

Введение Публикации последних лет свидетельствуют об актуальности синтеза биологически активных веществ со свойствами антиоксидантов[1-4]. В развитии данного направления перспективными являются синтез и исследования свойств эфиров 1-(N-ацетиламид)-2-(3',5'-ди-трет.бутил-4'-гидроксифенил)пропионовой кислоты. Ранее исследованы свойства эфиров (3',5'-ди-трет.бутил-4'-гидроксифенил)пропионовой кислоты, антиокислительные свойства которых по ряду параметров близки к свойствам 4-метил-2,6-ди-трет.бутилфенола (константа ингибирования $k_7 @ 2.104$ л.моль⁻¹с⁻¹). Наличие в молекуле эфиров 2-(N-ацетиламид)-3-(3',5'-ди-трет.бутил-4'-гидроксифенил)-пропионовой кислоты ацетиламино- группы приводит к изменению антиокислительных свойств, а по величине константы ингибирования приближаются к эффективности природного антиоксиданта- токоферола ($k_7 @ 2.106$ л.моль⁻¹с⁻¹) [5]. На основании квантово-химических расчетов структур метиловых эфиров (3',5'-ди-трет.бутил-4'-гидроксифенил)-пропионовой и 2-(N-ацетил-амид)-3-(3',5'-ди-трет.бутил-4'-гидроксифенил)-пропионовой кислот установлено, что различия в антиокислительных параметрах могут быть связаны с геометрией связей между ядрами атомов в молекуле и влиянием электронного поля на переход одного из электронов молекулы антиоксиданта на свободную орбиталь пероксильного радикала. Экспериментальная часть Спектры ЯМР ¹H записывали на приборе "Avance -500 Bruker" относительно TMS. ИК-спектры записывали на спектрометре "PERKIN-ELMER 1725-X в кристаллах методом диффузного отражения. Для ЖХ использовали прибор «Bruker LC-31», колона IBM Cyano, элюент – гексан-пропанол -этилацетат (8 :1:1, об.), скорость 0.4 мл·мин⁻¹. Биологические исследования проводили с эритроцитами крови белых беспородных крыс по методу [7]. Морфологические изменения эритро-цитов под действием соединений в концентрации 10⁻³ –10⁻⁵ моль·л⁻¹ фиксировали методом оптической микроскопии. . Квантово-химические расчеты проводили с использованием программы «Морас2009» [8]. Оптимизацию геометрических параметров молекулярных структур проводили с использованием параметра EF по методу Хартри-Фока. 2-(N-ацетиламид)-3-(3',5'-ди-трет.бутил-4'-гидроксифенил)пропионовой кислоты (1) получали по методу [6], т.пл. 203-204 оС; SOCl₂ марки «Serva» (Германия), очищали фракционированием, т.кип.79 оС. Метиловый эфир 2-(N-метиламид)- 3 -(3',5'-ди-трет.бутил-4'гидроксифенил)пропионовой кислоты (2) К раствору 3.35 г (0.01 моль) соединения 1 в 30 мл MeOH прибавили 5 мл SOCl₂, выдерживали при 20 оС в течение 15 мин, растворитель испарили, к остатку прибавили 20 мл воды, нагрели до кипения и фильтровали. Остаток на фильтре кристаллизовали из спирта. Выход 3.3 г (94%); т.пл.148-149 оС Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, d, м.д. J/Гц) 1.44 (с, 18 H, tBu); 2.01 (с, 3 H, COCH₃); 3.06 (с, 1H, CH₂); 3.08 (с, 1H, CH₂) 3.78 (с, 3H. O-CH₃); 4.86 (м. 1H CH-CH₂); 5.14 (с, 1 H, OH); 5.91 (с. ушпр, 1 H, NH); 6.87 (с, 2H, Ar); ИК-спектр, ν /см⁻¹: 3367 (NHCO); 3187 ушпр.(OH); 2960 (CH); 1739 (COO-

