу реакційну здатність по відношенню до ДФПГ на повільній стадії мають сполуки GDBA і GDPG. Найменш реакційноздатною є основа Шиффа GDTA. В цілому, за зростанням реакційної здатності в реакції з ДФПГ на повільній стадії досліджувані імінопохідні госиполу утворюють послідовність:



Відомо, що реакції фенолів з ДФПГ в полярних розчинниках відбуваються за двома конкуруючими механізмами: НАТ (прямий перенос атома водню) і SPLET (послідовна дисоціація молекули фенола з переносом електрона) [158]. Внесок кожного з механізмів визначається кислотно-лужними властивостями самого фенола і розчинника. А ефективна константа швидкості реакції є сумою констант двох процесів. Механізм НАТ одностадійний і визначається енергією гомолітичного розриву зв'язку (BDE) [159]. Механізм SPLET включає в себе повільну стадію дисоціації фенола (визначається PA) і швидку стадію переносу електрона від фенолят іона на радикал. Швидкість SPLET процесу визначається концентрацією фенолят іона [158].

В табл. 3.7 і табл. 3.8 наведено розраховані величини BDE і PA O–H (N–H) груп найбільш стійких таутомерних форм досліджуваних імінопохідних госиполу.

Таблиця 3.7

**Розраховані величини BDE O–H (N–H) груп найбільш стійких
таутомерних форм ряду імінопохідних госиполу
(метод розрахунку B3LYP/def2-SVP; нумерація згідно рис.2.1)**

Сполука	BDE, кДж×моль ⁻¹			
	C(1)O–H	C(6)O–H	C(7)O–H	N(13)–H
G DFA	317,4	376,8	–	412,4
G DBA	318,2	376,8	–	413,2
G MTA	315,3	376,8	–	413,7
G DMTA	317,4	376,4	–	428,3
G AMI	327,0	375,6	–	415,7
G DTA	315,7	377,6	–	405,7
G SAP	326,2	391,5	–	390,2
G DPG	308,1	369,3	368,4	–
G CTA	314,8	373,0	375,1	–

Дані табл. 3.7 свідчать, що в газовій фазі BDE C(1)O–H груп мають найменші значення для всіх досліджуваних сполук. Тобто, у випадку реалізації механізму НАТ, найбільш імовірно вступати в реакцію з ДФПГ будуть саме ці групи. Реакційна здатність C(6)O–H груп і C(7)O–H груп (гідразони) практично однакова. N(13)–H групи мають найбільші значення BDE (окрім GSAP) і будуть виявляти найменшу реакційну здатність по відношенню до ДФПГ.

Дані табл. 3.8 свідчать, що значення РА C(1)O–H груп усіх досліджуваних сполук менше ніж РА C(6)O–H, C(7)O–H і N(12)–H груп у газовій фазі. Таким чином, можна припустити, що за перші 20-30 секунд (швидка стадія) в реакцію з ДФПГ вступають саме ці O–H групи (незалежно від механізму). У основ Шиффа госиполу РА N(13)–H груп дещо менші, ніж РА C(6)O–H груп. Тобто, у випадку реалізації механізму SPLET, N(13)–H групи мають більш переважно реагувати з ДФПГ ніж C(6)O–H групи. У гідразонів, у випадку реалізації механізму SPLET, найменш реакційно здатними є C(6)O–H групи. Суттєві відмінності значень РА

гідразону GCTA від інших імінопохідних обумовлені тим, що сполука має іонну природу.

Таблиця 3.8

Розраховані величини PA O–H (N–H) груп найбільш стійких таутомерних форм ряду імінопохідних госиполу (метод розрахунку B3LYP/def2-SVP; нумерація згідно рис.2.1)

Сполука	PA, кДж×моль ⁻¹			
	C(1)O–H	C(6)O–H	C(7)O–H	N(13)–H
G DFA	1431,9	1512,3	–	1494,3
G DBA	1426,4	1506,4	–	1486,7
G MTA	1443,6	1523,2	–	1508,9
G DMTA	1449,5	1528,2	–	1525,7
G AMI	1450,7	1515,6	–	1498,0
G DTA	1431,0	1521,5	–	1495,9
G SAP	1469,6	1528,2	–	1497,2
G DPG	1444,4	1497,2	1469,1	–
G CTA	1241,4	1307,5	1249,8	–

Кореляції між константами швидкості (k) і BDE (або PA) C(6)O–H і C(7)O–H (N(13)–H) груп не знайдені.

В табл. 3.9 наведено кількісні характеристики взаємодії імінопохідних госиполу з ДФПГ.

Виходячи зі значень n , що характеризують стехіометрію реакції імінопохідних госиполу з вільними радикалами, не всі “рухливі” Н-атоми здатні реагувати з ДФПГ. Дані табл. 3.9 свідчать, що основа Шиффа G DFA (дієнамінна форма, 4 O–H групи) виявляє майже таку саму антирадикальну дію як і госипол (діальдегідна форма, 6 O–H груп) ($EC_{50}=1,06 \times 10^{-5}$ M; $n=4,8$) по відношенню до ДФПГ. Це може бути пояснене тим, що в реакцію вступають не тільки гідроксильні групи, а і одна з аміногруп, що міститься в структурі цієї сполки.

Таблиця 3.9

Характеристики антирадикальної дії імінопохідних госиполу в реакції з ДФПГ

Сполука	Параметр			
	EC ₅₀ (×10 ⁵) ^a , М	n ^b	VCEAC ^c , мМ	TEAC ^d , мМ
GDFA	0,97±0,03	5,0±0,5	1,7±0,2	2,1±0,3
GDBA	1,27±0,05	4,2±0,3	1,4±0,2	1,7±0,2
GMTA	1,26±0,06	4,2±0,4	1,7±0,3	2,1±0,2
GDMTA	1,50±0,08	3,6±0,3	1,7±0,2	2,1±0,4
GAMI	1,38±0,05	3,8±0,2	1,4±0,3	1,8±0,2
GDTA	1,79±0,07	3,1±0,3	1,3±0,1	1,6±0,2
GSAP	1,50±0,07	3,5±0,4	1,7±0,3	2,1±0,3
GDPG	0,97±0,05	5,0±0,4	1,8±0,3	2,2±0,2
GCTA	1,22±0,04	4,3±0,3	1,3±0,2	1,7±0,2

^a концентрація антиоксиданту, що необхідна для зменшення концентрації радикала ((1,0±0,04)×10⁻⁴ М) на 50%;

^b стехіометричний коефіцієнт по завершенні реакції;

^c еквівалент антиоксидантної ємності в перерахунку на аскорбінову кислоту;

^d еквівалент антиоксидантної ємності в перерахунку на тролокс.

Дані таблиці 3.9 свідчать, що стехіометричні коефіцієнти досліджуваних гідразонів госиполу з фенілгідрaziном (GDPG) (дімінна форма, 6 О–Н груп) і (карбоксиметил)-триметиламоній хлорид гідрaziном (GCTA) (дімінна форма, 6 О–Н груп) не перевищують п'яти. Це може бути пояснене тим, що не всі С(6)О–Н групи цих сполук можуть вступати в реакцію з ДФПГ як і у випадку госиполу [160]. Так, Ванг зі співробітниками встановили, що заміщення однієї гідроксильної групи (С(6)–ОН) в структурі госиполу на метильну групу (6-метоксигосипол) призводить до зниження інгібуючої дії по відношенню до ДФПГ [160]. Подальше заміщення другої гідроксильної групи в шостому положенні і

одержання 6,6'-диметоксигосиполу практично не змінює антирадикальні властивості цієї сполуки у порівнянні з 6-метоксигосиполом.

Виходячи зі значень VCEAC і TEAC, всі досліджувані сполуки є більш ефективними антирадикальними агентами ніж аскорбінова кислота і тролокс по відношенню до ДФПГ [157, 161-163].

3.2.2. Дослідження реакції основ Шиффа і гідрозонів госиполу з катіон-радикалом АБТС

Доволі розповсюдженим методом оцінки антирадикальних властивостей природних поліфенолів є метод, заснований на знебарвленні катіон-радикала АБТС [127, 128]. Враховуючи те, що АБТС^{•+} – це катіон-радикал, можна припустити, що взаємодія зі сполуками-донорами електронів носитиме дещо інший характер ніж у випадку ДФПГ. Якщо у випадку реакції імінопохідних госиполу з ДФПГ в етанолі найбільш імовірним є перебіг реакції за двома конкуруючими процесами: НАТ – hydrogen atom transfer (механізм взаємодії фенольних сполук із радикалами, що полягає у прямому переносі атома водню від фенолу до радикала) і SPLET – sequential proton loss electron transfer (механізм взаємодії фенольних сполук із вільними радикалами, що полягає у послідовній дисоціації молекули фенолу з переносом електрона до радикала), то у випадку реакції із катіон-радикалом АБТС найбільш імовірним є реалізація механізму ET-PT – electron-transfer proton-loss (механізм взаємодії фенольних сполук із вільними радикалами, що полягає у переносі електрона з послідуєчим переносом протона від молекули фенолу до радикала).

В табл. 3.10 наведено кількісні характеристики взаємодії імінопохідних госиполу з катіон-радикалом АБТС.

Таблиця 3.10

Характеристики антирадикальної дії імінопохідних госиполу в реакції з катіон-радикалом АБТС

Сполука	Параметр			
	EC ₅₀ (×10 ⁵) ^a , М	n ^b	VCEAC ^c , мМ	TEAC ^d , мМ
1	2	3	4	5
GDFA	0,77±0,03	8,0±0,6	3,3±0,4	2,8±0,4
GDBA	0,70±0,05	7,2±0,6	4,1±0,3	3,4±0,4
GMTA	0,67±0,02	8,8±0,8	3,7±0,3	3,1±0,3
GDMTA	0,53±0,04	9,6±0,7	5,8±0,4	4,8±0,4
GAMI	0,66±0,03	7,9±0,5	4,8±0,5	3,9±0,3
GDTA	0,79±0,04	6,6±0,7	3,8±0,3	3,2±0,3
GSAP	0,57±0,02	9,0±0,5	5,5±0,4	4,6±0,5
GDPG	0,79±0,05	6,7±0,4	3,5±0,3	2,9±0,3
GCTA	0,68±0,03	7,4±0,6	4,6±0,3	3,8±0,3

^a концентрація антиоксиданту, що необхідна для зменшення концентрації радикала ((1,0±0,04)×10⁻⁴ М) на 50%;

^b стехіометричний коефіцієнт по завершенні реакції;

^c еквівалент антиоксидантної ємності в перерахунку на аскорбінову кислоту;

^d еквівалент антиоксидантної ємності в перерахунку на тролокс.

Дані табл. 3.10 свідчать, що всі досліджувані сполуки виявляють більшу антирадикальну дію в реакції з катіон-радикалом АБТС ніж з ДФПГ. Стехіометричні коефіцієнти в реакції з АБТС⁺ суттєво більші ніж з ДФПГ і перевищують кількість О–Н (N–H) груп в структурі імінопохідних госиполу. Для пояснення цього факту необхідно розглянути спрощену модель реакції радикала з фенолом (3.2), (3.3), (3.4):



де $R\cdot$ – радикал;

RH – відновлена форма радикала;

PhOH – фенол;

$\text{PhO}\cdot$ – феноксильний радикал.

Перша стадія (3.2) вважається зворотною як у випадку з ДФПГ [164], так і з АБТС⁺ [165].

На першій стадії при взаємодії фенолу з радикалом $R\cdot$ відбувається утворення феноксильного радикала (3.2). Потім $\text{PhO}\cdot$ може реагувати з іще одним радикалом $R\cdot$ (3.3) або утворювати нерадикальні продукти в результаті реакції з іншим феноксильним радикалом (3.4). Рівняння швидкості витрачання радикала має вигляд (3.5):

$$-\frac{d[R\cdot]}{dt} = k_1[R\cdot][\text{PhOH}] - k_{-1}[\text{RH}][\text{PhO}\cdot] + k_2[R\cdot][\text{PhO}\cdot] \quad (3.5)$$

У кожному конкретному випадку реакції (3.3) і (3.4) будуть конкурувати між собою. Якщо швидкість реакції (3.3) значно перевищує швидкість реакції (3.4) ($V_{3.3} \gg V_{3.4}$), то спостерігаються високі значення стехіометричних коефіцієнтів (для одноатомних фенолів $n > 1$). Якщо $V_{3.4} \gg V_{3.3}$, то значення стехіометричних коефіцієнтів не перевищують кількості О–Н (N–Н) груп у структурі молекули. Тоді рівняння швидкості витрачання радикала $R\cdot$ має вигляд (3.6):

$$-\frac{d[R\cdot]}{dt} = k_1[R\cdot][\text{PhOH}] - k_{-1}[\text{RH}][\text{PhO}\cdot] \quad (3.6)$$

Механізм реакції імінопохідних госиполу зі стабільними радикалами має більш складний вигляд. Однак взаємодія АБТС⁺ із радикальними продуктами реакції видається досить імовірною. Внаслідок цього спостерігаються високі значення стехіометричних коефіцієнтів [157, 161-163].

