

Синтез и антиоксидантные свойства некоторых производных фуллерена C₆₀

В.А.Иоутси¹, С.А.Соколов^{2,3}, О.О.Семивражская², М.Г.Апенлова², Н.М.Белов², С.В.Ковалев³, В.Е.Шевченко³, В.В.Негребецкий¹

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра химии лечебного факультета, Москва (зав. кафедрой – проф. В.В.Негребецкий);

²Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, кафедра физической химии химического факультета (зав. кафедрой – акад. РАН, проф. В.В.Лунин);

³Российский онкологический научный центр им. Н.Н.Блохина, Научно-исследовательский институт канцерогенеза, Москва (директор – проф. Б.П.Копнин)

Исследование посвящено получению четырех новых производных фуллерена C₆₀ и изучению их антиоксидантной активности. Были разработаны два новых метода синтеза производных фуллеропирролидина. Структуры всех соединений подтверждено методами спектроскопии ядерного магнитного резонанса и инфракрасной спектроскопии, масс-спектрометрии с лазерной десорбцией/ионизацией и масс-спектрометрии высокого разрешения. Антиоксидантные свойства были изучены путем определения и оценки перекисного числа с использованием стандартной методики.

Ключевые слова: фуллеропирролидины, циклоприсоединение, антиоксидантная активность

Synthesis and antioxidative properties of some fullerene C₆₀ derivatives

V.A.Ioutsy¹, S.A.Sokolov^{2,3}, O.O.Semivrazhskaya², M.G.Apenova², N.M.Belov², S.V.Kovalev³, V.E.Shevchenko³, V.V.Negrebetsky¹

¹The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Department of Chemistry of Medical Faculty, Moscow (Head of the Department – Prof. V.V.Negrebetsky);

²M.V.Lomonosov Moscow State University, Department of Physical Chemistry of Chemical Faculty (Head of the Department – Acad. of RAS, Prof. V.V.Lunin);

³N.N.Blokhin Russian Cancer Research Center, Scientific Research Institute of Cancerogenesis, Moscow (Director – Prof. B.P.Kopnin)

Synthesis and investigation of the antioxidative properties of four new fullerene C₆₀ derivatives are reported. Two new synthetic procedures of the fulleropyrrolidine derivatives preparation were developed. All structures were confirmed by means of nuclear magnetic resonance spectroscopy and infrared spectroscopy, mass-spectrometry with laser desorption/ionization and high-resolution mass-spectrometry. Antioxidative properties were investigated by determination of peroxide number using the standard procedure.

Key words: fulleropyrrolidines, cycloaddition, antioxidant activity

Способность ряда производных фуллеренов ингибировать ВИЧ-1 протеазу положило начало их изучению в медицинском направлении [1, 2]. Позже было установлено, что некоторые фуллереновые соединения проявляют антимикробную [3] и антиоксидантную [4] активности. Наличие у фуллеренов системы напряженных двойных связей обуславливает

способность их молекул реагировать с частицами радикальной природы. Присоединение аддендов меняет гибридизацию несущих их атомов углерода сферы, в результате чего происходит изменение геометрии связей с их участием и, как следствие, — снятие стерического напряжения.

В настоящее время наиболее обширный ряд производных фуллерена C₆₀ представлен классом фуллеропирролидинов. Это обусловлено легкостью их получения и возможностью введения различных заместителей в пирролидиновый цикл. Данная возможность открывает пути к синтезу производных фуллеренов с тонким контролем их свойств.

До недавнего времени основным считался метод синтеза замещенных фуллеропирролидинов, предло-

Для корреспонденции:

Иоутси Виталий Алексеевич, аспирант кафедры химии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Телефон: (495) 434-1100

E-mail: vitalik_org@mail.ru

Статья поступила 23.05.2012, принята к печати 19.09.2012

женный М.Прато в 1993 г. [5]. Он состоит в 1,3-дипольном циклоприсоединении к фуллереновой сфере азометинилидов, которые генерируют термическим декарбокислированием иммониевых солей, образующихся при реакции карбонильных соединений и N-метилглицина (саркозина). Существенный недостаток рассматриваемого метода — низкий выход конечного продукта и длительное время синтеза.

Установлена возможность использования в подобных процессах N-незамещенных α -аминокислот, например аланина, фенилаланина, валина и им подобных, приводящих к 2,5-дизамещенным фуллеропирролидинам в виде смеси двух диастереомеров [6].

Дальнейшее изучение процессов 1,3-дипольного циклоприсоединения к фуллерену привело к разработке металл-каталитических процессов. В них также имеет место образование азометинилидов, но под действием катализаторов на основе солей и комплексов различных металлов. Так, в работе [7] генерирование азометинилидов проводили из иминов, полученных взаимодействием эфиров α -аминокислот с альдегидами, под действием перхлората лития и основания. В результате был получен ряд эфиров замещенной фуллеропирролидин-2-карбоновой кислоты (фуллеропротина) с высокими выходами в виде двух диастереомеров с преобладанием *цис*-изомера.