); 1649 (CONH); 1213 (C-O-C). Найдено %: С 68.66; Н 8.74; N 3.77. $C_{20}H_{31}NO_4$.
 Вычислено %: С 68.74; Н 8.94; N 3.85 Этиловый эфир 2-(N-метиламид)- 3 -(3',5'-ди-трет.бутил-4'- гидроксифенил)-пропионовой кислоты (3) получали аналогично из 3.35 г (0.01 моль) соединения 1, 10 мл EtOH и 5 мл $SOCl_2$. Выход 3.3 г (90%); т.пл.135-136 оС. Спектр ЯМР 1H (ацетон d_6 , d, м.д. , J/Гц): 1.68(т, 3H, CH_3CH_2 , $J=7,1$ Гц) 1.42 (с, 18 H, tBu); 1.91 (с, 3 H, $COCH_3$); 2.02 (д.д. 1Hа, $J=6.2$ Гц); 3.11 (д.д. 1Hб, $J=6.3$ Гц); 4,09 (2H, CH_3CH_2 , $J=7,1$ Гц) 4.60-4.64 (м, 1 Hс); 5.98 (с, 1 H, OH); 6.95 (с, 2H, Ar); 7.34 (д, 1 H, NH, $J=7.15$ Гц). ИК-спектр, ν /см-1: 3354 (NHCOCH₃); 3189 уш.(OH) ; 1732 (COOC₂H₅); 1647 (HNCO);. Найдено (%): С, 69.59; Н, 9.13; N 3.94; $C_{21}H_{33}NO_4$. Вычислено (%): С, 69.39; Н, 9.15; N, 3.85 изо-Пропиловый эфир 2-(N-метиламид)- 3 -(3',5'-ди-трет.бутил-4'- гидроксифенил)пропионовой кислоты (4) получали аналогично из 3.35 г (0.01 моль соединения 1, 10 мл изо-PrOH и 5 мл $SOCl_2$. Выход 3.4 г (90%) , тпл.127-128 оС ЯМР 1H (ДМСО d_6 , d, м.д. J/Гц): 0.99 (с. 3H, CH-(CH₃)₂): 1.14 (с. 3H, CH-(CH₃)₂); 1.36 (с, 18 H, tBu); 1.83 (с, 3 H, $COCH_3$); 2.81 (с. 1H, CH-NCH); 2.83 (с.1 H, HC-NCH) ; 4.32 (м. 1H, CH-CH₂); 4.76 (м, 1 H, CH-(CH₃)₂); 6.77 (с, 1 H, OH); 6.91 (с, 2H, Ar); 8.27 (д, 1 H, NH, $J=7.45$ Гц) ИК-спектр, ν /см-1: 3356 (NHCO); 3197 ушир.(OH); 2949 (CH); 1719 (COO-);1640 (CONH); 1202 (C-O-C). Найдено %: С 69.88; Н 9.32; N 3.77. $C_{22}H_{35}NO_4$. Вычислено %: С 69.99; Н 9.34; N 3.71 н-Бутиловый эфир 2 -(N-метиламид)- 3 -(3',5'-ди-трет.бутил-4'гидроксифенил)пропионовой кислоты (5) получали аналогично из 3.35 г (0.01 моль) соединения 1, 10 мл н-BuOH и 5 мл $SOCl_2$. Выход 3.6 г (92%); т.пл .115 оС. Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$, d, м.д. J/Гц): 0.92 (т. 3H, $CH_2CH_2CH_2CH_3$ $J=7.35$ Гц.); 1.37 (м. 2H, $CH_2CH_2CH_2CH_3$); 1.43 (с, 18 H, tBu); 2.0 (с, 3 H, $COCH_3$); 3.04 (д.д 1H, CH-NCH, $J=5.2$ Гц; $J_{гем}=6.1$ Гц),); 3.06 (д.д. 1H, CH-NCH J 6.6= Гц; $J_{гем}=6.1$ Гц); 4.07 (м. 2H. OCH₂); 4.85 (м, 1 H, CH); 5.13 (с, 1 H, OH); 5.91 (д, 1 H, NH $J=7.6$ Гц); 6.80 (с, 2H, Ar); ИК-спектр, ν /см-1: 3367 (NHCO);3187ушир.(OH); 2960 (CH); 1739 (COO-);1649 (CONH); 1213 (C-O-C). Найдено %: С 70.68; Н 9.42; N 3.47. $C_{22}H_{35}NO_4$. Вычислено %: С 70.55; Н 9.52; N 3.58 н-Нониловый эфир 2 -(N-метиламид)- 3 -(3',5'-ди-трет.бутил-4'гидроксифенил)пропионовой кислоты (6) получили путем прибавления 5 мл $SOCl_2$ к раствору 3.35 г (0.01 моль) □ соединения 1и 0.1 мл н-нонилового спирта в 15 мл ButOH в течение 30 мин. при 20 оС Через 6 ч растворитель отделили, остаток кристаллизовали из ацетона. Выход 4.2 г (91%) , т.пл.104-106 оС. Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$, d, м.д. J/Гц): 0.90 (т. 3H, $CH_2CH_2CH_2CH_3$ $J=6.71$ Гц.); 1.28 (м. 14 H, $CH_2CH_2CH_2CH_3$); 1.43 (с, 18 H, tBu); 2.01 (с, 3 H, $COCH_3$);306 (д.д.,1H, $HCHAr$ $J=4.75$ Гц, $J_{гем}=4.85$ Гц); 3.08 (д.д., 1H, $HCHAr$, J = 3.95 Гц, $J_{гем}=4.85$ Гц); 4.11 (м, 2H, O-CH₂-); 4.85 (м, 1 H, CH); 5.13 (с, 1 H, OH); 5.93 (с ушир., 1 H, NH); 6.89 (с, 2H, Ar); □ ИК-спектр, ν /см-1: 3351 (NHCO);3169 ушир.(OH); 2958 (CH); 1720 (COO-);1645 (CONH); 1252 (C-O-C). Найдено %: С 72.78; Н 10.34; N 3.07. $C_{28}H_{47}NO_4$. Вычислено %: С 72.84; Н 10.26; N 3.03 Метилловый эфир 3-(3',5'-ди-трет. бутил-4'-гидроксифенил)пропановой кислоты (7). К раствору 4.88 г (0.01 моля) 2,6-ди-трет.бутилфенолята калия в 4 мл ДМСО при

