

УДК (547.789+547.565.2):66.094.3.0978

СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ 3',4'-ДИГИДРОКСИФЕНИЛТИАЗОЛОВ

А.Н.Шендрик, Н.И.Бураков*, А.Л.Каниболоцкий*, В.В.Одарюк, Л.В.Каниболоцкая, И.Д.Одарюк

Донецкий национальный университет

83001, г. Донецк, ул. Университетская, 24. E-mail: v.odaryuk@gmail.com

* Институт физико-органической химии и углехимии НАН Украины им. Л.М.Литвиненко

Ключевые слова: тиазол; многоатомные фенолы; антиоксидантная активность

Синтезирован ряд 4-(3',4'-дигидроксифенил)тиазолов. Изучена антиоксидантная активность этих соединений в реакции железоинициированного окисления Твин-80, и антирадикальные свойства в реакции с 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом. Установлено, что синтезированные соединения являются эффективными антиоксидантами фенольного типа.

SYNTHESIS AND THE STUDY OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF 3',4'-DIHYDROXYPHENYLTHIAZOLES
O.M.Shendrik, N.I.Burakov, O.L.Kanibolotsky, V.V.Odaryuk, L.V.Kanibolotska, I.D.Odaryuk
A series of 4-(3',4'-dihydroxyphenyl)thiazols has been synthesized. The antioxidant activity of these compounds in the reaction of ferrous-initiated oxidation of Tween-80 and antiradical properties in the reaction with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl have been studied. The compounds synthesized have been proven to be the effective phenol-type antioxidants.

СИНТЕЗ ТА ВИВЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ 3',4'-ДИГІДРОКСИФЕНІЛТІАЗОЛІВ
О.М.Шендрик, Н.І.Бураков, О.Л.Каніболоцький, В.В.Одарюк, Л.В.Каніболоцька, І.Д.Одарюк
Синтезований ряд 4-(3',4'-дигідроксифеніл)тіазолів. Вивчена антиоксидантна активність цих сполук у реакції залізоініційованого окиснення Твін-80 та антирадикальні властивості в реакції з 2,2-дифеніл-1-пикрилгидразилом. З'ясовано, що синтезовані сполуки є ефективними антиоксидантами фенольного типу.

Образование супероксиданион радикала, моноксида азота, пероксида водорода и некоторых других активных форм кислорода (АФК) в клетках живых организмов является нормальным метаболическим процессом. Стационарный уровень этих интермедиатов в клетке поддерживается за счет многоступенчатой системы антиоксидантной защиты. В ходе продукции радикалов в живом организме вследствие автоокисления некоторых органических соединений, окислительной модификации ксенобиотиков различными оксидоредуктазами, нарушения работы системы антиоксидантной защиты, происходит избыточное накопление АФК и развитие окислительного стресса [1, 2]. Для коррекции такого состояния применяются препараты с антиоксидантным действием [3, 4], в связи с чем поиск ингибиторов окисления постоянно находится в фокусе внимания исследователей.

Одним из путей получения высокоэффективных антиоксидантов является комбинирование в молекуле соединения гетероциклического и полифенольного фрагментов. Фенольные соединения являются известными ингибиторами радикальноцепных процессов окисления органических веществ. Механизм их действия обусловлен обрывом цепей окисления на молекулах антиоксиданта по реакции с ведущими цепь окисления перок-

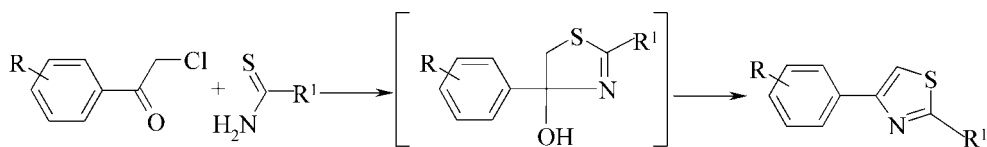
сильными радикалами. Кроме того, полифенолы связывают ионы металлов переменной валентности в устойчивые комплексные соединения, предотвращая тем самым реакции зарождения и вырожденного разветвления цепи [5].