В работе [8] был осуществлен синтез эфиров 5-замещенного фуллеропротина аналогичным способом, но с использованием вместо перхлората лития комплексов серебра и меди с хиральными лигандами. Этим методом селективно с высокими выходами были получены индивидуальные энантиомеры.

Таким образом, в настоящее время существуют надежные методы синтеза производных фуллеропирролидина с различными заместителями в боковой цепи.

Целью исследования стал синтез производных фуллеропирролидинов с различными заместителями в боковой цепи и разным количеством фуллереновых сфер в молекуле, а также изучение их антиоксидантных свойств.

Материалы и методы

Спектры ядерного магнитного резонанса (ЯМР) на ядрах ¹H и ¹³C были получены на спектрометре «Avance 600» (Bruker, Германия) с рабочими частотами 600 и 150 МГц соответственно. В качестве внутреннего стандарта использовали тетраметилсилан. Инфракрасные (ИК) спектры были зарегистрированы на приборе «Tensor 27» (Bruker) в пластинках из KBr и на приставке нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО). Масс-спектры высокого разрешения были получены на приборе «LTQ Orbitrap XL» (Thermo Scientific, США), а масс-спектры матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (МАЛДИ) — на приборе «Autoflex-II» (Bruker), в качестве матрицы использовали 2-*транс*-[3-(4-*трет*-бутилфенил)-2-метил-2-пропенилиден]малонодинитрил (ДЦТБ).

1. Синтез этилового эфира N-(4-гидрокси-3,5-ди-*трет*-бутилбензилиден)глицина. К раствору 0,298 г (2,14 ммоль) гидрохлорида этилового эфира глицина в 10 мл хлористого метилена при перемешивании добавляли 0,357 мл (2,56 ммоль) триэтиламина, 0,5 г (2,14 ммоль) 4-гидрокси-3,5-ди-*трет*-бутилбензальдегида и 40 мг сульфата магния. Реакционную смесь перемешивали в течение 24 ч при комнатной температуре. Осушитель отделяли с помощью фильтра Шота. Полученный имин далее использовали без выделения и дополнительной очистки.

2. Синтез этилового эфира 5-(4-гидрокси-3,5-ди-*трет*-бутинилфенил)-3,4-фуллеропротина. К раствору 100 мг (0,14 ммоль) фуллерена C₆₀ в 125 мл толуола добавляли 0,17 ммоль ранее полученного имида, 10 мг бис(трифенилфосфин)никельдихлорида и 25 мкл (0,17 ммоль) триэтиламина. Смесь кипятили 5 ч с обратным холодильником и хлоркальциевой трубкой. Протекание реакции контролировали с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ), элюент — толуол-этилацетат в соотношении 5:1. По окончании кипячения цвет раствора имел коричневую окраску. Продукт выделяли методом флеш-хроматографии (элюент — толуол, а затем толуол-этилацетат в соотношении 5:1). Выход — 72 мг (50%). Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), толуол, 1 мл/мин: t_r — 3,63 мин (*транс*-изомер) и 3,88 мин (*цис*-изомер). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, δ , м.д., J, Гц): 8,00 (2H, с, NH), 7,66 (2H, с, Ar), 6,47 (H, с, CHAr-*транс*), 5,79 (H, с, CHAr-*цис*), 5,23 (H, с, CHCOO-*транс*), 5,03 (H, с, CHCOO-*цис*), 4,54–4,49 (2H, м, CH₂-*транс*), 4,39–4,34 (2H, м, CH₂-*цис*), 1,41 (18H, с, *t*-Bu), 1,33–1,30 (3H, т, J = 7,2, CH₂CH₃). Масс-спектр высокого разрешения (nanoESI): MH⁺, найдено *m/z* 1040,2218, рассчитано 1040,2220 для C₇₉H₃₀NO₃.

3. Синтез N-ацетил-5-(4-гидрокси-3,5-ди-*трет*-бутинилфенил)-3,4-фуллеропротина (образец 1). К раствору 72 мг этилового эфира 5-(4-гидрокси-3,5-ди-*трет*-бутинилфенил)-3,4-фуллеропротина в 30 мл толуола добавляли 50 мкл (0,7 ммоль) ацетилхлорида и 98 мкл (0,7 ммоль) триэтиламина. Смесь кипятили 1 ч с обратным холодильником и хлоркальциевой трубкой. Протекание реакции контролировали с помощью ТСХ (толуол-этилацетат, 5:1). Изомеры этилового эфира N-ацетил-5-(4-гидрокси-3,5-ди-*трет*-бутинилфенил)-3,4-фуллеропротина выделяли методом флеш-хроматографии с использованием в качестве элюента смеси толуола и этилацетата в соотношении 5:1. Выход — 71 мг (95%). ВЭЖХ, толуол, 1 мл/мин: t_r — 4,88 мин (*транс*-изомер) и 5,49 мин (*цис*-изомер). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, δ , м.д., J, Гц): 8,04 (2H, с, Ar), 7,58 (1H, с, OH), 6,82 (H, с, CHAr-*транс*), 6,71 (H, с, CHAr-*цис*), 6,46 (H, с, CHCOO-*транс*), 5,30 (H, с, CHCOO-*цис*), 4,51–4,45 (2H, м, CH₂-*транс*), 4,42–4,38