115 оС прибавили 2.5 мл (0.03 моля) метилакрилата. Через 3 ч после охлаждения нейтрализовали 10% HCl и после кристаллизации из гексана получили 5.16 г (88%) соединения 1, т.пл. 66 оС (ср. лит.[9] 66 оС). Обсуждение результатов

Наиболее перспективным является метод этерификации в растворе первичных спиртов (метанол, этанол, бутанол) в условиях катализа SOCl₂. Выход сложных эфиров до 98%. Реакция этерификации протекает в изопропиловом спирте. В растворе ButOH соединение 1 с SOCl₂ не взаимодействует. Это свойство использовано для препаративного синтеза сложных эфиров из высших спиртов (н-нониловый спирт) (схема 1). В присутствии минеральных кислот (HCl, H₂SO₄) образуются продукты дезалкилирования, что соответствует литературным данным [10]. Строение полученных соединений 2-6 подтверждено данными ЯМР ¹H спектрами. Идентификация сигналов от протонов групп CH₂ в соединении 5 выполнена в режиме cosy H-H. В ИК спектрах, полученных методом отражения в твердой фазе, частота фенольного гидроксила находится в области 3100 см⁻¹, что может быть следствием межмолекулярного взаимодействия протона гидроксильной группы с функциональным заместителем. Аналогичный эффект рассмотрен в работе [11].

Период торможения окисления с участием антиоксиданта (t) и коэффициент обрыва цепи (f) при постоянной скорости иницировании ($W_i = 1.5 \cdot 10^{-8}$ моль · л⁻¹ · с⁻¹) определяли газометрическим методом [12]. Указанные параметры связаны выражением: $f = t \cdot W_i \cdot [InH]^{-1}$, где InH – соединения 2-7. Величину константы скорости реакции (k_7) определяли из зависимости $D[O_2]/[RH] = -k_2/k_7 \cdot \ln(1 - t/t_0)$, где k_2 – константа скорости ROO· с кумолом ($k_2 = 1.75$ л · моль⁻¹ · с⁻¹), $[RH]$ – концентрация кумола (7.18 моль · л⁻¹), $D[O_2]$ – количество поглощенного кислорода (рис.1). Результаты измерений кинетики поглощения кислорода от природы антиоксиданта указывают на зависимость от структуры, что выражается как в характере изменения поглощения кислорода, так и величине коэффициента обрыва цепи. Из результатов сравнения зависимостей поглощения кислорода в присутствии антиоксидантов 2 и 7 следует, что соединение 2 ($k_7 = 2 \cdot 10^6$ л · моль⁻¹ · с⁻¹) обладает более высокими антиокислительными свойствами по сравнению с 7 ($k_7 = 2 \cdot 10^4$ л · моль⁻¹ · с⁻¹). Результаты вычислений констант реакций пероксильного радикала кумола с соединениями 2-6 и величины коэффициентов обрыва цепи представлены в табл. 1.