Перспективность применения замещенных гетероциклических соединений как антиоксидантов обусловлена их полифункциональностью, а значит возможностью участия различных функциональных групп и гетероатомов как в составе самого гетероцикла, так и в составе заместителей, в ингибировании окислительных процессов.

Гетероциклические соединения, содержащие тиазольное кольцо, применяются в качестве противовоспалительных [6], противоопухолевых агентов [7]. В то же время в литературе имеются только единичные упоминания об антиоксидантной активности некоторых тиазолов, например, тиамин [8], аминотиазолов [9-11]. Указывается на их способность ингибировать образование супероксиданионрадикала [12].

Цель данной работы — синтез и изучение антиоксидантной активности ряда новых производных тиазола, содержащих дигидроксифенильный фрагмент.

Все исследованные вещества синтезировались по методу Ганча [13] реакцией фенацилхлоридов с соответствующими тиоамидами (схема).



- R=4-(3',4'-(OH)₂)Ph, R¹=(3,4-OMe)Ph (1)
 " " R¹= 4-Py (2)
 " " R¹=Ph (3)
 " " R¹= (4-OH)Ph (5)
 " " R¹= 4-Py (6)
 " " R¹= Me (7)
 " " R¹= 3-Ind (8)
 R=4-(2',4'-(OH)₂)Ph, R¹=(4-OH)Ph (4)

Схема

Антиоксидантную активность (АОА) синтезированных соединений исследовали в реакции ферроиндуцированного окисления твина-80, поверхностно-активного вещества, содержащего остаток олеиновой кислоты и моделирующего процессы перекисидации липидов [14]. В табл. 1 приведены данные по АОА производных тиазола. Все дигидроксибензилтиазолы проявляют антиоксидантные свойства. АОА тиазолов, содержащих в составе молекулы гидроксильные группы, выше, чем у известных ингибиторов фенольного типа — пирокатехина и резорцина, а соединений **8, 9, 10, 11, 12** близка к АОА тролокса — водорастворимого аналога витамина Е. Различие в величине АОА дигидроксибензолов и дигидроксибензилтиазолов может объясняться дополнительной стабилизацией феноксильного радикала, образующегося при окислении, за счет π-конъюгации с тиазольным кольцом.

Эффективность действия антиоксидантов во многом связана с их способностью взаимодействовать со свободными радикалами. Для оценки антирадикальной активности (АРА) широко используют реакцию взаимодействия антиоксиданта со стабильным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (ДФПГ). Мерой АРА в этом случае служит время, за которое расходуется 50% ДФПГ (Т_{EC50}). Также для ее характеристики используется концентрация антиоксиданта, соответствующая 50% убыли ДФПГ (Е_{С50}) при фиксированном времени протекания реакции [15], т.е. ингибирующая емкость. Дигидроксибензилтиазолы реагируют с ДФПГ очень быстро (практически в момент смешения растворов), поэтому получить количественные оценки АРА не удалось. Ингибирующая емкость, выраженная в единицах Е_{С50}, для всех тиазолов представлена в таблице.

Высокая АРА наблюдается у соединений **5, 9, 12**, содержащих в своем составе 3,4-дигидроксибензильный фрагмент. Структуры, не содержащие этот фрагмент, не проявляют АРА. Логично предполагать, что в реакции с ДФПГ участвуют гидроксильные группы пирокатехинового фрагмента молекул антиоксидантов. Влияние тиазольного цикла на реакционную способность гидроксифенилтиазолов в реакциях радикального отрыва Н-

атома не столь существенно, как в случае проявления изученными соединениями антиоксидантной активности в процессе окисления твина-80.

АОА соединения **8** сопоставима с АОА других тиазолов, но при этом данное соединение не взаимодействует с ДФПГ, как и резорцин.

Для исследованных соединений нет корреляции между их АОА и ингибирующей емкостью. Ее отсутствие, вероятно, связано с тем, что Е_{С50} является мерой способности отдавать атом водорода гидроксильными полифенольного фрагмента, а АОА характеризует реакционную способность по отношению ко всем активным интермедиатам, которые образуются при окислении твина-80.