(2H, м, CH_2 -цис), 2,30 (3H, с, $COCH_3$ -транс), 2,20 (3H, с, $COCH_3$ -цис), 1,46 (18H, с, *t*-Bu-цис), 1,40 (18H, с, *t*-Bu-транс), 1,29–1,26 (3H, т, $J = 7,2$, CH_2CH_3). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, δ , м.д.): 172,01 ($COCH_3$), 169,59 (COO), 154,58, 154,07, 153,89, 147,61, 146,53, 146,45, 146,37, 146,30, 146,20, 146,11, 145,98, 145,78, 145,71, 145,66, 145,51, 145,40, 145,32, 145,30, 145,25, 145,18, 145,09, 144,62, 144,55, 144,52, 144,49, 144,43, 142,73, 142,65, 142,27, 142,22, 142,16, 142,13, 142,09, 141,96, 141,76, 141,71, 141,63, 141,38, 140,37, 140,28, 140,12, 139,56, 138,98, 139,89, 136,96 (sp^2 -C C_{60}), 130,28 (*n*-Ar), 129,06 (*m*-Ar), 128,25 (1-Ar), 125 (*o*-Ar), 82,84 (CM_3), 75,82 (CHAR), 75,34 (CHCOO), 73,42 (sp^3 -C C_{60}), 73,00 (sp^3 -C C_{60}), 61,96 (CH_2), 30,45 (*t*-Bu), 24,05 ($COCH_3$), 12,24 (CH_2CH_3). Масс-спектр высокого разрешения (nanoESI): MH^+ , найдено m/z 1082,2406, рассчитано 1082,2325 для $C_{81}H_{31}NO_4$.

4. Синтез хлорметилтриметилсилана. В двугорлой колбе емкостью 250 мл готовили 100 мл раствора метилмагнийиодида из 2 г магния и 5,3 мл метилиодида в диэтиловом эфире. К полученному реактиву Гриньяра добавляли по каплям 13 мл хлорметилдиметилхлорсилана. Полученную смесь кипятили 8 ч, затем раствор фильтровали, эфир упаривали, а остаток перегоняли при атмосферном давлении. $T_{кип} = 98$ °C. Выход — 5,1 мл (50%). Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$, δ , м.д.): 2,77 (2H, с, CH_2Cl), 0,13 (9H, с, CH_3). Спектр ИК (НПВО, ν , cm^{-1}): 2960, 2928, 2901, 2869, 1395, 1250, 1176, 1119, 841, 758, 698, 640.

5. Синтез триметилсилилметиламина. Смесь 5,1 мл (0,042 моль) хлорметилтриметилсилана в 10 мл диметилформамида и 3,5 г (0,054 моль) азида натрия перемешивали при 60 °C в течение 8 ч. Затем к смеси добавляли 14 г (0,054 моль) трифенилфосфина и 2 мл воды, после чего ее подвергали перегонке. $T_{кип} = 92$ °C. Выход — 2,8 мл (50%). Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$, δ , м.д.): 2,09 (2H, с, CH_2N), 1,42 (2H, уш.с, NH_2), -0,04 (9H, с, CH_3). Спектр ИК (НПВО, ν , cm^{-1}): 2973, 1460, 1066, 907, 859, 841, 659.

6. Синтез (N-бензилиден)триметилсилилметиламина. Смесь 0,5 мл триметилсилилметиламина и 0,38 мл бензальдегида в 10 мл хлористого метилена перемешивали в присутствии 0,8 г безводного сульфата магния в течение суток. Полученную суспензию фильтровали, а фильтрат упаривали досуха. Выход — 0,78 мл (95%). Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$, δ , м.д., J , Гц): 8,15 (1H, уш.с, $HC = N$), 7,70 (2H, дд, $J_1 = 1,83$, $J_2 = 7,52$, Ar-орто), 7,39 (3H, м, Ar), 3,43 (2H, д, $J_{HH} = 1,10$, CH_2), 0,09 (9H, с, CH_3). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, δ , м.д.): 158,08 (C = N), 136,97 (Ar-1), 129,78 (Ar-пара), 128,52 (Ar-орто), 127,49 (Ar-мета), 54,63 (CH_2), -2,61 (CH_3). Спектр ИК (НПВО, ν , cm^{-1}): 3062, 3026, 2955, 2896, 2834, 2788, 1633, 1450, 1416, 1247, 838, 748, 692. Масс-спектр высокого раз-

решения (nanoESI): MH^+ , найдено m/z 192,1194, рассчитано 192,1203 для $C_{11}H_{18}NSi$.

7. Синтез 2-фенилфуллеропирролидина.