3.2.3. Дослідження реакції основ Шиффа госиполу з ДФПГ в присутності хлоридної кислоти

Відомо, що в присутності кислоти швидкість реакції фенольних антиоксидантів з ДФПГ в полярних розчинниках суттєво знижується. Це відбувається за рахунок пригнічення механізму SPLET – sequential proton loss electron transfer (механізм взаємодії фенольних сполук із вільними радикалами, що полягає у послідовній дисоціації молекули фенолу з переносом електрона). В присутності кислоти підвищується концентрація протонованих молекул розчинника, і пригнічується дисоціація молекул фенольних антиоксидантів. Це сприяє тому, що реакція фенолів з ДФПГ перебігає за повільнішим механізмом НАТ – hydrogen atom transfer (механізм взаємодії фенольних сполук із радикалами, що полягає у прямому переносі атома водню від фенолу до радикала).

У випадку реакції основ Шиффа госиполу з ДФПГ, введення 0,03 М хлоридної кислоти в реакційну суміш призвело до суттєвого зменшення швидкості процесу. Окрім того вимірювання проводили при зниженій температурі ($T=283$ К), що також сприяло зниженню швидкості процесу. Такий підхід дозволив визначити константи швидкості реакції (k_k).

На рис. 3.20 наведено кінетичні криві витрачання ДФПГ у часі в присутності основ Шиффа госиполу з 4-фтораніліном (GDFA) і аніліном (GDA) при додаванні хлоридної кислоти.

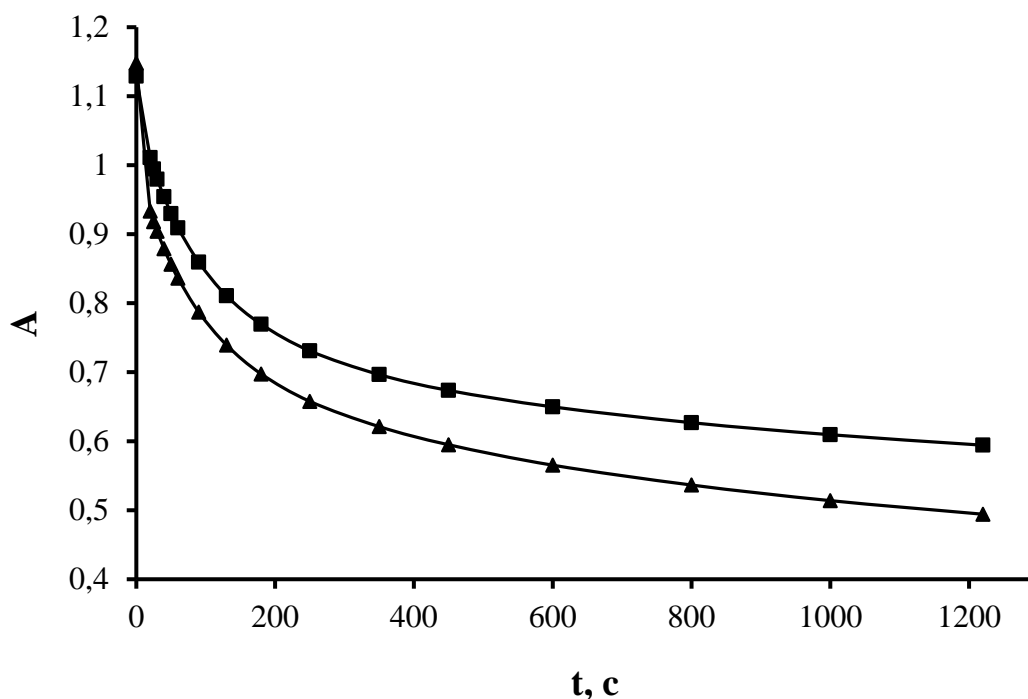


Рис. 3.20 Зниження оптичної густини в часі $(1,0 \pm 0,04) \times 10^{-4}$ М розчину ДФПГ при $\lambda = 518$ нм в етанолі після додавання $(1,25 \pm 0,05) \times 10^{-5}$ М основ Шиффа госиполу в присутності хлоридної кислоти при $T = 283$ К (▲ – GDFA, ■ – GDA).

В табл. 3.11 наведено константи швидкості реакції основ Шиффа госиполу GDFA, GMTA, GAMI, GSAP та діаніліногосиполу (GDA) з ДФПГ в присутності хлоридної кислоти.

Таблиця 3.11

Константи швидкості ($\text{л} \times \text{моль}^{-1} \times \text{с}^{-1}$) реакції основ Шиффа госиполу $((1,25 \pm 0,05) \times 10^{-5} \text{М})$ з ДФПГ $((1,0 \pm 0,04) \times 10^{-4} \text{М})$ в етанолі при $T = 283$ К в присутності хлоридної кислоти

	GDFA	GMTA	GAMI	GSAP	GDA
$k_r \times (10^{-2}),$ $\text{л} \times \text{моль}^{-1} \times \text{с}^{-1}$	$3,1 \pm 0,3$	$3,8 \pm 0,3$	$1,8 \pm 0,2$	$5,3 \pm 0,3$	$2,3 \pm 0,2$

За зростанням реакційної здатності по відношенню до ДФПГ в присутності хлоридної кислоти досліджувані сполуки утворюють послідовність:



Відомо, що протонування основ Шиффа госиполу в присутності сильних кислот призводить до зміщення таутомерної рівноваги від дієнамінної до діїмінної таутомерної форми. При цьому в структурі молекули з'являються додаткові О–Н групи, що здатні реагувати з ДФПГ. Таким чином, додавання сильної кислоти в систему має двояку дію: з одного боку швидкість реакції основ Шиффа госиполу з ДФПГ знижується (за рахунок пригнічення механізму SPLET); з іншого – зростає внаслідок зміщення таутомерної рівноваги в бік діїмінної таутомерної форми і появи додаткових гідроксильних груп. Загальна швидкість реакції знижується. Та не дивлячись на те, що досліджувані сполуки належать до одного класу і мають однакову кількість реакційних центрів, їхня реакційна здатність суттєво відрізняється одне від одного. Різниця в реакційній здатності може бути пояснена здатністю до протонування атома азоту азометинової групи. Чим більшу основність має цей атом азоту, тим легше відбувається зсув таутомерної рівноваги в бік діїмінної таутомерної форми.

Слід відзначити, що існує кореляція хімічних зсувів протонів N(13)–H груп від констант швидкості реакції імінопохідних госиполу з ДФПГ в присутності хлоридної кислоти (відповідна залежність наведена на рис. 3.21).

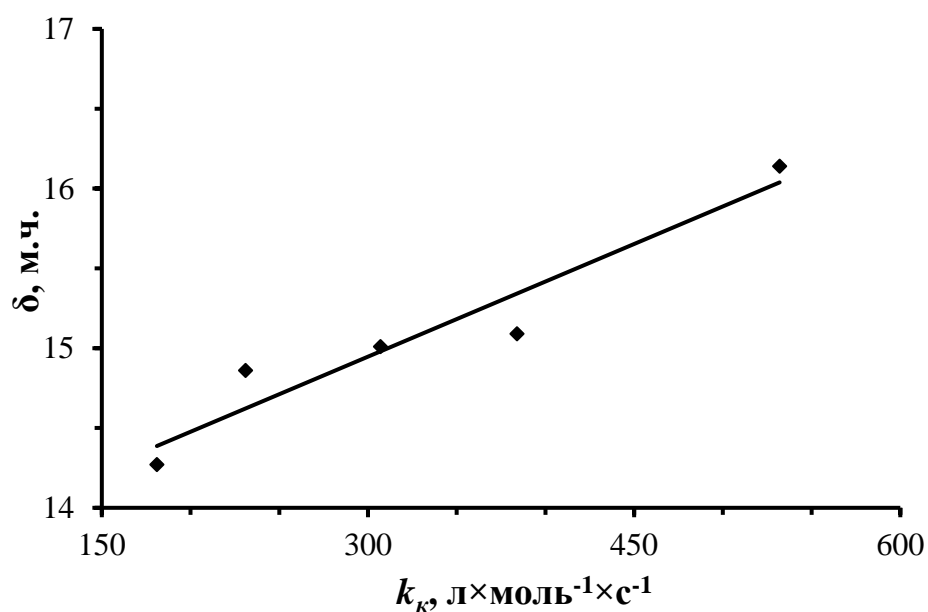


Рис. 3.21 Кореляція між хімічними зсувами протонів N(13)–H груп і константами швидкості реакції імінопохідних госиполу з ДФПГ в присутності хлоридної кислоти.

Більші значення хімічних зсувів протонів N(13)–H груп вказують на більшу реакційну здатність відповідних основ Шиффа в реакції з ДФПГ в присутності хлоридної кислоти [166, 167].

Таким чином, додавання хлоридної кислоти дозволяє знизити швидкість реакції і дослідити кінетику без застосування обладнання для дослідження кінетики швидких реакцій. Наявність кореляції хімічних зсувів протонів N(13)–H груп і констант швидкості дозволяє прогнозувати реакційну здатність основ Шиффа госиполу по відношенню до ДФПГ в присутності хлоридної кислоти.

3.3. Визначення біологічної активності основ Шиффа і гідразонів госиполу

Для ряду імінопохідних госиполу була досліджена біологічна активність. Як тест-об'єкт для дослідження біологічної активності сполук GDA (діаніліногосипол), GDFA, GMTA, GAMI, GSAP і GCTA було використане насіння огірка *Cucumis sativus L.* Вибір огірків як тест-об'єкта для дослідження біологічної активності імінопохідних госиполу обумовлений особливостями формування їхньої кореневої системи: бічні корені утворюються внаслідок мітозу (ділення клітин), після того як головний корінь досягає певного розміру (подальше збільшення довжини головного кореня обумовлене розтягуванням клітин) [168]. Тому, огірки як тест-об'єкт зручно використовувати для визначення цитостатичної активності сполук. Досліди проводили для трьох різних концентрацій кожної досліджуваної сполуки ($C_1=7 \times 10^{-4}$ М, $C_2=7 \times 10^{-5}$ М, $C_3=7 \times 10^{-6}$ М).

В табл. 3.12 наведено дані, що відображають вплив імінопохідних госиполу на формування кореневої системи огірків (*Cucumis sativus L.*).

Отримані дані свідчать, що сполуки GDA, GDFA (C_1 і C_2), GMTA (C_1), GAMI і GSAP стимулюють збільшення довжини головного кореня майже на 200 %. GCTA практично не впливає на зростання головного кореня.

**Вплив імінопохідних госиполу на формування кореневої системи огірків
(*Cucumis sativus L.*).**

Сполука		Приріст довжини головного кореня, % від контр.	Поява бічних коренів, % від контр.
1	2	3	4
GDA	C ₁	183±22	96±9
	C ₂	175±21	64±7
	C ₃	210±26	81±9
GDFA	C ₁	193±15	73±7
	C ₂	192±20	68±7
	C ₃	115±14	57±6
GMTA	C ₁	180±17	82±7
	C ₂	138±12	64±6
	C ₃	129±9	59±10
GAMI	C ₁	193±22	86±10
	C ₂	207±22	70±8
	C ₃	198±22	95±11
GSAP	C ₁	191±25	88±8
	C ₂	189±22	77±9
	C ₃	172±21	73±9
GCTA	C ₁	114±18	64±6
	C ₂	94±11	55±9
	C ₃	102±12	97±12

Крім того, всі сполуки пригнічують появу бічних коренів. А у випадку сполук GDFA (C₃), GMTA (C₃) і GCTA (C₂), кількість бічних коренів майже на 50 % менша у порівнянні з контрольним дослідом. Це свідчить про те, що всі

досліджувані сполуки пригнічують проліферацію клітин і мають високу цитостатичну активність.

Дослідження біологічної активності на кореневій системі огірків – це первинний тест. І цей тест продемонстрував, що досліджувані основи Шиффа і гідразони госиполу є біологічно активними сполуками. Результати даного дослідження вказують на перспективність подальших біологічних досліджень цих сполук (як *in vitro*, так і *in vivo*).