Экспериментальная часть

Материалы. 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил, тролокс (6-гидроксил-2,5,7,8,-тетраметилхроман-2-ук-

Таблица

Антирадикальная и антиоксидантная активность полифенолов и 4-(3',4'-дигидроксибензил) замещенных тиазолов

№ п/п	Субстрат	АОА, %	Е _{С50} •10 ⁵ , Моль/л
1	2,4-Дифенилтиазол	2.0±0.3	-*
2	2,3-Дифенил-4-(4'-гидроксибензил)тиазол	4.0±0.5	-*
3	1,3-Дигидроксибензол	6.0±0.6	-*
4	1,2-Дигидроксибензол	14±2	2±0.3
5	Соединение 1	45±5	2.5±0.2
6	Соединение 2	56±5	1.6±0.1
7	Соединение 3	63±6	1.73±0.05
8	Соединение 4	70±7	-*
9	Соединение 5	79±7	2.3±0.1
10	Соединение 6	80±8	1.7±0.1
11	Соединение 7	81±8	1.70±0.06
12	Соединение 8	82±8	2.3±0.1
13	Тролокс	79±8	1.68±0.05

* не зафиксировано расходование ДФПГ в течение 12 ч от начала реакции.

сусной кислоты) (Aldrich), твин-80 (Fluka), трихлоруксусную кислоту (Clariant, Германия) использовали без дополнительной очистки; 2-тиобарбитуровую и аскорбиновую кислоты перекристаллизовывали из бидистиллированной воды и этилового спирта соответственно. Пропанол-2 подвергали перегонке при атмосферном давлении, DMSO очищали вакуумной перегонкой. Пирокатехин, резорцин сублимировали в вакууме. FeSO₄ очищали по методике [16]. Фосфатный буферный раствор (рН=7.4) готовили из смеси эквимольных количеств 0,1 М растворов Na₂HPO₄·2H₂O и NaH₂PO₄·H₂O (Sigma) [17].

Общая методика получения 2,4-дизамещенных тиазолов

0,01 Моль фенацилхлорида и 0,01 Моль соответствующего тиамида в 15 мл метанола кипятили 10 мин. После охлаждения осадок отфильтровывали и промывали ацетонитрилом. Обработкой водным аммиаком выделяли свободное основание. Выходы — 78-86%.

ПМР-спектры снимали на приборе Bruker Advance II 400 (400 МГц), растворитель DMSO-d₆, стандарт ТМС.

2-(3',4'-Диметоксифенил)-4-(3'',4''-дигидроксифенил)тиазол (1). Т.пл. — 158-159°C. Определено, %: N 4.33; S 9.62. C₁₇H₁₅NO₄S. Рассчитано, %: N 4.25; S 9.74. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3,81 с (ОСН₃, 3H), 3,87 с (ОСН₃, 3H), 6,83 д (1H, J 8 Гц), 7,05 д (1H, J 8,4 Гц), 7,32 д (1H, J 9,6 Гц), 7,44-7,56 м (3H), 7,72 с (1H) (Ar).

2-(4'-Пиридил)-4-(3'',4''-дигидроксифенил)тиазол (2). Т.пл. — 258-259°C (разл.). Определено, %: N 10.4; S 11.78. C₁₄H₁₀N₂O₂S. Рассчитано, %: N 10.36; S 11.86. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 6,82 д (1H, J 8,4 Гц), 7,33 д (1H, J 8 Гц), 7,47 с (1H), 7,92 д (2H, J 6 Гц), 8,02 с (1H), 8,72 д (2H, J 6 Гц), (Ar).

2-Фенил-4-(3',4'-дигидроксифенил)тиазол (3). Т.пл. — 167-168°C. Определено, %: N 5.10; S 11.83. C₁₅H₁₁NO₂S. Рассчитано, %: N, 5.20; S, 11.91. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 6,85 д (1H, J 6,4 Гц), 7,34 д (1H, J 5,2 Гц), 7,5 с (4H), 7,82 с (1H), 7,98 с (2H), 9,19 с (1H), (Ar).

2-(4'Гидроксифенил)-4-(2'',4''-дигидроксифенил)тиазол (4). Т.пл. — 258-259°C. Определено, %: N 5.02; S 11.35. C₁₅H₁₁NO₃S. Рассчитано, %: N 4.91; S 11.24. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 6,38 м (2H), 6,9 д (2H, J 8,4 Гц), 7,8 м (4H), (Ar).