Раствор 100 мг (0,14 ммоль) фуллерена C_{60} , 35 мг (0,18 ммоль) (N-бензилиден)триметилсилилметиламина и 20 мкл (0,14 ммоль) триметилхлорсилана кипятили в 120 мл толуола в течение 2 ч. Продукт выделяли при помощи колоночной хроматографии (элюент — толуол, а затем толуол-этилацетат в соотношении 5:1). Выход — 79 мг (68%). Спектр ЯМР 1H (CS_2 - $CDCl_3$ 1:1, δ , м.д., J , Гц): 7,86 (2H, м, Ar), 7,44 (3H, м, Ar), 5,90 (1H, с, $CH-2$), 5,18 (1H, д, $J_{HH} = 10,88$, $CH-5$ -цис), 4,96 (1H, д, $J_{HH} = 10,88$, $CH-5$ -транс). Спектр ЯМР ^{13}C (CS_2 - $CDCl_3$ 1:1, δ , м.д.): 155,68, 155,31, 154,32, 149,12, 148,88, 147,77, 147,52, 147,20, 146,26, 146,13, 145,94, 145,70, 145,57, 145,35, 145,28, 144,93, 144,81, 144,59, 144,44, 144,36, 144,08, 143,14, 142,64, 142,42, 142,22, 142,10, 142,00, 141,73, 140,18 (C_{sp^2} сферы C_{60}), 136,74 (Ar-1), 129,62 (Ar-пара), 128,84 (Ar-орто), 128,20 (Ar-мета), 79,93 (C_{sp^2} -3 сферы C_{60}), 75,75 (C_{sp^2} -4 сферы C_{60}), 73,69 (C-2), 60,96 (C-5). Спектр ИК (KBr, ν , cm^{-1}): 2954, 2921, 2852, 1456, 1427, 1302, 1263, 1184, 1094, 1073, 1030, 761, 731, 697, 527. Масс-спектр высокого разрешения (nanoESI): MH^+ , найдено m/z 840,0808, рассчитано 840,0808 для $C_{68}H_{10}N$.

8. Синтез N-[5-(3-дитиоланил-1,2)пентаноил]-2-фенилфуллеропирролидина (образец 2).

К охлажденному до 0 °C раствору 37 мг (0,18 ммоль) липоевой кислоты в 2 мл этилацетата при перемешивании добавили 37 мг дициклогексилкарбодиимида. Полученную суспензию поместили в раствор 79 мг (0,1 ммоль) 2-фенилфуллеропирролидина в 50 мл толуола и кипятили полученную смесь в течение 2 ч в атмосфере аргона. Продукт выделяли при помощи колоночной хроматографии (элюент — толуол-этилацетат в соотношении 5:1). Выход — 140 мг (98%). Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$, δ , м.д., J , Гц): 7,82 (2H, д, $J_{HH} = 7,52$, Ar-орто), 7,54 (2H, т, $J_{HH} = 7,70$, Ar-мета), 7,43 (1H, т, $J_{HH} = 7,34$, Ar-пара), 6,13 (2H, уш.с, CH_2), 5,64 (1H, уш.с, CH), 3,60 (1H, м, CHS), 3,19 (2H, м, CH_2S), 2,82 (2H, м, CH_2CO), 2,48 (2H, м, CH_2CH_2S), 1,94 (2H, м, CH_2), 1,76 (4H, м, CH_2), 1,59 (2H, м, CH_2). Масс-спектр МАЛДИ (ДЦТБ): m/z 1027 (M $^+$). Масс-спектр высокого разрешения (nanoESI): MNO_2^+ , найдено m/z 1060,1014, рассчитано 1060,1036 для $C_{76}H_{32}NO_3S_2$.

9. Синтез триметилсилилового эфира саркозина.

В колбу емкостью 100 мл, снабженную обратным холодильником с хлоркальциевой трубкой и магнитной мешалкой, добавляли 2 г (23 ммоль) саркозина, 30 мл гексаметилдисилазана и 0,5 мл триметилхлорсилана. Реакционную смесь кипятили в течение 1–1,5 ч. После этого избыток гексаметилдисилазана упаривали, а остаток перегоняли в вакууме

($T_{\text{кип}} = 48^{\circ}\text{C}$ при 10 мм рт.ст.). Выход — 3 мл (80%). Спектр ИК, ν , см⁻¹: 2957 (N-CH₃), 2889, 2799, 1724, 1361, 1252, 1197, 1181, 1033, 926, 916, 837, 761, 735, 705, 686, 620.

10. Синтез этилового эфира N-метил-фуллеропролина (образец 3). К раствору 100 мг (0,14 ммоль) фуллерена C₆₀ в 125 мл толуола добавляли 37 мкл (0,18 ммоль) 50% раствора этилового эфира глиоксиловой кислоты и 32 мкл (0,18 ммоль) триметилсилилового эфира саркозина. Смесь кипятили 2 ч, продукт выделяли при помощи колоночной хроматографии (элюент — толуол, а затем толуол-этилацетат, 5:1). Выход — 100 мг (85%). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, δ , м.д., J, Гц): 4,99 (1H, д, $J_{\text{HH}} = 9,41$, HCH), 4,82 (1H, с, CHCOO), 4,44 (1H, д.кв, $J_1 = 7,09$, $J_2 = 10,76$, HCHO), 4,35 (1H, д.кв, $J_1 = 7,09$, $J_2 = 10,76$, HCHO), 4,28 (1H, д, $J_{\text{HH}} = 9,41$, HCH), 3,04 (3H, с, CH₃N), 1,27 (3H, т, $J_{\text{HH}} = 7,09$, CH₃CH₂). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, δ , м.д.): 169,53 (COO), 154,88, 154,01, 153,06, 151,13, 147,62, 147,52, 146,82, 146,63, 146,48, 146,29, 146,03, 145,81, 145,75, 145,59, 145,51, 144,91, 144,71, 144,61, 143,35, 142,88, 142,35, 142,10, 142,35, 142,10, 141,98, 140,53, 140,47, 139,95, 139,74, 138,03, 136,77, 136,26, 135,73 (C_{sp2} сферы C₆₀), 79,60 (CHN), 73,54 (C_{sp3}-3), 69,83 (C_{sp3}-4) 68,99 (CH₂N), 61,99 (CH₂O), 40,16 (CH₃N), 14,54 (CH₃CH₂). Спектр ИК (KBr, ν , см⁻¹): 2973, 2951, 2921, 2845, 2780, 1731, 1462, 1429, 1182, 1093, 526. Масс-спектр высокого разрешения (nanoESI): MH⁺, найдено m/z 850,0859, рассчитано 850,0863 для C₆₆H₁₂NO₂.