Рис. 1 - Кинетические зависимости поглощения кислорода в реакции иницированного окисления кумола при 50 оС в присутствии соединений 2, 7 и азодиизобутиронитрила; $W_i = 1.5 \cdot 10^{-8}$ моль · л⁻¹ · с⁻¹. $[2]_0 = 3.1 \cdot 10^{-5}$; $[7]_0 = 3.6 \cdot 10^{-5}$ моль · л⁻¹

Таблица 1 - Константы реакций пероксильного радикала кумола с антиоксидантами 2-6 и величины коэффициентов обрыва цепи. Соединение $f \cdot k_7$ 10⁶ л · моль⁻¹ · с⁻¹

Соединение	$f \cdot k_7$ 10 ⁶ л · моль ⁻¹ · с ⁻¹
2	2.2 ± 0.2
3	2.2 ± 0.2
4	1.1 ± 0.1
5	2.2 ± 0.2
6	2.1 ± 0.1

Алкильные заместители в структурах фенолов 2-6 оказывают влияние на величины k_7 и параметры f , однако это влияние несущественно по сравнению с аналогичными параметрами

эффективности соединения 2. Обнаруженную зависимость изменения антиокислительных свойств в полученных соединениях по сравнению с ранее известными производными пространственно-затрудненных фенолов нельзя объяснить в рамках теории гомолиза НО-связи. Результаты расчетов структур соединений 2 и 7 квантово-химическим методом указывают, что в этих соединениях величины энергии гомолиза (D(OH)) достаточно близки (таблица 2), тогда как геометрии их молекул различны.

Таблица 2 - Энергетические параметры соединений 2 и 7 по данным расчета структур методом Хартри-Фока с параметром RHF

	EoInH / EoIn	Ho	So	Ettotal	D(OH)
2a	871	741	846	712	667/536
7	81.6	80.3	67.7	837	807
711	70.3	84.5	87.8	349.4	354.0
348.5	Расчет D(OH) основан на энергиях образования фенола (-EfoInH), соответствующего феноксильного радикала - Efo(In.) и атома водорода и выражается соотношением [13]:				
$D(OH) = -Efo(In.) + Efo(H) - (-EfoInH); Eo(H) = 218.0 \text{ кДж·моль}^{-1} (\sim 52.1 \text{ ккал·моль}^{-1})$					

В приближении PM6 были рассчитаны две структуры 2a и 2b с минимумами энергий образования Eo = 871 и Eo = 846 кДж·моль⁻¹ (рис. 2)

Рис. 2 - Ротомеры (2a и 2b) соединения 2

Геометрии этих структур соответствуют двум ротомерам, отличающимися по энтропии (So = 807 и 837 энтр.ед.), свободной энергии (Ettotal) и энергии гомолиза НО связи D(OH) в молекуле антиоксиданта. Известно [14], что геометрические параметры и энтропия соединения взаимосвязаны и, следовательно, энтропия может влиять на антиокислительные свойства, через изменения свободной энергии соединения. Следствием такого изменения появляются области с повышенной электронной плотностью, что ведет к взаимному отталкиванию электронов (steric effect). В исследованиях с использованием эритроцитов и синтезированных антиоксидантов установлено, что эти соединения вступают во взаимодействие с клеточной мембраной и интеркалируются во внутримембранное пространство клетки. Выявлено влияние структуры алкильного заместителя на процесс интеркаляции. Полученные данные указывают на распределение наиболее гидрофобных компонентов молекул антиоксидантов во внутреннем монослое эритроцитарной мембраны, где они проявляют антиокислительные действия. Таким образом, можно предположить, что свойства эфиров 2-(N-метиламид)-3-(3',5'-ди-трет.бутил-4'-гидроксифенил)пропионовых кислот связаны с геометрией связей между ядрами атомов в молекуле и возможностью перехода электрона с ВЗМО антиоксиданта на низшую свободную орбиталь (НСМО) пероксильного радикала.