2-(4'Гидроксифенил)-4-(3'',4''-дигидроксифенил)тиазол (5). Т.пл. — 178-179°C. Определено, %: N 4.99; S 11.38. C₁₅H₁₁NO₃S. Рассчитано, %: N 4.91; S 11.24. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 6,8 д (1H, J 8 Гц), 6,89 д (1H, J 8,4 Гц), 7,29 д (1H, J 9,6 Гц), 7,45 с (1H), 7,66 с (1H), 7,81 д (1H, J 8,8 Гц), (Ar).

2-(3'-Пиридил)-4-(3'',4''-дигидроксифенил)тиазол (6). Т.пл. — 235-236°C. Определено, %: N 10.45; S 11.92. C₁₄H₁₀N₂O₂S. Рассчитано, %: N 10.36; S 11.86. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 6,82 д (1H, J 8,4 Гц), 7,33 д (1H, J 8 Гц), 7,47 с (1H), 7,56 т (1H, J 5,2 Гц), 7,93 с (1H), 8,33 д (1H, J 8 Гц), 8,67 д (1H, J 4,4 Гц), 9,18 с (1H), (Ar).

2-Метил-4-(3',4'-дигидроксифенил)тиазол (7). Т.пл. — 206-208°C. Определено, %: N 6.7; S 15.55. C₁₀H₉NO₂S. Рассчитано, %: N 6.76; S 15.47. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 2,66 с (СН₃, 3H), 6,77 д (1H, J 8,4 Гц), 7,20 д (1H, J 9,6 Гц), 7,36 с (1H) 7,55 с (1H), (Ar).

2-(3'-Индолил)-4-(3'',4''-дигидроксифенил)тиазол (8). Т.пл. — 244-245°C (разл.). Определено, %: N 8.96; S 10.30. C₁₇H₁₂N₂O₂S. Рассчитано, %: N 9.08; S 10.40. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 6,84 д (1H, J 8 Гц), 7,24 м (2H), 7,36 д (1H, J 8 Гц), 7,47-7,59 м (3H) (Ar), 8,1 с (1H), 8,34 м (1H) (Ar).

Определение АОА. АОА определялась по уменьшению накопления в присутствии антиоксиданта продуктов окисления твина-80, образующих окращенный комплекс с 2-тиобарбитуровой кислотой. Применялась методика, описанная в [18] с некоторыми модификациями.

В колбы объемом 200 мл вносили реакционную смесь следующего состава: 4 мл 1% водного раствора твина-80, 0,4 мл 1 · 10⁻³ Моль/л раствора FeSO₄, 0,4 мл 1 · 10⁻² Моль/л аскорбиновой кислоты, 0,4 мл 1 · 10⁻³ Моль/л раствора исследуемого вещества в соответствующем растворителе (вода, DMSO). В контрольный раствор вместо испытуемого вещества вносили 0,4 мл соответствующего растворителя. Смесь тщательно перемешивали, закрывали герметично пробкой и ставили в термостат при 313 К на 48 ч. По прошествии этого времени проводили фотоколориметрическое определение продуктов окисления в контрольной и опытной пробах. Для этого в опытные пробы добавляли по 0,4 мл растворителя, а в контрольные — по 0,4 мл раствора испытуемого вещества. Затем добавляли 2 мл 40% раствора трихлоруксусной кислоты. Через 60 мин раствор центрифугировали при 9000 об/мин, отбирали 3 мл декантата и к нему приливали 6 мл 0,25% раствора 2-тиобарбитуровой кислоты. Смесь встряхивали и выдерживали 15 мин при 373 К, затем охлаждали и определяли оптическую плотность при 532 нм на спектрофотометре СФ-2000 (Россия).

АОА рассчитывали по следующей формуле:

$$AOA(\%) = \frac{D_{\text{конт}} - D_{\text{оп}}}{D_{\text{конт}}} \cdot 100\%$$

где: D_{конт} — оптическая плотность контрольной пробы; D_{оп} — оптическая плотность пробы в присутствии исследуемого антиоксиданта.