Останнім часом набувають популярності прогностичні методи дослідження біологічної активності хімічних сполук. Так, для прогнозу біологічних властивостей досліджуваних основ Шиффа і гідразонів госиполу використовувались QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) методи [169]. QSAR – це процедура побудови моделей, що дозволяє за структурами хімічних сполук передбачати їхні різноманітні властивості. Пошук кількісних співвідношень структура-властивість заснований на застосуванні методів математичної статистики і машинного навчання для побудови моделей, що дозволяють за описом структур хімічних сполук передбачати їхні властивості (фізичні, хімічні, біологічну активність) [169]. При прогнозуванні властивостей на якісному рівні (наприклад, чи буде дана хімічна сполука мати даний вид біологічної активності) говорять про розв’язок класифікаційної задачі, тоді як при прогнозуванні числових значень властивостей говорять про розв’язок регресійної задачі. Використання QSAR моделей дозволяє заздалегідь визначити біологічну активність ще не синтезованих сполук. Це дає можливість відбирати сполуки для подальшого синтезу без проведення скринінгу на лабораторних тваринах та *in vitro* вивчати вплив різних факторів на біологічну активність. QSAR – це альтернативний шлях до визначення біологічних властивостей, особливо в тих випадках, коли експериментальні дослідження неможливі або економічно чи етично невиправдані.

Для прогнозування біологічних властивостей досліджуваних сполук було використано ресурс [170]. Результати порівнювались із госиполом і діаніліногосиполом.

Проводилось прогнозування значень LD_{50} (доза певного подразника, що викликає загибель половини членів піддослідної популяції за визначений термін) для щурів з чотирма видами введення досліджуваної речовини (пероральним (ПР), внутрішньовенним (ВВ), внутрішньочеревним (ВЧ), підшкірним (П)).

Госипол (діальдегідна форма): $LD_{50}(ПР)= 1139 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(ВВ)= 96 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(ВЧ)= 291 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(П)= 674 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$.

Діаніліногосипол (GDA) (дієнамінна форма): $LD_{50}(ПР)= 1931 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(ВВ)= 51 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(ВЧ)= 676 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(П)= 208 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$.

Ці дані свідчать про те, що конденсація госиполу з первинними амінами і одержання імінопохідних госиполу зменшує гостру токсичність для щурів при пероральному і внутрішньочеревному введенні. Для ряду досліджуваних основ Шиффа і гідразонів госиполу дані аналогічних прогнозувань складають:

Основа Шиффа госиполу з 4-фтораніліном (GDFa) (дієнамінна форма): $LD_{50}(ПР)= 1392 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(ВВ)= 83 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(ВЧ)= 703 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(П)= 735 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$.

Основа Шиффа госиполу з 4-броманіліном (GDBa) (дієнамінна форма): $LD_{50}(ПР)= 1540 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(ВВ)= 184 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(ВЧ)= 859 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(П)= 788 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$.

Основа Шиффа госиполу з 4-метоксіаніліном (GMTa) (дієнамінна форма): $LD_{50}(ПР)= 2800 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(ВВ)= 21 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(ВЧ)= 550 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(П)= 1061 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$.

Основа Шиффа госиполу з 2,5-диметоксіаналіном (GDMTa) (дієнамінна форма): $LD_{50}(ПР)= 3135 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(ВВ)= 74 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(ВЧ)= 453 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(П)= 1195 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$.

Основа Шиффа госиполу з 3-аміно-5-метилізоксазолом (GAMi) (дієнамінна форма): $LD_{50}(ПР)= 1689 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(ВВ)= 107 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(ВЧ)= 641 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(П)= 602 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$.

Основа Шиффа госиполу з 2-(3,5-диметил-1H-1,2,4-триазол-1-іл)-1-метилетил]аміном (GDTa) (дієнамінна форма): $LD_{50}(ПР)= 1460 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(ВВ)= 95 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(ВЧ)= 127 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(П)= 829 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$.

Основа Шиффа госиполу з 4-аміноантипірином (GSAP) (дієнамінна форма): $LD_{50}(PP)= 1075 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(BB)= 70 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(BЧ)= 455 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(П)= 231 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$.

Гідразон госиполу з фенілгідразином (GDPG) (діїмінна форма): $LD_{50}(PP)= 1835 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(BB)= 74 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(BЧ)= 850 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(П)= 163 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$.

Гідразон госиполу з (карбоксиметил)-триметиламоній хлорид гідразином (GCTA) (діїмінна форма): $LD_{50}(PP)= 635 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(BB)= 193 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(BЧ)= 759 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$; $LD_{50}(П)= 287 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$.

Вцілому, введення імінних фрагментів в структуру госиполу призвело до зниження гострої токсичності для щурів. Однак є окремі випадки, коли зменшення токсичності не спостерігалось, а іноді, навіть перевищувало значення, одержані для госиполу. Так при пероральному введенні для основи Шиффа госиполу з 4-аміноантипірином (GSAP) спостерігалась токсичність, близька до госиполу, а у випадку гідразона з (карбоксиметил)-триметиламоній хлорид гідразином (GCTA), $LD_{50}(PP)$ має майже вдвічі менше значення ніж для госиполу. У випадку основ Шиффа госиполу з 4-метоксіаніліном (GMTA) і з 2,5-диметоксіаналіном (GDMTA) значення $LD_{50}(PP)$ приблизно у три рази перевищують аналогічне значення для госиполу. В цілому, слід відмітити досить низьку токсичність цих сполук при пероральному введенні для щурів. При внутрішньовенному введенні основа Шиффа госиполу з 4-броманіліном (GDBA) і гідразон з (карбоксиметил)-триметиламоній хлорид гідразином (GCTA) виявляють вдвічі меншу токсичність ніж госипол, а основа Шиффа з 4-метоксіаніліном (GMTA) має у чотири рази менше значення $LD_{50}(BB)$ ніж госипол. При внутрішньочеревному введенні усі досліджувані імінопохідні (окрім основи Шиффа з 2-(3,5-диметил-1H-1,2,4-триазол-1-іл)-1-метилетил]аміном (GDТА)) виявились у 2,5-4 рази менш токсичними ніж госипол. При підшкірному введенні токсичність основи Шиффа госиполу з 2,5-диметоксіаналіном (GDMTA) виявилась майже вдвічі нижчою ніж у госиполу. А досліджувані гідразони госиполу виявились більш токсичними ніж госипол при підшкірному введенні. Інші досліджувані основи Шиффа за цим показником близькі до вихідного госиполу.

Досить цікавими є результати порівняльного аналізу гострої токсичності для щурів для ряду основ Шиффа госиполу з анілінами (незаміщеним аніліном, 4-фтораніліном, 4-броманіліном, 4-метоксіаніліном, 2,5-диметоксіаніліном). Діаніліногосипол (GDA) виявляє дещо меншу токсичність ніж основи Шиффа з 4-фтораніліном (GDFA) і 4-броманіліном (GDBA) при пероральному введенні, але є суттєво більш токсичною ніж основи Шиффа госиполу з 4-метоксіаніліном (GMTA) і 2,5-диметоксіаніліном (GDMTA). Зворотна тенденція спостерігається при внутрішньочеревному введенні: діаніліногосипол (GDA) виявляє більшу токсичність ніж основи Шиффа з 4-фтораніліном (GDFA) і 4-броманіліном (GDBA) і меншу токсичність ніж основи Шиффа госиполу з 4-метоксіаніліном (GMTA) і 2,5-диметоксіаніліном (GDMTA). При внутрішньовенному введенні діаніліногосипол виявлятиме меншу токсичність ніж основа Шиффа з 4-метоксіаніліном (GMTA) і більшу ніж інші досліджувані основи Шиффа госиполу з аніліновими замісниками. При підшкірному введенні діаніліногосипол виявлятиме у 3,5-6 разів більшу токсичність ніж інші досліджувані основи Шиффа госиполу з аніліновими замісниками.

Далі проведений кількісний прогноз екотоксичності для досліджуваних імінопохідних госиполу. Прогнози QSAR були зроблені на основі досліджень 50 % летальної концентрації для риб (*Fathead Minnow* - гольян) протягом 96 годин ($\lg(\text{LC}_{50}(\text{P}), \text{mM})$), досліджень 50 % летальної концентрації для планктонних ракоподібних (*Daphnia magna*) протягом 48 годин ($\lg(\text{LC}_{50}(\text{D}), \text{M})$) та інгібування росту інфузорій (*Tetrahymena pyriformis*) ($\lg(\text{IGC}_{50}), \text{M}$). Крім того було проведено прогнозування фактору біоконцентрації (накопичення хімічної речовини в або на організмі, коли джерелом цієї хімічної речовини є тільки вода, визначається як відношення концентрації хімічної речовини в організмі або біоті до концентрації цієї речовини у воді) ($\lg(\text{ФБК})$). Для госиполу і діаніліногосиполу дані прогнозувань наведені нижче.

Госипол (діальдегідна форма): $\lg(\text{LC}_{50}(\text{P})) = -5,8$; $\lg(\text{LC}_{50}(\text{D})) = -7,2$; $\lg(\text{IGC}_{50}) = -2,7$; $\lg(\text{ФБК}) = 1,74$.

Діаніліногосипол (GDA) (дієнамінна форма): $\lg(LC_{50}(P)) = -7,2$; $\lg(LC_{50}(Д)) = -7,4$; $\lg(IGC_{50}) = -2,8$; $\lg(\Phi BK) = 0,09$.

Ці дані свідчать про те, що конденсація госиполу з аніліном суттєво зменшує фактор біоконцентрації, інші досліджувані параметри залишаються практично такими самими. Для ряду досліджуваних основ Шиффа і гідразонів госиполу ці дані складають:

Основа Шиффа госиполу з 4-фтораніліном (GDFA) (дієнамінна форма): $\lg(LC_{50}(P)) = -7,6$; $\lg(LC_{50}(Д)) = -8,0$; $\lg(IGC_{50}) = -2,5$; $\lg(\Phi BK) = 0,04$.

Основа Шиффа госиполу з 4-броманіліном (GDBA) (дієнамінна форма): $\lg(LC_{50}(P)) = -7,9$; $\lg(LC_{50}(Д)) = -8,1$; $\lg(IGC_{50}) = -3,6$; $\lg(\Phi BK) = -0,72$.

Основа Шиффа госиполу з 4-метоксіаніліном (GMTA) (дієнамінна форма): $\lg(LC_{50}(P)) = -8,0$; $\lg(LC_{50}(Д)) = -8,3$; $\lg(IGC_{50}) = -3,2$; $\lg(\Phi BK) = -0,07$.

Основа Шиффа госиполу з 2,5-диметоксіаналіном (GDMTA) (дієнамінна форма): $\lg(LC_{50}(P)) = -7,9$; $\lg(LC_{50}(Д)) = -7,7$; $\lg(IGC_{50}) = -3,1$; $\lg(\Phi BK) = -1,06$.

Основа Шиффа госиполу з 3-аміно-5-метилізоксазолом (GAMI) (дієнамінна форма): $\lg(LC_{50}(P)) = -6,8$; $\lg(LC_{50}(Д)) = -7,4$; $\lg(IGC_{50}) = -3,0$; $\lg(\Phi BK) = 0,30$.

Основа Шиффа госиполу з 2-(3,5-диметил-1H-1,2,4-триазол-1-іл)-1-метилетил]аміном (GDТА) (дієнамінна форма): $\lg(LC_{50}(P)) = -7,8$; $\lg(LC_{50}(Д)) = -7,1$; $\lg(IGC_{50}) = -2,9$; $\lg(\Phi BK) = -1,59$.

Основа Шиффа госиполу з 4-аміноантипірином (GSAP) (дієнамінна форма): $\lg(LC_{50}(P)) = -7,9$; $\lg(LC_{50}(Д)) = -7,2$; $\lg(IGC_{50}) = -2,7$; $\lg(\Phi BK) = -3,32$.

Гідразон госиполу з фенілгідрaziном (GDPG) (діімінна форма): $\lg(LC_{50}(P)) = -8,1$; $\lg(LC_{50}(Д)) = -7,7$; $\lg(IGC_{50}) = -2,5$; $\lg(\Phi BK) = 0,10$.

Гідразон госиполу з (карбоксиметил)-триметиламоній хлорид гідрaziном (GCTA) (діімінна форма): $\lg(LC_{50}(P)) = -6,7$; $\lg(LC_{50}(Д)) = -7,2$; $\lg(IGC_{50}) = -2,8$; $\lg(\Phi BK) = -1,57$.

Результати прогнозів свідчать, що досліджувані сполуки мало відрізняються від госиполу за показниками 50 % летальної концентрації для риб (*Fathead Minnow* - гольян) протягом 96 годин ($\lg(LC_{50}(P))$, mM), 50 % летальної концентрації для планктонних ракоподібних (*Daphnia magna*) протягом 48 годин

(lg(LC₅₀(Д), М) та показниками інгібування росту інфузорій (*Tetrahymena pyriformis*) (lg(IGC₅₀), М). А от за фактором біоконцентрації спостерігається суттєва відмінність від госиполу. Так, всі досліджувані сполуки мають значно менші значення фактора біоконцентрації (lg(ФБК)) ніж госипол. А отже всі досліджувані сполуки виявляють меншу екотоксичність ніж госипол.