11. Синтез гидрохлорида децилового эфира глицина. К суспензии 2 г (27 ммоль) глицина в 30 мл абсолютного этанола добавляли по каплям при интенсивном перемешивании 2 мл (27 ммоль) тионилхлорида. При этом происходило полное растворение аминокислоты. Раствор кипятили 2 ч, а затем растворитель упаривали в вакууме досуха. Остаток растворяли в хлористом метиле, фильтровали и снова упаривали досуха в вакууме. Выход — 6,1 г (91%). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, δ , м.д., J, Гц): 8,57 (3H, уш.с, NH₃), 4,17 (2H, т, $J_{\text{HH}} = 6,79$, CH₂O), 3,99 (2H, с, CH₂N), 1,64 (2H, м, CH₂), 1,33–1,27 (14H, м, CH₂), 0,89 (3H, т, $J_{\text{HH}} = 7,15$, CH₃). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, δ , м.д.): 167,77 (C = O), 66,63 (CH₂O), 40,54 (CH₂N), 31,89 (CH₂), 29,57 (CH₂), 29,53 (CH₂), 29,33 (CH₂), 29,28 (CH₂), 28,35 (CH₂), 25,79 (CH₂), 22,68 (CH₂), 14,10 (CH₃). Спектр ИК (НПВО, ν , см⁻¹): 2962, 2916, 2893, 2849, 1738, 1569, 1493, 1474, 1434, 1415, 1233, 1112, 1057, 959, 894, 720.

12. Синтез децилового эфира 3,4,6,7-бис-фуллоро[60]пирролизидин-5-карбоновой кислоты (образец 4). В раствор (0,17 ммоль) гидрохлорида децилового эфира глицина в 5 мл хлористого метилена добавили 23 мкл (0,17 ммоль) триэтиламина, затем прилили 15 мл толуола и смесь упарили

в вакууме до половины объема. Полученную смесь прибавили к раствору 100 мг (0,14 ммоль) фуллерена C₆₀ в 120 мл толуола, добавили 10 мг (0,34 ммоль) параформальдегида, 18 мг (0,17 ммоль) перхлората лития и 23 мкл (0,17 ммоль) триэтиламина и кипятили 3 ч. Целевое соединение выделяли методом колоночной хроматографии (элюент — толуол-гексан, 2:1, а затем толуол). Выход — 68 мг (58%). Спектр ЯМР ¹H (1,2-ДХБ-d₄, δ , м.д., J, Гц): 5,96 (2H, д, $J_{\text{HH}} = 11,93$, CH₂N), 5,93 (2H, д, $J_{\text{HH}} = 11,93$, CH₂N), 4,39 (2H, т, $J_{\text{HH}} = 6,29$, CH₂O), 1,61 (2H, м, CH₂), 1,53–1,36 (14H, м, CH₂), 1,10 (3H, т, $J_{\text{HH}} = 6,93$, CH₃). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, δ , м.д.): 170,28 (C = O), 154,91, 153,38, 149,71, 149,47, 149,26, 148,81, 148,61, 148,52, 148,35, 147,55, 147,38, 147,33, 147,26, 146,79, 146,71, 146,63, 146,50, 146,06, 145,99, 145,93, 145,42, 145,23, 145,19, 145,14, 144,94, 144,87, 144,80, 144,64, 144,53, 144,44, 144,36, 144,23, 144,19, 143,87, 143,80, 143,32, 143,16, 142,93, 142,82, 142,70, 142,64, 141,79, 141,64, 141,51, 139,01, 138,11, 137,70, 137,56 (C_{sp2} сферы C₆₀), 109,65 (C_{sp3} сферы C₆₀), 84,44 (C-N) 72,21 (CH₂N), 69,79 (C_{sp3} сферы C₆₀), 66,48 (CH₂O), 32,54 (CH₂), 30,21 (CH₂), 30,13 (CH₂), 30,05 (CH₂), 29,85 (CH₂), 29,23 (CH₂), 26,96 (CH₂), 23,38 (CH₂), 14,75 (CH₃). Спектр ИК (KBr, ν , см⁻¹): 2922, 2851, 1741, 1462, 1429, 1382, 1298, 1260, 1191, 1126, 1071, 526. Масс-спектр МАЛДИ (ДЦТБ): m/z 1680 (M⁺), 720 (фр. C₆₀).