Рассчитанная погрешность метода определения антиоксидантной активности составляет не более 10%.

Определение АРА. АРА определяли по степени обесцвечивания за 30 мин раствора стабильного радикала ДФПГ в присутствии различной концентрации исследуемых веществ. Измерения проводили при λ=517 нм в среде изопропилового спирта. Молярный коэффициент экстинкции для ДФПГ составлял 1 · 10⁴ л Моль⁻¹ · см⁻¹. ЕС₅₀ определяли из линейной зависимости АРА субстрата в % от его концентрации (R² для всех изученных

соединений находился в пределах 0.97-0.99). АРА определяли по формуле:

$$\text{АРА} = \frac{C_0 - C}{C_0} \cdot 100\%,$$

где: C_0 — начальная концентрацияДФПГ (во всех опытах $7 \cdot 10^{-5}$ М); C — концентрацияДФПГ через 30 мин после прибавления определенной порции раствора исследуемого вещества.

Данные представлены в виде $ЕС_{50} \pm x$, где x — стандартная ошибка предсказанного значения концентрации для отдельно взятого значения АРА (50%).

Выводы

1. Синтезирован новый ряд производных дигидроксибензилтиазола.

2. Изучены антиоксидантные и антирадикальные свойства субстратов. Показано, что дигидроксибензилтиазолы являются эффективными антиоксидантами фенольного типа.

3. По ингибирующему действию в процессе окисления твина-80 изученные антиоксиданты значительно превосходят незамещенные дигидроксибензолы.

Литература

1. Осипов А.Н., Азизова О.А., Владимиров Ю.А. // *Успехи биол. хим.* — 1990. — Т. 31, №2. — С. 180-208.
2. Барабой В.А., Ялкупт С.И. // *Фарм. журн.* — 1996. — №2. — С. 19-24.
3. Gilgun-Sherki Y., Rosenbaum Z., Melamed E., Offen D. // *Pharmacol. Rev.* — 2002. — №54. — P. 271-284.
4. Nuttal S.L., Kendall M.J., Martin U. // *Q. J. Med.* — 1999. — №92. — P. 239-244.
5. Рогинский В.А. Фенольные антиоксиданты: реакционная способность и эффективность. — М., 1988. — 247 с.
6. Mgonzo R., Geronikaki A., Kourounakis P.N. // *Pharmazie.* — Vol. 50, №7. — P. 505-506.
7. *Ashgate Handbook of Antineoplastic Agents* / Ed. G.W.A.Milne. — London: J.Willey&Sons Inc., 2004.
8. Лукиенко П.И., Мельниченко Н.Г., Зверинский И.В., Забродская С.В. // *Бюл. эксп. биол. и мед.* — 2000. — Т. 130, №9. — С. 303-305.
9. De S., Adhikari S. // *Chem.-Biol. Interact.* — 2008. — №173. — P. 215-223.
10. *The chemistry of heterocyclic compounds* // Ed. J.V.Metzger. — Vol. 34, pt 2. — Wiley-Intersci., 1979.
11. Harnet J.J. // *Bioorg. Chem. Lett.* — 2004. — №14. — P. 157-160.
12. Chirio M., Nagamoto H. // *J. Med. Chem.* — 1995. — №38 (2). — P. 353-358.
13. Hantzsch A., Weber J.H. // *Chem. Ber.* — 1887. — Vol. 20, №2. — P. 3118.
14. Опейда И.А., Шендрюк А.Н., Качурин И.О. и др. // *Кинетика и катализ.* — 1994. — Т. 35, №1. — С. 38-44.
15. Antolovich M., Prenzler P.D., McDonald E. et al. // *Analyst.* — 2002. — №127. — P. 183-198.
16. Карякин Ю.В. Чистые химии вещества. — М., 1974. — 334 с.
17. *Справочник биохимика: Пер. с англ.* / Р.Досон, Д.Элиот, У.Элиот, К.Джонс. — М.: Мир, 1991. — 544 с.
18. Благородов С.Г., Шепелев А.П., Дмитриева Н.А. и др. // *Хим.-фарм. журн.* — 1987. — Т. 21, №3. — С. 292-296.

Надійшла до редакції 27.12.2010 р.