Порівняльний аналіз основ Шиффа госиполу з похідними аніліну свідчить, що всі сполуки мають приблизно однакові показники, окрім фактора біоконцентрації. За цим показником діаніліногосипол (GDA) виявляє більшу екотоксичність ніж інші досліджувані основи Шиффа з похідними аніліну (особливо ніж основи Шиффа з 4-броманіліном (GDBA) і 2,5-диметоксіаналіном (GDMTA)).

Було проведено прогнозування загального біологічного потенціалу молекул (фармакологічні ефекти, механізми дії, токсичні ефекти, побічні ефекти, взаємодія з метаболічними ферментами та транспортерами тощо.). Оцінювання проводилось з імовірністю, що сполука буде виявляти ту чи іншу біологічну дію не нижче ніж 0,7 ($P_{a \geq 0,7}$).

Прогнозування показало, що основа Шиффа госиполу з 4-фтораніліном (GDFA) покращуватиме метаболізм ліпідів, холестеролу і стероїдів. А також виявлятиме антинеопластичну дію (інгібування або запобігання росту і поширенню пухлин або злоякісних клітин). Можливих побічних ефектів і токсичної дії, що проявлялись би з імовірністю вище 0,7 не виявлено. Основа Шиффа госиполу з 4-броманіліном (GDBA) також покращуватиме метаболізм ліпідів, холестеролу і стероїдів і виявлятиме антинеопластичну дію. Крім того ця сполука буде агоністом апоптозу (процес запрограмованої клітинної загибелі) і виявлятиме сперміцидну дію (контрацептивний ефект). Основи Шиффа госиполу з 4-метоксіаніліном (GMTA) і 2,5-диметоксіаналіном (GDMTA) будуть інгібіторами убіхінол-цитохром *c*-оксидоредуктази (мультибілковий комплекс, що відіграє важливу роль у біохімічній генерації АТФ). Покращуватимуть метаболізм ліпідів, холестеролу і стероїдів, виявлятимуть антинеопластичну дію і індукуватимуть апоптоз. Основа Шиффа госиполу з 3-аміно-5-метилізоксазолом

(GAMI) буде інгібітором кінази фактору росту тромбоцитів і антинеопластиком. Основа Шиффа госиполу з 2-(3,5-диметил-1H-1,2,4-триазол-1-іл)-1-метилетил]аміном (GDTA) виявлятиме антинеопластичні властивості (проти клітин раку шийки матки). Основа Шиффа госиполу з 4-аміноантипірином (GSAP) покращуватиме метаболізм ліпідів, холестеролу і стероїдів, виявлятиме протизапальну, анальгізуючу і жарознижуючу дію. Ця сполука може бути потенційним лікарським засобом для лікування ревматоїдного артриту. Гідразон госиполу з фенілгідразином (GDPG) покращуватиме метаболізм ліпідів, холестеролу, стероїдів і може бути потенційним лікарським засобом проти лейкемії.

Проведені прогностичні дослідження свідчать, що досліджувані імінопохідні госиполу виявлятимуть різноманітні корисні біологічні властивості (при майже повній відсутності побічних ефектів і токсичної дії, що проявлялись би з імовірністю вище 0,7) і є перспективними об'єктами для подальших біологічних досліджень. Конденсація госиполу з первинними амінами і гідразинами відкриває перспективу одержання ефективних лікарських засобів на основі рослинної сировини.

Висновки до розділу 3

Проведене систематичне дослідження спектрохімічних характеристик і антирадикальних властивостей основ Шиффа і гідразонів госиполу. Методи ЯМР, ІЧ та УФ спектроскопії у поєднанні із квантово-хімічними розрахунками дозволили досить ґрунтовно дослідити таутомерні рівноваги, виявити чинники, що впливають на них. Характеристики антирадикальних властивостей основ Шиффа і гідразонів госиполу, що одержані за результатами модельних реакцій з 2,2'-дифеніл-1-пікрилгідразилом і катіон-радикалом 2,2'-азино-біс-(3-етилбензтіазолін-6-сульфо кислоти), є досить високими і перевищують такі для деяки відомих природних і синтетичних аналогів. Наявність кореляції між величинами хімічних зсувів протонів N–H груп основ Шиффа госиполу і константами швидкості реакції з ДФПГ в присутності хлоридної кислоти дозволяє робити прогноз реакційної здатності основ Шиффа госиполу по відношенню до вільних радикалів. Підтверджено наявність біологічної активності у досліджуваних сполк. Це робить їх потенційними об'єктами для подальших біологічних досліджень і створення нових лікарських засобів. Спектроскопічні, структурні, кінетичні характеристики та характеристики антирадикальних властивостей є важливим довідковим матеріалом.

Основні положення цього розділу викладені в роботах автора [145-149, 151-157, 161-163, 166, 167].

ВИСНОВКИ

Методами молекулярної спектроскопії (ІЧ, УФ, ЯМР) та квантової хімії систематично досліджено спектрохімічні характеристики ряду основ Шиффа і гідразонів госиполу. Вивчено таутомерні рівноваги і чинники, що впливають на них. Досліджено антирадикальні властивості отриманих нами сполук в реакціях з 2,2'-дифеніл-1-пікрилгідразилом та катіон-радикалом 2,2'-азино-біс-(3-етилбензтіазолін-6-сульфо кислоти) в етанолі. Визначено біологічну активність основ Шиффа і гідразонів госиполу.

1. Синтезовано ряд імінопохідних госиполу і встановлено будову отриманих сполук. За допомогою DFT і TD-DFT розрахунків проведено оптимізацію геометрій молекул і повне віднесення усіх сигналів в ^{13}C ЯМР спектрах та смуг поглинання в коливальних і електронних спектрах. Показано, що основи Шиффа госиполу існують у розчинах переважно в дінамічній таутомерній формі, а гідразони тільки в діімінній формі.

2. Для імінопохідного госиполу з 3-аміно-5-метилізоксазолом (GAMI) у високополярних середовищах (ДМСО, ДМФА) спостерігається зсув таутомерної рівноваги в бік діімінної форми. За допомогою квантово-хімічних розрахунків виконано віднесення смуг поглинання в ІЧ спектрі GAMI. Доведено, що в твердому стані ця сполука існує в дінамічній таутомерній формі. Інші досліджені основи Шиффа госиполу існують виключно у дінамічній таутомерній формі, а гідразони у діімінній.

3. Квантово-хімічні розрахунки енергій гомолітичної дисоціації (BDE) і гетеролітичної дисоціації (PA) для O–H (N–H) груп імінопохідних госиполу свідчать, що C(1)O–H групи є найбільш реакційно здатними. Одержано константи швидкості повільної стадії реакції досліджених сполук з ДФПГ. Доведено, що всі вивчені сполуки мають високі антирадикальні властивості і виявляють антирадикальну дію не гіршу, ніж більшість немодифікованих відомих природних сполук.

4. Порівняльний аналіз антирадикальної дії імінопохідних госиполу по відношенню до радикалаДФПГ і катіон-радикала АБТС свідчить, що досліджені сполуки є більш ефективними антирадикальними агентами по відношенню до катіон-радикала АБТС ніж доДФПГ. Встановлено, що стехіометричні коефіцієнти в реакції з катіон-радикалом АБТС перевищують кількість О–Н (N–H) груп в структурі імінопохідних, що імовірно обумовлено взаємодією катіон-радикала АБТС з радикальними продуктами реакції.

5. Показано існування кореляції між величинами хімічних зсувів протонів N–H груп основ Шиффа госиполу і константами швидкості реакції зДФПГ в кислих середовищах (додатки хлоридної кислоти), що відкриває нову можливість прогнозу реакційної здатності основ Шиффа госиполу по відношенню до вільних радикалів.

6. Визначено біологічну активність ряду основ Шиффа госиполу. Встановлено, що всі досліджені сполуки пригнічують проліферацію клітин і мають високу цитостатичну активність.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Longmore, J. Cotton-Seed Oil: Its Colouring Matter and Mucilage, and Description of a New Method of Recovering the Loss Occurring in the Refining Process. *J. Soc. Chem. Ind. (London)*. **1886**, 5, 200-206.
2. Marchlewski, L. Gossypol, ein Bestandtheil der Baumwollsamensamen. *J. Prakt. Chem.* **1899**, 60, 84-94.
3. Kenar, J.A. Reaction Chemistry of Gossypol and Its Derivatives. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2006**, 83(4), 269-302.
4. Vander Jagt, D.L.; Deck, L.M.; Royer, R.E. Gossypol: Prototype of Inhibitors Targeted to Dinucleotide Folds. *Curr. Med. Chem.* **2000**, 7(4), 479-498.
5. Yu, Y. Probing into the Mechanism of Action, Metabolism and Toxicity of Gossypol by Studying Its (+)- and (-)- Stereoisomers. *J. Ethnopharmacol.* **1987**, 20(1), 65-78.
6. Jaroszewski, J.W.; Strom-Hansen, T.; Hansen, L.L. Optical Stability of Gossypol. *Chirality*. **1992**, 4(4), 216-221.
7. Adams, R.; Geissman, T.A.; Edwards, J.D. Gossypol, a Pigment of Cottonseed. *Chem. Rev.* **1960**, 60(6), 555-574.
8. Jaroszewski, J.W.; Cornett, C.; Strom-Hansen, T. Gossypol. In *NMR Spectroscopy in Drug Research*, Proceedings of the Alfred Benzon Symposium 26, Copenhagen, August 16-20, 1987; Jaroszewski, J.W., Schaumburg, K., Kofod, H. Eds.; Munksgaard: Copenhagen, **1988**; pp. 75-100.
9. Baram, N.I.; Ismailov, A.I.; Kamaev, F.G.; Leont'ev, V.B. PMR Spectroscopic Investigation of Various Samples of Gossypol. *Chem. Nat. Compd.* **1976**, 12(2), 221-224.
10. Brzezinski, B.; Olejnik, J.; Paszyc, S.; Aripov, T. F. ^1H NMR Studies of Gossypol and Its Complexes with Some Organic Compounds. *J. Mol. Struct.* **1990**, 220, 261-268.

11. Brycki, B.; Brzezinski, B.; Marciniak, B.; Paszyc, S. ^1H and ^{13}C NMR Studies of Tetrabutylammonium Salts of Gossypol in Chloroform Solution. *Spectrosc. Lett.* **1991**, *24*(4), 509-518.
12. Dowd, M.K.; Preparation of Enantiomeric Gossypol by Crystallization. *Chirality.* **2003**, *15*(6), 486-493.
13. Ibragimov, B.T.; Talipov, S.A.; Nazarov, G.B.; Aripov, T.F.; Shukurov, Z.; Ismailov, A.I. X-Ray Diffraction Study of Gossypol and Its Derivatives. I. Steric Structure of Gossypol. *Chem. Nat. Compd.* **1981**, *5*, 664-665.
14. Gdaniec, M.; Ibragimov, B.T.; Talipov, S.A. Gossypol. In *Comprehensive Supramolecular Chemistry*; MacNicol, D.D., Toda, F., Bishop, R., Eds.; Elsevier: New York, **1996**; Vol. 6; pp. 117-145.
15. Abdullaev, N.D.; Tyshchenko, A.A.; Nazarova, I.P.; Ul'chenko, N.T.; Yagudaev, M.R.; Glushenkov, A.I. ^1H and ^{13}C NMR Spectra of Transformation Products of Gossypol in Solutions. *Chem. Nat. Compd.* **1990**, *26*(2), 129-138.
16. Huang, J.X.; Zhao, S.X.; Gu, Z.P.; Zhu, Y.Q.; Ji, R.Y. Studies on the Synthesis of Gossypol Derivatives and their Antifertility Action. *Shengzhi Yu Biyun.* **1986**, *6*(1), 48-52.
17. Lordelo, M.M.; Davis, A.J.; Calhoun, M.C.; Dowd, M.K.; Dale, N.M. Relative Toxicity of Gossypol Enantiomers in Broilers. *Poult. Sci.* **2005**, *84*(9), 1376-1382.
18. Carruth, F.E. Contribution to the Chemistry of Gossypol, the Toxic Principle of Cottonseed. *J. Am. Chem. Soc.* **1918**, *40*(4), 647-663.
19. Carruth, F.E. Methods for Approximating the Relative Toxicity of Cottonseed Products. *J. Biol. Chem.* **1917**, *32*(1), 87-90.
20. Clark, E.P. Studies on Gossypol. I. The Preparation, Purification, and Some of the Properties of Gossypol, the Toxic Principle of Cottonseed. *J. Biol. Chem.* **1927**, *75*(3), 725-739.
21. Clark, E.P. Studies on Gossypol. II. Concerning the Nature of Carruth's D Gossypol. *J. Biol. Chem.* **1928**, *76*(1), 229-235.