13. Определение перекисного числа X_n методом титрования. В пробирку наливали 5 мл олеиновой кислоты и растворяли 5 мкмоль анализируемого соединения. Затем в колбу помещали аликвоту 0,5 мл полученного раствора, 6 мл CHCl₃, 9 мл ледяной уксусной кислоты и 0,5 мл свежеприготовленного на холоде насыщенного раствора KI и встряхивали в течение 2 мин, после чего добавляли 50 мл дистиллированной воды и 0,5 мл 1% раствора крахмала и немедленно титровали 0,01 М раствором Na₂S₂O₃. Иод, выделившийся в эквивалентном гидропероксиду (LOOH) количестве, титровали стандартным раствором тиосульфата в соответствии с уравнением: LOOH + 2KI + 2H⁺ = I₂ + H₂O + LOH + 2K⁺.

Перекисное число (масса гидроперекисей и пероксидов) X, 1/2O ммоль/кг, вычисляли по формуле:

$$X = \frac{(Y - Y_1) \times 0,00127 \times 100 \times 78,7}{m}, \text{ где}$$

Y — суммарный объем раствора тиосульфата натрия, пошедшего на титрование в рабочем опыте, мл;
Y₁ — суммарный объем раствора тиосульфата натрия, пошедшего на титрование в контрольном опыте, мл;

0,00127 — количество иода, эквивалентное 1 см³ раствора тиосульфата натрия молярной концентрации с (Na₂S₂O₃ × 5H₂O) = 0,01 моль/л;

78,7 — коэффициент перевода единицы измерения перекисного числа, выраженной в процентах иода (в граммах иода на 100 г жира) в $\frac{1}{2}O$ ммоль/кг; m — масса олеиновой кислоты, г.

После титрования пробирку с раствором помещали в термостат при 50 °С и барботировали воздух в течении 1 ч, после чего титрование повторяли по описанной выше методике. Каждый образец титровали 5 раз с интервалом в 1 ч.

Результаты исследования и их обсуждение

Нами были использованы методы получения производных фуллеропротина, предложенные в работе [7], модификация метода Прато, а также два принципиально новых подхода к синтезу производных фуллеропирролидина.

Синтез фуллереновых производных. Этиловый эфир N-ацетил-5-(4-гидрокси-3,5-ди-*tert*-бутилфенил)фуллеропротина (образец 1) был получен в три стадии (рис. 1).

На 1-й стадии при взаимодействии 5-(4-гидрокси-3,5-ди-*tert*-бутил)бензальдегида с этиловым эфиром глицина получали имин, который далее без выделения и дополнительной очистки приводили во взаимодействие с фуллереном в присутствии катализатора и основания. Полученный эфир 5-замещенного фуллеропротина ацилировали ацетилхлоридом при кипячении в толуоле с основанием.

Продукт выделяли при помощи колоночной хроматографии. По данным ВЭЖХ (колонка Cosmosil Viscurgel 4 x 250 мм, элюент — толуол), продукт представлен смесью *цис*- и *транс*-изомера в соотношении 2:1. Строение полученных соединений было подтверждено методами 1H , ^{13}C ЯМР спектроскопии, ИК спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения с ионизацией наноэлектрораспылением.

Принципиально новый метод предложен для синтеза фуллеропирролидина, образец 2 (рис. 2). В его основе лежит 1,3-диполярное циклоприсоединение к фуллерену азометинида, полученного десилилированием (N-бензилиден)триметилсиллилметиламина.

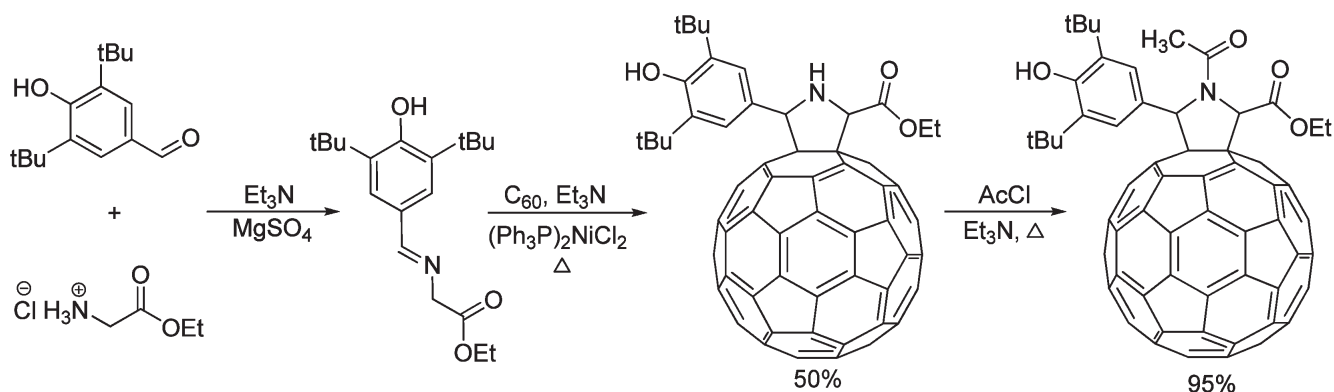


Рис. 1. Схема синтеза N-ацетил-5-(4-гидрокси-3,5-ди-*tert*-бутилфенил)фуллеропротина