22. Abou-Donia, M.B. Physiological Effects and Metabolism of Gossypol. *Residue Rev.* **1976**, *61*, 125-160.
23. Kuk, M.S.; Hron, R.J.; Abraham, G. Adsorptive Gossypol Removal. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1993**, *70*(2), 209-210.
24. Kuk, M.S.; Hron, R.J. Cottonseed Extraction with a New Solvent System: Isohexane and Alcohol Mixtures. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1998**, *75*(8), 927-930.
25. Eskin, N.A.M.; Akomas, O.; Latta, M. A Study of Gossypol Reduction by Choline and Ethanolamine Using a Model System. *Food Chem.* **1995**, *52*(1), 43-46.
26. Cater, C.M.; Lyman, C.M. Reaction of Gossypol with Amino Acids and Other Amino Compounds. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1969**, *46*(12), 649-653.
27. Dao, V.-T.; Gaspard, C.; Mayer, M.; Werner, G.H.; Nguyen, S.N.; Michelot, R.J. Synthesis and Cytotoxicity of Gossypol Related Compounds. *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, *35*(9), 805-813.
28. Маркман, А.Л., Ржехин, В.П. *Госсипол и его производные*. Пищевая промышленность: Москва, **1965**.
29. Talipov, S.A.; Manakov, A.; Ibragimov, B.T.; Lipkowski, J.; Tiljakov, Z.G. Sorption of Ammonia, Methylamine and Methanol by the P3 Polymorph of Gossypol. Synthesis of Unsymmetrical Monoamine Derivatives of Gossypol by a Solid-State Reaction. *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **1997**, *29*(1), 33-39.
30. Lyman, C.M.; Cronin, J.T.; Trant, M.M.; Odell, G.V. Metabolism of Gossypol in the Chick. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1969**, *46*(2), 100-104.
31. Przybylski, P.; Huczynski, A.; Pyta, K.; Brzezinski, B.; Bartl, F. Biological Properties of Schiff Bases and Azo Derivatives of Phenols. *Curr. Org. Chem.* **2009**, *13*(2), 124-148.
32. Przybylski, P.; Wojciechowski, G.; Schilf, W.; Brzezinski, B.; Bartl, F. Spectroscopic Study and PM5 Semiempirical Calculations of Tautomeric Forms of Gossypol Schiff Base with n-Butylamine in the Solid State and in the Solution. *J. Mol. Struct.* **2003**, *646*(1-3), 161-168.

33. Przybylski, P.; Maluszynska, M.; Brzezinski, B. Spectroscopic and Semiempirical Studies of New Schiff Base of Gossypol with Allylamine in Solution. *J. Mol. Struct.* **2005**, 750(1-3), 152-157.
34. Przybylski, P.; Bartl, F.; Brzezinski, B. Spectroscopic Studies and PM5 Semiempirical Calculations of New Schiff Bases of Gossypol with Polyoxaalkylamines. *Biopolymers.* **2002**, 65(2), 111-120.
35. 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. *J. Mol. Struct.* **2006**, 797(1-3), 92-98.
36. Fish, R.G.; Groundwater, P.W.; Morgan, J.J.G. The Photo-Epimerisation of Gossypol Schiff's Bases. *Tetrahedron Asymmetry.* **1995**, 6(4), 873-876.
37. Przybylski, P.; Brzezinski, B. Spectroscopic Studies and PM3 Semiempirical Calculations of Schiff Bases of Gossypol with L-Amino Acid Methyl Esters. *Biopolymers.* **2002**, 67(1), 61-69.
38. Przybylski, P.; Schilf, W.; Brzezinski, B. ^{13}C , ^{15}N NMR and CP-MAS as well as FT-IR and PM5 Studies of Schiff Base of Gossypol with l-Phenylalanine Methyl Ester in Solution and Solid. *J. Mol. Struct.* **2005**, 734(1-3), 123-128.
39. Przybylski, P.; Schilf, W.; Kamienski, B.; Brzezinski, B.; Bartl, F. ^{13}C , ^{15}N CP-MAS, FT-IR and PM5 Studies of Some Schiff Bases of Gossypol in Solid. *J. Mol. Struct.* **2005**, 748(1-3), 111-117.
40. Przybylski, P.; Wlodarz, M.; Brzezinski, B.; Bartl, F. Spectroscopic Studies and PM5 Semiempirical Calculations of Tautomeric Forms of Gossypol Schiff Base with (R)-Tetrahydrofurfurylamine. *J. Mol. Struct.* **2004**, 691(1-3), 227-234.
41. Przybylski, P.; Jasinski, K.; Brzezinski, B.; Bartl, F. Spectroscopic Studies and PM5 Semiempirical Calculations of New Schiff Bases of Gossypol with Amino Derivatives of Crown Ethers. *J. Mol. Struct.* **2002**, 611(1-3), 193-201.
42. Przybylski, P.; Brzezinski, B.; Bartl, F. Spectroscopic and PM5 Studies of a New Schiff Base of Gossypol with 4-Aminobenzo-15-Crown-5 in Solution. *J. Mol. Struct.* **2006**, 794(1-3), 237-243.

43. Matlin, S.A.; Roshdy, S.; Cass, G.B.; Freitas, C.G.; Longo, R.L.; Malvestiti, I. Structural Investigations of Gossypol Schiff's Bases. *J. Brazil. Chem. Soc.* **1990**, *1*(3), 128-133.
44. Przybylski, P.; Bejcar, G.; Huczynski, A.; Schroeder, G.; Brzezinski, B.; Bartl, F. ¹H- and ¹³C-NMR, FTIR, UV-VIS, ESI-MS, and PM5 Studies as well as Emission Properties of a New Schiff Base of Gossypol with 5-Methoxytryptamine and a New Hydrazone of Gossypol with Dansylhydrazine. *Biopolymers.* **2006**, *82*(5), 521-535.
45. Przybylski, P.; Bejcar, G.; Schilf, W.; Kamienski, B.; Brzezinski, B. ¹³C, ¹⁵N CP-MAS as well as FT-IR Studies of Gossypol Derivatives with Aromatic Substituents in Solid. *J. Mol. Struct.* **2007**, *826*(2-3), 150-155.
46. Rezhepov, K.Zh.; Ziyaev, Kh.L.; Baram, N.I.; Kamaev, F.G.; Levkovich, M.G.; Saiitkulov, A.M.; Ismailov, A.I. Azo-Derivatives of Gossypol and Its Imines. *Chem. Nat. Compd.* **2003**, *39*(4), 358-361.
47. Przybylski, P.; Ratajczak-Sitarz, M.; Katrusiak, A.; Wojciechowski, G.; Schilf, W.; Brzezinski, B. Crystal Structure of Schiff Base Derivative of Gossypol with 3,6,9-Trioxa-Decylamine. *J. Mol. Struct.* **2003**, *655*(2), 293-300.
48. Przybylski, P.; Bejcar, G.; Schroeder, G.; Brzezinski, B. Complexes of Schiff Base of Gossypol with 5-Hydroxy-3-Oxapentylamine and Some Monovalent Cations Studied by ESI MS as well as PM5 Semiempirical Methods. *J. Mol. Struct.* **2003**, *654*(1-3), 245-252.
49. Przybylski, P.; Schroeder, G.; Pankiewicz, R.; Brzezinski, B.; Bartl, F. Complexes of Schiff Base of Gossypol with n-Butylamine and Some Monovalent or Bivalent Cations Studied by ESI MS, NMR, FT-IR as well as PM5 Semiempirical Methods. *J. Mol. Struct.* **2003**, *658*(3), 193-205.
50. Przybylski, P.; Ilkevych, N.; Schroeder, G.; Brzezinski, B.; Bartl, F. Schiff Base of Gossypol with 3,6,9-Trioxa-Decylamine Complexes with Monovalent Cations Studied by Mass Spectrometry, ¹H-NMR, FTIR, and PM5 Semiempirical Methods. *Biopolymers.* **2004**, *73*(4), 470-483.

51. Przybylski, P.; Wlodarz, M.; Schroeder, G.; Pankiewicz, R.; Brzezinski, B.; Bartl, F. Multinuclear NMR, FT-IR, ESI MS Studies and PM5 Semiempirical Calculations of New Ethylene Glycol Ester of Lasalocid Acid and their Complexes with K^+ Cation. *J. Mol. Struct.* **2004**, *694*(1-3), 55-61.
52. Przybylski, P.; Schroeder, G.; Brzezinski, B. The Schiff Base of Gossypol with 2-(Aminomethyl)-18-Crown-6 Complexes and H^+ , Li^+ , Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ Cations Studied by ESI MS, 1H NMR, FT-IR and PM5 Semiempirical Methods. *J. Mol. Struct.* **2004**, *699*(1-3), 65-77.
53. Przybylski, P.; Brzezinski, B.; Bartl, F. The Schiff Base of Gossypol with 3,6,9,12,15,18,21,24-Octaoxa-Pentacosylamine Complexes and Monovalent Cations Studied by Electrospray Ionization-Mass Spectrometry, 1H Nuclear Magnetic Resonance, Fourier Transform Infrared, as well as PM5 Semiempirical Methods. *Biopolymers*. **2004**, *74*(4), 273-286.
54. Przybylski, P.; Schroeder, G.; Brzezinski, B. The Schiff Base of Gossypol with 2-(Aminomethyl)-15-Crown-5 Complexes with Monovalent Cations Studied by MS, 1H NMR, FT-IR and PM5 Semiempirical Methods. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2002**, *4*(24), 6137-6143.
55. Przybylski, P.; Brzezinski, B. The Complexes Between Schiff Base of Gossypol with l-Phenylalanine Methyl Ester and Some Monovalent Cations Studied by 1H NMR, ESI MS, FT-IR as well as PM5 Semiempirical Methods. *J. Mol. Struct.* **2003**, *654*(1-3), 167-176.
56. That, Q.T.; Nguyen, K.P.P.; Hansen, P.E. Schiff Bases of Gossypol: An NMR and DFT Study. *Magn. Reson. Chem.* **2005**, *43*(4), 302-308.
57. Ziyayev, Kh.L.; Kamaev, F.G.; Baram, N.I.; Biktimirov, L.; Ismailov, A.I. New Gossypol Imines. *Chem. Nat. Compd.* **1997**, *33*(5), 545-547.
58. Lu, Y.; Li, J.; Dong, C.-E.; Huang, J.; Zhou H.-B.; Wang, W. Recent Advances in Gossypol Derivatives and Analogs: a Chemistry and Biology View. *Future Med. Chem.* **2017**, *9*(11), 1243-1275.

59. Bejcar, G.; Przybylski, P.; Fusiara, J.; Brzezinski, B.; Bartl, F. ^1H , ^{13}C NMR, FT-IR as well as PM5 Semiempirical Studies of New Hydrazone of Gossypol with 2,2-Diethoxyethyl Hydrazine. *J. Mol. Struct.* **2005**, 743(1-3), 145-149.
60. Bejcar, G.; Przybylski, P.; Fusiara, J.; Brzezinski, B.; Bartl, F. Spectroscopic and PM5 Semiempirical Studies of New Hydrazone of Gossypol with 3,6-Dioxaheptylhydrazine. *J. Mol. Struct.* **2005**, 754(1-3), 31-36.
61. Bejcar, G.; Przybylski, P.; Brzezinski, B. NMR, FT-IR as well as PM5 Semiempirical Studies of New Hydrazone of Gossypol with 3-Oxa-n-Butylhydrazine. *J. Mol. Struct.* **2005**, 734(1-3), 45-49.
62. Przybylski, P.; Bejcar, G.; Schilf, W.; Brzezinski, B. Structural and Semiempirical Investigation of Hydrazone of Gossypol and Its Protonated Species. *J. Mol. Struct.* **2008**, 878(1-3), 71-77.
63. Przybylski, P.; Bejcar, G.; Schilf, W.; Brzezinski, B.; Bartl, F. CP-MAS and FT-IR Spectroscopic Studies of New Derivatives of Gossypol in Solid. *J. Mol. Struct.* **2005**, 751(1-3), 151-155.
64. Bejcar, G.; Przybylski, P.; Walkowiak, M.; Brzezinski, B. Spectroscopic Studies and PM5 Semiempirical Calculations of New Hydrazone of Gossypol with 3,6,9-Trioxadecylhydrazine. *J. Mol. Struct.* **2007**, 830(1-3), 72-77.
65. Fish, R.G., Groundwater, P.W.; Morgan, J.J.G. The Photo-Epimerisation of Gossypol Schiff's Bases. *Tetrahedron Asymmetry*. **1995**, 6(4), 873-876.
66. Hron, R.J.; Kim, H.L.; Calhoun, M.C.; Fisher, G.S. Determination of (+)- and (-)-, and Total Gossypol in Cottonseed by High-Performance Liquid Chromatography. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1999, 76(11), 1351-1355.
67. Matlin, S.A.; Belenguer, A.; Tyson, R.G.; Brookes, A.N. Resolution of Gossypol: Analytical and Large-Scale Preparative HPLC on Non-Chiral Phases. *J. High Resolut. Chromatogr.* **1987**, 10(2), 86-91.
68. Sampath, D.S.; Balaram, P. A. Rapid Procedure for the Resolution of Racemic Gossypol. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1986**, (9), 649-650.
69. Matlin, S.A.; Zhou, R. Resolution of Gossypol: Analytical and Preparative HPLC. *J. High Resolut. Chromatogr.* **1984**, 7(11), 629-631.

70. Kai, Z.D.; Kang, S.Y.; Ke, M.J.; Jin, Z.; Liang, H. Resolution of Racemic Gossypol. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1985**, (3), 168-169.
71. Brown, N. M. D.; Nonhebel, D. C. NMR Spectra of Intramolecularly Hydrogen-Bonded Compounds-II: Schiff Bases of β -Diketones and o-Hydroxycarbonyl Compounds. *Tetrahedron.* **1968**, 24(16), 5655-5664.
72. Biktemirov, L.; Baram, M. I.; Ismailov, A. I.; Kamaev, F. G.; Leont'ev, V. B. State of Imino Compounds of Gossypol in Solutions. *Chem. Nat. Compd.* **1975**, 11(2), 314-315.
73. Schilf, W.; Kamienski, B.; Dziembowska, T. Intramolecular Hydrogen Bond Investigations in Schiff Bases Derivatives of 2-Hydroxy-1-Naphthaldehyde and 2-Hydroxy-1-Acetonaphthone in CDCl_3 Solution and in the Solid State by NMR Methods. *J. Mol. Struct.* **2002**, 602-603, 41-47.
74. Schilf, W.; Szady-Chelmieniecka, A.; Grech, E.; Przybylski, P.; Brzezinski, B. Spectroscopic Studies of New Schiff and Schiff-Mannich Bases of ortho-Derivatives of 4-Bromophenol. *J. Mol. Struct.* **2002**, 643(1-3), 115-121.
75. Brzezinski, B.; Zundel, G. Proton Polarizability of Intramolecular Hydrogen Bonds with Molecules Non-Conjugated and Conjugated between Donor and Acceptor Groups. *Chem. Phys. Lett.* **1980**, 75(3), 500-504.
76. Przybylski, P.; Schroeder, G.; Brzezinski, B.; Bartl, F. ^1H NMR, FT-IR and MS Studies and PM5 Semiempirical Calculations of Complexes Between the Schiff Base of Gossypol with 2-(Aminomethyl)-15-Crown-5 and Ca^{2+} , Pb^{2+} and Ba^{2+} Cations. *J. Phys. Org. Chem.* **2003**, 16(5), 289-297.
77. Przybylski, P.; Wojciechowski, G.; Brzezinski, B.; Kozubek, H.; Marciniak, B.; Paszyc, S. Spectroscopic and Semiempirical Studies of Gossypol Complexes with Fe^{2+} and Fe^{3+} Cations. *J. Mol. Struct.* **2001**, 569(1-3), 147-155.
78. Marciniak, B.; Kozubek, H.; Brzezinski, B. UV-Visible Absorption Studies of Gossypol-Metal Cation Complexes in Acetonitrile Solution. *Spectrosc. Lett.* **1991**, 24(10), 1265-1273.

79. Свердлова, О.В. Качественный анализ по электронным спектрам поглощения. *Электронные спектры в органической химии*, 2-е изд.; Химия: Ленинград, **1985**; с.180-185.
80. Rezhepov, K.Zh.; Ziyayev, Kh.L.; Baram, N.I.; Ismailov, A.I.; Kamaev, F.G.; Saiitkulov, A.M. Synthesis and Interferon-Inducing Activity of Azo-Derivatives of Gossypol and Its Imines. *Chem. Nat. Compd.* **2002**, 38(4), 319-322.
81. Ziyayev, Kh.L.; Baram, N.I.; Khodzhanliyazov, B.; Kamaev, F.G.; Biktlmirov, L.; Dzhurabekova, S.B.; Ismailov, A.I. Gossypol and Its Derivatives and their Complexes in Solutions. *Chem. Nat. Compd.* **1998**, 34(1), 38-41.
82. Ibrahim, A.A. Spectrophotometric Studies of Charge Transfer Complex of 8-Hydroxyquinoline with 1,4-Benzoquinone. *Afr. J. Pure Appl. Chem.* **2011**, 5(16), 507-514.
83. Issa, R.M.; Khedr, A.M.; Rizk, H.F. UV-vis, IR and ^1H NMR Spectroscopic Studies of Some Schiff Bases Derivatives of 4-Aminoantipyrine. *Spectrochim. Acta A.* **2005**, 62(1-3), 621-629.
84. Matlin, S.A.; Zhou, R.H.; Games, D.E.; Jones, A.; Ramsey, E.D. HPLC, Mass Spectrometry, and LWMS of Gossypol and Its Derivatives. *J. High Resolut. Chromatogr.* **1984**, 7(4), 196-202.
85. Zhang, L.; Cao, X.X.; Jiang, H.X.; Jiang, B.; Cui, Y.X. Characterizing Some Gossypol and Gossypolone Schiff's Bases by Studying their Fragmentation Patterns with Electrospray Ionization Tandem Mass Spectra. *Chin. Chem. Lett.* **2009**, 20(6), 716-719.
86. Przybylski, P.; Schroeder, G.; Brzezinski, B. Complexes of Schiff Base of Gossypol with 5-Hydroxy-3-Oxapentylamine and Ca^{2+} , Ba^{2+} or Pb^{2+} Cations Studied by NMR, FT-IR, ESI MS as well as PM5 Semiempirical Methods. *J. Mol. Struct.* **2003**, 658(1-2), 115-124.
87. Beketov, K.M.; Talipov, S.A.; Ibragimov, B.T.; Praliev, K.D.; Aripov, T.F. Polymorphism of Dianilinegossypol. *Crystallogr. Rep.* **2003**, 48(4), 641-648.

88. Tyshchenko, A.A.; Filatova, O.F.; Khodzhibaeva, S.M.; Davranov, K.D. Free-Radical Gossypol Derivatives for Cotton Verticillium Wilt. *Chem. Nat. Compd.* **2004**, *40*(1), 75-78.
89. Бучаченко, А.Л. Слабые обменные взаимодействия в азотокисных би- и полирадикалах. В *Свободнорадикальные состояния в химии*. Блюменфельд, Л.А., Молин, Ю.Н., Ред.; Наука: Новосибирск, **1972**; с. 87-101.
90. Пармон В.Н.; Кокорин А.И.; Жидомиров В.Н. *Стабильные бирадикалы*; Наука: Новосибирск, **1980**.
91. Newman, D.J.; Cragg, G.M. Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.* **2012**, *75*(3), 311-335.
92. Yan, F.; Cao, X.-X.; Jiang, H.-X.; Zhao, X.-L.; Wang, J.-Y.; Lin, Y.-H.; Liu, Q.-L.; Zhang, C.; Jiang B.; Guo, F. A Novel Water-Soluble Gossypol Derivative Increases Chemotherapeutic Sensitivity and Promotes Growth Inhibition in Colon Cancer. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*(15), 5502-5510.
93. Yang, J.; Chen, G.; Li, L.L.; Pan, W.; Zhang, F.; Yang, J.; Wu S.; Tien, P. Synthesis and Anti-H₅N₁ Activity of Chiral Gossypol Derivatives and Its Analogs Implicated by a Viral Entry Blocking Mechanism. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*(9), 2619-2623.
94. Yang, J.; Zhang, F.; Li, J.; Chen, G.; Wu, S.; Ouyang, W.; Pan, W.; Yu, R.; Yang, J.; Tien, P. Synthesis and Antiviral Activities of Novel Gossypol Derivatives. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*(3), 1415-1420.
95. Li, L.; Li Z.; Wang, K.; Zhao, S.; Feng, J.; Li, J.; Yang, P.; Liu, Y.; Wang, L.; Li, Y.; Shang, H.; Wang, Q. Design, Synthesis, and Biological Activities of Aromatic Gossypol Schiff Base Derivatives. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62*(46), 11080-11088.
96. Li, L.; Li, Z.; Wang, K.; Liu, Y.; Li, Y.; Wang, Q. Synthesis and Antiviral, Insecticidal, and Fungicidal Activities of Gossypol Derivatives Containing Alkylimine, Oxime or Hydrazine Moiety. *Bioorganic Med. Chem.*, **2016**, *24*(3), 474-483.

97. Shelley, M.D.; Hartley, L.; Groundwater, P.; Fish, R. Structure-Activity Studies on Gossypol in Tumor Cell Lines. *Anticancer Drugs*. **2000**, *11*(3), 209-216.
98. Dao, V.-T.; Dowd, M.K.; Martin, M.-T.; Gaspard, C.; Mayer, M.; Michelot, R.J. Cytotoxicity of Enantiomers of Gossypol Schiff's Bases and Optical Stability of Gossypolone. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, *39*(7), 619-624.
99. Lu, Y.; Wu, S.; Yue, Y.; He, S.; Li, J.; Tang, J.; Wang, W.; Zhou, H.-B. Gossypol with Hydrophobic Linear Esters Exhibits Enhanced Antitumor Activity as an Inhibitor of Antiapoptotic Proteins. *ACS Med. Chem. Lett.* **2016**, *7*(12), 1185-1190.
100. Razakantoanina, V.; Phung, N.K.P.; Jaureguiberry, G. Antimalarial Activity of New Gossypol Derivatives. *Parasitol. Res.* **2000**, *86*(8), 665-668.
101. Dodou, K.; Anderson, R.J.; Lough, W.J.; Small, D.A.P.; Shelley, M.D.; Groundwater, P.W. Synthesis of Gossypol Atropisomers and Derivatives and Evaluation of their Anti-Proliferative and Anti-Oxidant Activity. *Bioorganic Med. Chem.* **2005**, *13*(13), 4228-4237.
102. Royer, R.E.; Mills, R.G.; Young, S.A.; Vander Jagt, D.L. Comparison of the Antiviral Activities of 3'-Azido-3'-Deoxythymidine (AZT) and Gossylic Iminolactone (GIL) Against Clinical Isolates of HIV-1. *Pharmacol. Res.* **1995**, *31*(1), 49-52.
103. Zhang, B.; Li, L.; Liu, Y.; Wang, Q. Antiviral Mechanism Study of Gossypol and Its Schiff Base Derivatives Based on Reactive Oxygen Species (ROS). *RSC Adv.* **2016**, *6*(90), 87637-87648.
104. Sonenberg, M.; Huang, J.-T.; Ren, Y.-F.; Su, T.-L.; Watanabe, K.A.; Haspel, H.C.; Corin, R.E.; Hoffer, A.P. Anti-Fertility and Other Actions of Gossypol Analogues. *Contraception*. **1988**, *37*(3), 247-255.
105. Auelbekov, S.A.; Mirzaabdullaev, A.B.; Aslanova, D.Kh.; Kurchakov, S.; Achilova, G.Sh. Synthesis and Antiviral Activity of Gossypol Derivatives. *Pharm. Chem. J.* **1985**, *19*(7), 479-481.

106. Khaitbaev, A.Kh.; Tulyabaev, Z.; Achilova, G.Sh.; Khaitbaev, Kh.Kh.; Auelbekov, S.A. Synthesis and Biological Activity of Some Gossypol Derivatives. *Chem. Nat. Compd.* **1995**, *31*(1), 33-36.
107. Molyneux, P. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* **2004**, *26*(2), 211-219.
108. Sanchez-Moreno, C. Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. *Food Sci. Technol. Int.* **2002**, *8*(3), 121-137.
109. Foti, M.C. Use and Abuse of the DPPH[•] Radical. *J. Agric. Food Chem.* **2015**, *63*(40), 8765-8776.
110. Foti, M.C.; Daquino, C. Kinetic and Thermodynamic Parameters for the Equilibrium Reactions of Phenols with the DPPH[•] Radical. *Chem. Commun.* **2006**, (30), 3252-3254.
111. Hristea, E.N.; Covaci-Cimpeanu, I.C.; Ionita, G.; Ionita, P.; Draghici, C.; Caaproiu, M.T.; Hillebrand, M.; Constantinescu, T.; Balaban, A.T. Reactions of 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH) with Two Syringylic Phenols or One Aroxide Derivative. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, *2009*(5), 626-634.
112. Chen, O.; Zhuang, J.; Guzzetta, F.; Lynch, J.; Angerhofer, A.; Cao, Y.C. Synthesis of Water-Soluble 2,2'-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl Nanoparticles: A New Standard for Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*(35), 12542-12543.
113. Nakanishi, I.; Ohkubo, K.; Imai, K.; Kamibayashi, M.; Yoshihashi, Y.; Matsumoto, K.-I.; Fukuhara, K.; Terada, K.; Itoh, S.; Ozawag, T.; Fukuzumi, S. Solubilisation of a 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl Radical in Water by β -Cyclodextrin to Evaluate the Radical-Scavenging Activity of Antioxidants in Aqueous Media. *Chem. Commun.* **2015**, *51*(39), 8311-8314.
114. Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT.* **1995**, *28*(1), 25-30.