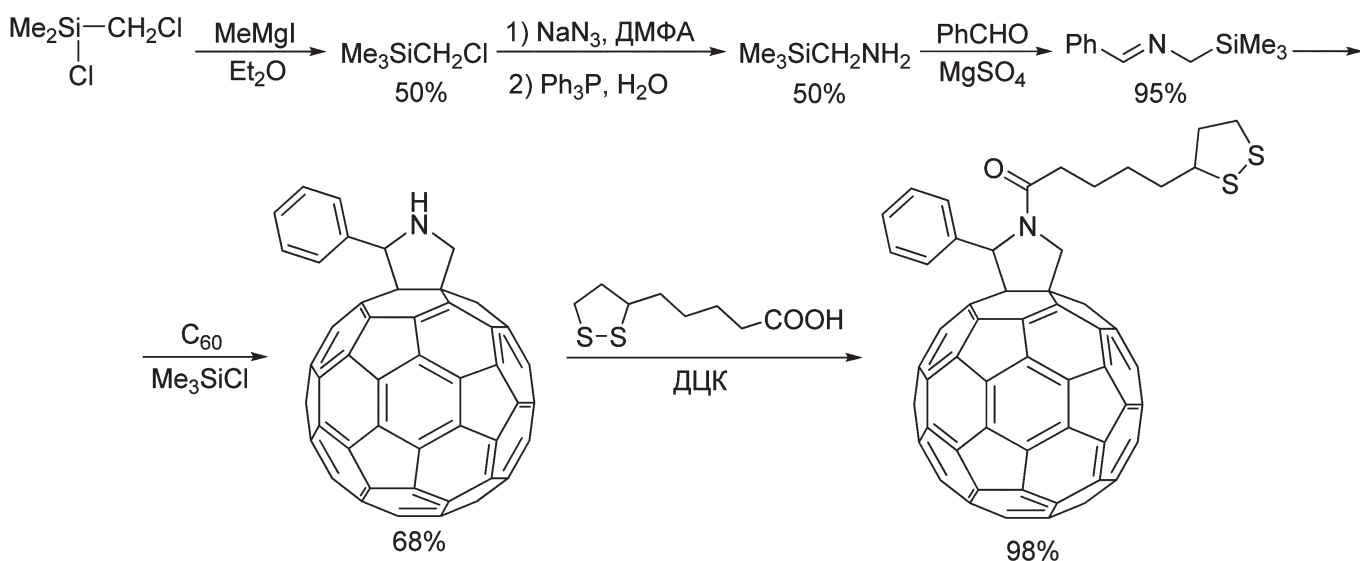


Рис. 2. Схема синтеза фуллеропирролидина

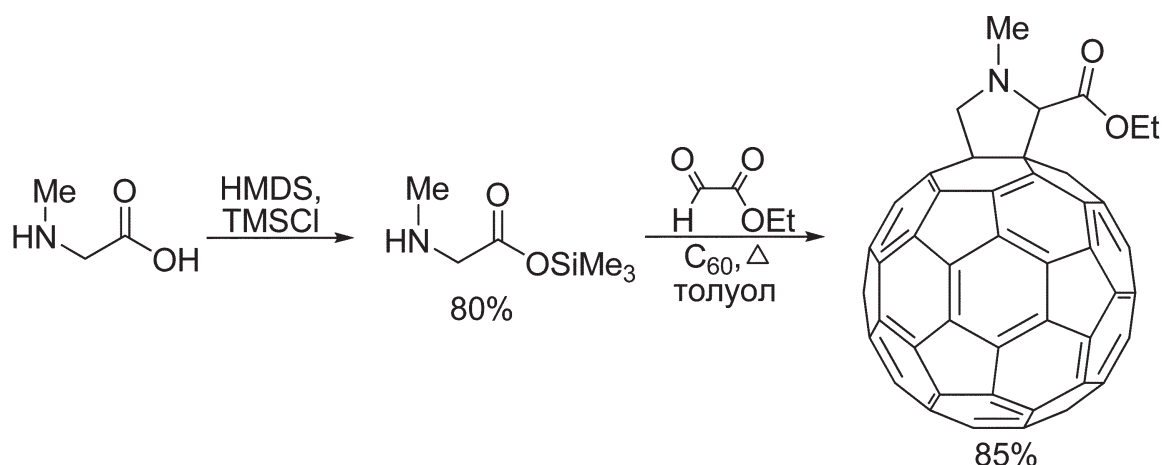


Рис. 3. Схема синтеза фуллеропролина

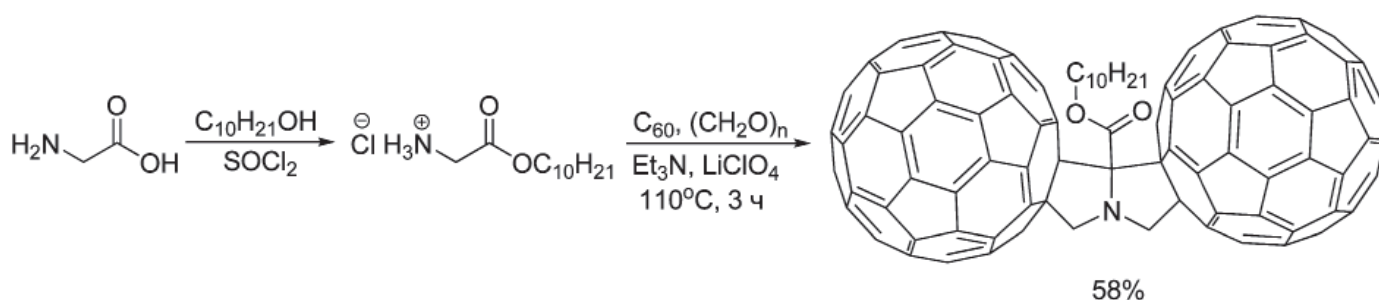


Рис. 4. Синтез децилового эфира 3,4,6,7-бис-фуллоро[60]пирролидин-5-карбоновой кислоты

Таблица. Определение перекисного числа X _n						
Время, ч	X _n , ммоль/кг					
	контроль	C ₆₀	образец 1	образец 2	образец 3	образец 4
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1	0,03	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
2	0,07	0,04	0,01	0,03	0,03	0,03
3	0,13	0,09	0,03	0,06	0,04	0,03
4	0,20	0,11	0,08	0,16	0,06	0,04
5	0,31	0,20	0,11	0,25	0,08	0,06

Суммарный выход конечного продукта в пересчете на фуллерен C₆₀ составил 67%.