115. Amorati, R.; Valgimigli, L. Advantages and Limitations of Common Testing Methods for Antioxidants. *Free Radic. Res.* **2015**, *49*(5), 633-649.
116. Litwinienko, G.; Ingold, K.U. Solvent Effects on the Rates and Mechanisms of Reaction of Phenols with Free Radicals. *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*(3), 222-230.
117. Foti, M.C.; Daquino, C.; Geraci, C. Electron-Transfer Reaction of Cinnamic Acids and Their Methyl Esters with the DPPH Radical in Alcoholic Solutions. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*(7), 2309-2314.
118. Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans C. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radic. Biol. Med.* **1999**, *26*(9-10), 1231-1237.
119. Garcia-Leis, A.; Jancura, D.; Antalik, M.; Garcia-Ramos, J.V.; Sanchez-Cortes, S.; Jurasekova, Z. Catalytic Effects of Silver Plasmonic Nanoparticles on the Redox Reaction Leading to ABTS^{•+} Formation Studied Using UV-Visible and Raman Spectroscopy. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2016**, *18*(38), 26562-26571.
120. Reszka, K.J.; Britigan, B.E. Doxorubicin Inhibits Oxidation of 2,2'-Azino-Bis(3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonate) (ABTS) by a Lactoperoxidase/H₂O₂ System by Reacting with ABTS-Derived Radical. *Arch. Biochem. Biophys.* **2007**, *466*(2), 164-171.
121. Floegel, A.; Kim, D.-O.; Chung, S.-J.; Koo, S.I.; Chun, O.K. Comparison of ABTS/DPPH Assays to Measure Antioxidant Capacity in Popular Antioxidant-rich US Foods. *J. Food Compos. Anal.* **2011**, *24*(7), 1043-1048.
122. Miller, N.J.; Rice-Evans, C.; Davies, M.J.; Gopinathan V.; Milner, A. A Novel Method for Measuring Antioxidant Capacity and Its Application to Monitoring the Antioxidant Status in Premature Neonates. *Clin. Sci.* **1993**, *84*(4), 407-412.
123. Majcherczyk, A.; Johannes, C.; Huttermann, A. Oxidation of Aromatic Alcohols by Laccase from *Trametes Versicolor* Mediated by the 2,2'-Azino-Bis-(3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulphonic Acid) Cation Radical and Dication. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1999**, *51*(2), 267-276.
124. Kim, D.-O.; Lee, C.Y. Comprehensive Study on Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Various Polyphenolics in Scavenging a Free

- Radical and Its Structural Relationship. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2004**, *44*(4), 253-273.
125. Zhong, Y.; Shahidi, F. Methods for the Assessment of Antioxidant Activity in Foods. In *Handbook of Antioxidants for Food Preservation*, 1st Ed.; Shahidi, F., Eds.; Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition; Woodhead Publishing: Cambridge, **2015**; pp. 287-333.
126. Kim, D.-O., Lee, K.W.; Lee, H.J.; Lee, C.Y. Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Phenolic Phytochemicals. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*(13), 3713-3717.
127. Gulcin, I. Antioxidant Activity of Food Constituents: An Overview. *Arch. Toxicol.* **2012**, *86*(3), 345-391.
128. Awika, J.M.; Rooney, L.W.; Wu, X.; Prior, R.L.; Cisneros-Zevallos, L. Screening Methods to Measure Antioxidant Activity of Sorghum (*Sorghum Bicolor*) and Sorghum Products. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*(23), 6657-6662.
129. Valgimigli, L.; Ingold, K.U.; Lusztyk, J. Solvent Effects on the Reactivity and Free Spin Distribution of 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl Radicals. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*(22), 7947-7950.
130. Amorati, R.; Foti, M.C.; Valgimigli, L. Antioxidant Activity of Essential Oils. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61*(46), 10835-10847.
131. Ingold, K.U.; Pratt, D. A. Advances in Radical-Trapping Antioxidant Chemistry in the 21st Century: A Kinetics and Mechanisms Perspective. *Chem. Rev.* **2014**, *114*(18), 9022-9046.
132. Huynh, M.H.V.; Meyer, T.J. Proton-Coupled Electron Transfer. *Chem. Rev.* **2007**, *107*(11), 5004-5064.
133. Warren, J.J.; Mayer, J.M. Moving Protons and Electrons in Biomimetic Systems. *Biochemistry.* **2015**, *54*(10), 1863-1878.
134. Snelgrove, D.W.; Lusztyk, J.; Banks, J.T.; Mulder, P.; Ingold, K.U. Kinetic Solvent Effects on Hydrogen-Atom Abstractions: Reliable, Quantitative Predictions via a Single Empirical Equation. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*(3), 469-477.

135. Foti, M.C. Antioxidant Properties of Phenols. *J. Pharm. Pharmacol.* **2007**, 59(12), 1673-1685.
136. Litwinienko, G.; Ingold, K.U. Abnormal Solvent Effects on Hydrogen Atom Abstractions. 1. The Reactions of Phenols with 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (dpph) in Alcohols. *J. Org. Chem.* **2003**, 68(9), 3433-3438.
137. Litwinienko, G.; Ingold, K.U. Abnormal Solvent Effects on Hydrogen Atom Abstraction. 2. Resolution of the Curcumin Antioxidant Controversy. The Role of Sequential Proton Loss Electron Transfer. *J. Org. Chem.* **2004**, 69(18), 5888-5896.
138. Valiev, M.; Bylaska, E.J.; Govind, N.; Kowalski, K.; Straatsma, T.P.; van Dam, H.J.J.; Wang, D.; Nieplocha, J.; Apra, E.; Windus, T.L.; de Jong, W.A. NWChem: A Comprehensive and Scalable Open-Source Solution for Large Scale Molecular Simulations. *Comput. Phys. Commun.* **2010**, 181(9), 1477-1489.
139. Merrick, J.P.; Moran, D.; Radom, L. An Evaluation of Harmonic Vibrational Frequency Scale Factors. *J. Phys. Chem. A.* **2007**, 111(45), 11683-11700.
140. Schmidt, M.W.; Baldridge, K.K.; Boatz, J.A.; Elbert, S.T.; Gordon, M.S.; Jensen, J.H.; Koseki, S.; Matsunaga, N.; Nguyen, K.A.; Su, S.J.; Windus, T.L.; Dupuis, M.; Montgomery, J.A. General Atomic and Molecular Electronic Structure System. *J. Comput. Chem.* **1993**, 14(11), 1347-1363.
141. Campbell, K.N.; Morris, R.S.; Adams, R. The Structure of Gossypol. I. *J. Am. Chem. Soc.* **1937**, 59(9), 1723-1728.
142. Гордон, А.; Форд, Р. *Спутник химика*; Мир: Москва, **1976**.
143. Minkin, V.I.; Tsukanov, A.V.; Dubonosov, A.D.; Bren, V.A. Tautomeric Schiff Bases: Iono-, Solvato-, Thermo- and Photochromism. *J. Mol. Struct.* **2011**, 998(1-3), 179-191.
144. 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 Condensation Product of Gossypol with 4-aminoantipyrene. *Russ. J. Organ. Chem.* **2012**, 48(7), 943-947.

145. Рыбаченко, В.И.; Дикун, А.М.; Илькевич, Н.С.; Чотий, К.Ю.; Гребенюк, Л.В. Таутомерные равновесия и антирадикальная активность иминопроводных госсипола. *Наукові праці Донецького національного технічного університету. Серія: Хімія і хімічна технологія*. **2012**, 199(19), 75-80.
146. Дикун, А.М.; Редько, А.Н.; Илькевич, Н.С.; Чотий, К.Ю.; Рыбаченко, В.И. Спектроскопическое изучение строения и антирадикальной активности иминопроводных госсипола. *Вопросы химии и химической технологии*. **2017**, 112(3), 10-13.
147. **Dykun, A.M.**; Anishchenko, V.N.; Redko, A.N.; Rybachenko, V.I.; Chotiy K.Y. Spectroscopic and quantum chemical study of gossypol imine derivatives. *J. Mol. Struct.* **2019**, 1179, 289-296.
148. Дикун, А.М.; Рыбаченко, В.И.; Чотий, К.Ю.; Гребенюк, Л.В.; Илькевич, Н.С.; Борисенко Н.И. Таутомерия и антиоксидантная активность оснований Шиффа госсипола. *Ядерный магнитный резонанс, хроматография/масс-спектрометрия, ИК-Фурье спектроскопия и их комбинации: Тезисы Докладов VI Международной конференции по новым технологиям и приложениям современных физико-химических методов для изучения окружающей среды, Ростов на Дону, Россия, 31 августа-4 сентября 2011 г.; ЮФУ, Ростов на Дону*, **2011**, с. 96-97.
149. Рыбаченко, В.И.; Чотий, К.Ю.; Илькевич, Н.С.; Дикун А.М. ^1H и ^{13}C ЯМР спектроскопическое изучение иминопроводных госсипола. *Хімічна термодинаміка і кінетика: Тези Доповідей Четвертої Міжнародної наукової конференції, Донецьк, Україна, 3-5 вересня 2014 р.; ДонНТУ, Донецьк*, **2014**, с. 16-17.
150. Гюнтер, Х. *Введение в курс спектроскопии ЯМР*; Мир: Москва, **1984**.
151. Дикун, А.М.; Редько, А.Н.; Анищенко, В.Н.; Илькевич, Н.С.; Рыбаченко, В.И.; Чотий, К.Ю.; Гребенюк Л.В. Спектроскопическое и квантово-химическое изучение оснований Шиффа госсипола. *Украинский химический журнал*. **2017**, 83(7), 60-64.

152. **Дикун, О.М.**; Редько, А.М.; Рибаченко, В.І.; Чотій, К.Ю.; Ількевич Н.С. ЯМР спектроскопічне дослідження таутомерних рівноваг основи Шиффа госсиполу з 3-аміно-5-метилізоксазолом. *Хімічні проблеми сьогодення: Тези Доповідей Десятої Української наукової конференції студентів, аспірантів і молодих учених з міжнародною участю, Вінниця, Україна, 27-29 березня 2017 р.*; ДонНУ, Вінниця, **2017**, с. 153.
153. **Дикун, О.М.**; Чотій, К.Ю.; Рибаченко, В.І.; Редько, А.М.; Ількевич Н.С. Будова гідразону госсиполу з (карбоксиметил)триметиламоній хлорид гідразинном. *Хімічні проблеми сьогодення: Тези Доповідей Дев'ятої Української наукової конференції студентів, аспірантів і молодих учених з міжнародною участю, Вінниця, Україна, 29-30 березня 2016 р.*; ДонНУ, Вінниця, **2016**, с. 136.
154. **Дикун, А.М.**; Редько, А.Н.; Анищенко, В.Н.; Рыбаченко, В.И.; Чотий К.Ю. ^{13}C ЯМР спектроскопическое и квантово-химическое изучение строения иминопроводных госсипола. *Химическая термодинамика и кинетика: Тезисы Докладов Седьмой Международной научной конференции, Великий Новгород, Россия, 29 мая-2 июня 2017 г.*; НовГУ, Великий Новгород, **2017**, с. 92-93.
155. Макарова, Р.А.; Ількевич, Н.С.; **Дикун, А.М.**; Чотий, К.Ю.; Рыбаченко, В.И. Изучение таутомерии иминопроводных госсипола. *Наукові праці Донецького національного технічного університету. Серія: Хімія і хімічна технологія.* **2014**, 22(1), 119-127.
156. Макарова, Р.А.; Ількевич, Н.С.; **Дикун, А.М.**; Чотий, К.Ю.; Рыбаченко В.И. Изучение строения производных дианилиногоссипола. *Вестник Новгородского Государственного Университета.* **2013**, 2(73), 37-40.
157. **Дикун, А.М.**; Редько, А.Н.; Анищенко, В.Н.; Рыбаченко В.И. Количественная оценка антирадикальных свойств оснований Шиффа и гидразонов госсипола. *Украинский химический журнал.* **2018**, 84(6), 115-126.

158. Musialik, M.; Kuzmicz, R.; Pawlowski, T.S.; Litwinienko, G. Acidity of Hydroxyl Groups: Overlooked Influence on Antiradical Properties of Flavonoids. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*(7), 2699-2709.
159. Litwinienko, G.; Ingold, K.U. Abnormal Solvent Effects on Hydrogen Atom Abstraction. 3. Novel Kinetics in Sequential Proton Loss Electron Transfer Chemistry. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*(22), 8982-8990.
160. Wang, X.; Beckham, T.H.; Morris, J.C.; Cheng, F.; Gangemi, J.D. Bioactivities of Gossypol, 6-Methoxygossypol, and 6,6'-Dimethoxygossypol. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*(12), 4393-4398.
161. Рыбаченко, В.И.; Дикун, А.М.; Илькевич, Н.С.; Гребенюк, Л.В.; Чотий К.Ю. Антирадикальная активность ряда иминопроводных госсипола. *Сучасні проблеми фізичної хімії: Тези Доповідей V Міжнародної конференції, Донецьк, Україна, 5-8 вересня 2011 р.; ДонНУ, Донецьк, 2011*, с. 115-116.
162. Рыбаченко, В.И.; Чотий, К.Ю.; Илькевич, Н.С.; Дикун А.М. Антирадикальная активность и строение альдиминов госсипола. *Химическая термодинамика и кинетика: Тезисы Докладов Третьей Международной научной конференции, Великий Новгород, Россия, 27-31 мая 2013 г.; НовГУ, Великий Новгород, 2013*, с. 135-137.
163. Дикун, А.М.; Рыбаченко, В.И.; Чотий, К.Ю.; Илькевич Н.С. Изучение антирадикальной активности дииминов госсипола. *Химическая термодинамика и кинетика: Тезисы Докладов Пятой Международной научной конференции, Великий Новгород, Россия, 25-29 мая 2015 г.; НовГУ, Великий Новгород, 2015*, с. 63-65.
164. Ayscough, P.B.; Russell, K.E. Kinetic Studies of a Phenoxy Radical Intermediate Using Optical and Electron Spin Resonance Spectroscopy. *Can. J. Chem.* **1967**, *45*(24), 3019-3024.
165. Campos, A.M., Lissi, E. Kinetics of the Reaction Between 2,2'-Azinobis(3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid (ABTS) Derived Radical Cations and Phenols. *Int. J. Chem. Kinet.* **1997**, *29*(3), 219-224.

166. Дикун, А.М.; Редько, А.Н.; Рыбаченко В.И. Изучение антирадикальных свойств оснований Шиффа госсипола в реакции с ДФПГ в присутствии HCl. *Хімічні проблеми сьогодення: Тези Доповідей I Міжнародної (XI Української) наукової конференції студентів, аспірантів і молодих учених, Вінниця, Україна, 27-29 березня 2018 р.; ДонНУ, Вінниця, 2018, с. 189.*
167. Дикун, А.М.; Редько, А.Н.; Рыбаченко В.И. Взаимодействие оснований Шиффа госсипола с ДФПГ в присутствии соляной кислоты. *Химическая термодинамика и кинетика: Тезисы Докладов Восьмой Международной научной конференции, Тверь, Россия, 28 мая-1 июня 2018 г.; ТвГУ, Тверь, 2018, с. 118-119.*
168. Гродзинський, А.М. *Основи хімічної взаємодії рослин*; Наукова думка: Київ, **1973**.
169. Dearden, J.C. The History and Development of Quantitative Structure-Activity Relationships (QSARs). *IJQSPR*. **2016**, *1*(1), 1-44.
170. Institute of Biomedical Chemistry. Department for Bioinformatics, Laboratory for Structure-Function Based Drug Design. <http://www.way2drug.com> (accessed Dec 20, 2018). Moscow, Russia.

ДОДАТОК 1

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці у наукових фахових виданнях України:

1. Рыбаченко, В.И.; **Дикун, А.М.**; Илькевич, Н.С.; Чотий, К.Ю.; Гребенюк, Л.В. Таутомерные равновесия и антирадикальная активность иминопроизводных госсипола. *Наукові праці Донецького національного технічного університету. Серія: Хімія і хімічна технологія. 2012, 199(19), 75-80. (Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, дослідження їхніх антирадикальних властивостей, віднесення хімічних зсувів в ЯМР спектрах і смуг поглинання в ІЧ спектрах, обговорення результатів і написання тексту статті).*
2. Макарова, Р.А.; Илькевич, Н.С.; **Дикун, А.М.**; Чотий, К.Ю.; Рыбаченко, В.И. Изучение таутомерии иминопроизводных госсипола. *Наукові праці Донецького національного технічного університету. Серія: Хімія і хімічна технологія. 2014, 22(1), 119-127. (Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, віднесення смуг поглинання в ІЧ спектрах, обговорення результатів).*
3. **Дикун, А.М.**; Редько, А.Н.; Илькевич, Н.С.; Чотий, К.Ю.; Рыбаченко, В.И. Спектроскопическое изучение строения и антирадикальной активности иминопроизводных госсипола. *Вопросы химии и химической технологии. 2017, 3(112), 10-13. (Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, дослідження їхніх антирадикальних властивостей, віднесення хімічних зсувів в ЯМР спектрах і смуг поглинання в ІЧ спектрах, обговорення результатів і написання тексту статті).*
4. **Дикун, А.М.**; Редько, А.Н.; Анищенко, В.Н.; Илькевич, Н.С.; Рыбаченко, В.И.; Чотий, К.Ю.; Гребенюк Л.В. Спектроскопическое и квантово-химическое изучение оснований Шиффа госсипола. *Украинский химический журнал. 2017, 83(7), 60-64. (Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу,*

дослідження їхніх антирадикальних властивостей, віднесення хімічних зсувів в ЯМР спектрах, обговорення результатів і написання тексту статті).

5. **Дикун, А.М.**; Редько, А.Н.; Анищенко, В.Н.; Рыбаченко В.И. Количественная оценка антирадикальных свойств оснований Шиффа и гидразонов госсипола. *Украинский химический журнал*. **2018**, 84(6), 115-126. (Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, віднесення хімічних зсувів в ЯМР спектрах, дослідження антирадикальних властивостей, проведення кінетичних вимірювань, обговорення результатів і написання тексту статті).

Наукові праці у зарубіжних наукових фахових виданнях:

6. Макарова, Р.А.; Илькевич, Н.С.; **Дикун, А.М.**; Чотий, К.Ю.; Рыбаченко В.И. Изучение строения производных дианилиногоссипола. *Вестник Новгородского Государственного Университета*. **2013**, 2(73), 37-40. (Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, віднесення хімічних зсувів в ЯМР спектрах, обговорення результатів).
7. **Dykun, A.M.**; Anishchenko, V.N.; Redko, A.N.; Rybachenko, V.I.; Chotiy K.Y. Spectroscopic and quantum chemical study of gossypol imine derivatives. *J. Mol. Struct.* **2019**, 1179, 289-296. (Видання входить до наукометричної бази даних Scopus) (Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, віднесення хімічних зсувів в ЯМР спектрах і смуг поглинання в УФ та ІЧ спектрах, дослідження таутомерних рівноваг, обговорення результатів і написання тексту статті).

Наукові праці апробаційного характеру (тези доповідей на наукових конференціях):

8. Рыбаченко, В.И.; **Дикун, А.М.**; Илькевич, Н.С.; Гребенюк, Л.В.; Чотий К.Ю. Антирадикальная активность ряда иминопроизводных госсипола. *Сучасні проблеми фізичної хімії: Тези Доповідей V Міжнародної конференції, Донецьк, Україна, 5-8 вересня 2011 р.*; ДонНУ, Донецьк, **2011**, с. 115-116.

(Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, дослідження їхніх антирадикальних властивостей, проведення кінетичних вимірювань, обговорення результатів і написання тез доповідей).

9. **Дикун, А.М.**; Рыбаченко, В.И.; Чотий, К.Ю.; Гребенюк, Л.В.; Илькевич, Н.С.; Борисенко Н.И. Таутомерия и антиоксидантная активность оснований Шиффа госсипола. *Ядерный магнитный резонанс, хроматография/масс-спектрометрия, ИК-Фурье спектроскопия и их комбинации: Тезисы Докладов VI Международной конференции по новым технологиям и приложениям современных физико-химических методов для изучения окружающей среды, Ростов на Дону, Россия, 31 августа-4 сентября 2011 г.; ЮФУ, Ростов на Дону, 2011, с. 96-97. (Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, дослідження таутомерних рівноваг одержаних сполук, дослідження антирадикальних властивостей, обговорення результатів і написання тез доповідей).*
10. Рыбаченко, В.И.; Чотий, К.Ю.; Илькевич, Н.С.; **Дикун А.М.** Антирадикальная активность и строение альдиминов госсипола. *Химическая термодинамика и кинетика: Тезисы Докладов Третьей Международной научной конференции, Великий Новгород, Россия, 27-31 мая 2013 г.; НовГУ, Великий Новгород, 2013, с. 135-137. (Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, дослідження таутомерних рівноваг одержаних сполук, дослідження антирадикальних властивостей, обговорення результатів і написання тез доповідей).*
11. Рыбаченко, В.И.; Чотий, К.Ю.; Илькевич, Н.С.; **Дикун А.М.** ^1H и ^{13}C ЯМР спектроскопическое изучение иминопроводных госсипола. *Хімічна термодинаміка і кінетика: Тези Доповідей Четвертої Міжнародної наукової конференції, Донецьк, Україна, 3-5 вересня 2014 р.; ДонНТУ, Донецьк, 2014, с. 16-17. (Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, дослідження будови і таутомерних рівноваг одержаних сполук, обговорення результатів і написання тез доповідей).*
12. **Дикун, А.М.**; Рыбаченко, В.И.; Чотий, К.Ю.; Илькевич Н.С. Изучение

- антирадикальной активности дииминов госсипола. *Химическая термодинамика и кинетика*: Тезисы Докладов Пятой Международной научной конференции, Великий Новгород, Россия, 25-29 мая 2015 г.; НовГУ, Великий Новгород, **2015**, с. 63-65. (*Особистий внесок здобувача: дослідження антирадикальних властивостей імінопохідних госсиполу, обговорення результатів і написання тез доповідей*).
13. **Дикун, О.М.**; Чотій, К.Ю.; Рибаченко, В.І.; Редько, А.М.; Ількевич Н.С. Будова гідразону госсиполу з (карбоксиметил)триметиламоній хлорид гідрaziном. *Хімічні проблеми сьогодення: Тези Доповідей Дев'ятої Української наукової конференції студентів, аспірантів і молодих учених з міжнародною участю*, Вінниця, Україна, 29-30 березня 2016 р.; ДонНУ, Вінниця, **2016**, с. 136. (*Особистий внесок здобувача: синтез гідразона госсиполу, віднесення хімічних зсувів в ЯМР спектрах, дослідження таутомерних рівноваг, обговорення результатів і написання тез доповідей*).
14. **Дикун, О.М.**; Редько, А.М.; Рибаченко, В.І.; Чотій, К.Ю.; Ількевич Н.С. ЯМР спектроскопічне дослідження таутомерних рівноваг основи Шиффа госсиполу з 3-аміно-5-метилізоксазолом. *Хімічні проблеми сьогодення: Тези Доповідей Десятої Української наукової конференції студентів, аспірантів і молодих учених з міжнародною участю*, Вінниця, Україна, 27-29 березня 2017 р.; ДонНУ, Вінниця, **2017**, с. 153. (*Особистий внесок здобувача: синтез основи Шиффа госсиполу, віднесення хімічних зсувів в ЯМР спектрах, дослідження таутомерних рівноваг, обговорення результатів і написання тез доповідей*).
15. **Дикун, А.М.**; Редько, А.Н.; Анищенко, В.Н.; Рыбаченко, В.И.; Чотий К.Ю. ¹³C ЯМР спектроскопическое и квантово-химическое изучение строения иминопроизводных госсипола. *Химическая термодинамика и кинетика*: Тезисы Докладов Седьмой Международной научной конференции, Великий Новгород, Россия, 29 мая-2 июня 2017 г.; НовГУ, Великий Новгород, **2017**, с. 92-93. (*Особистий внесок здобувача: віднесення хімічних зсувів в ЯМР спектрах, дослідження таутомерних рівноваг, обговорення результатів і написання тез доповідей*).

16. Дикун, А.М.; Редько, А.Н.; Рыбаченко В.И. Изучение антирадикальных свойств оснований Шиффа госсипола в реакции с ДФПГ в присутствии HCl. *Хімічні проблеми сьогодення: Тези Доповідей I Міжнародної (XI Української) наукової конференції студентів, аспірантів і молодих учених, Вінниця, Україна, 27-29 березня 2018 р.; ДонНУ, Вінниця, 2018, с. 189. (Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, віднесення хімічних зсувів в ЯМР спектрах, дослідження антирадикальних властивостей, проведення кінетичних вимірювань, обговорення результатів і написання тез доповідей).*
17. Дикун, А.М.; Редько, А.Н.; Рыбаченко В.И. Взаимодействие оснований Шиффа госсипола с ДФПГ в присутствии соляной кислоты. *Химическая термодинамика и кинетика: Тезисы Докладов Восьмой Международной научной конференции, Тверь, Россия, 28 мая-1 июня 2018 г.; ТвГУ, Тверь, 2018, с. 118-119. (Особистий внесок здобувача: синтез імінопохідних госсиполу, віднесення хімічних зсувів в ЯМР спектрах, дослідження антирадикальних властивостей, проведення кінетичних вимірювань, обговорення результатів і написання тез доповідей).*