Производное фуллеропролина (образец 3) было синтезировано по модифицированной нами реакции Прато (рис. 3). Модификация заключалась в использовании вместо саркозина его триметилсилилового эфира. В отличие от свободной аминокислоты он растворим в большинстве неполярных растворителей, в которых растворяется фуллерен C₆₀. В результате выход конечного продукта увеличивается в 2 раза, а скорость реакции — в 4 раза.

Двусферный бициклоаддукт (образец 4) был получен из децилового эфира глицина, параформальдегида и фуллерена в присутствии перхлората лития в качестве катализатора и триэтиламина в качестве основания (рис. 4). Исходный эфир глицина был приготовлен из свободной аминокислоты и соответствующего спирта тионилхлоридным методом [9].

Изучение антиоксидантной активности. Для синтезированных соединений было определено перекисное число X_n. Пероксидные радикалы генерирова-

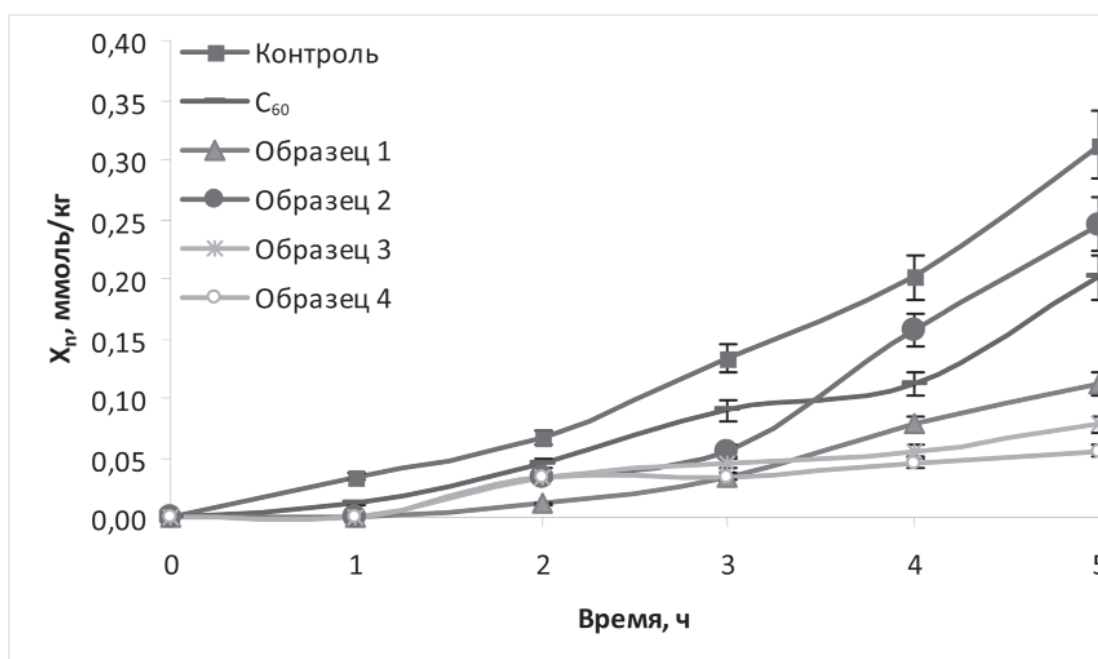


Рис. 5. Изменение перекисного числа со временем

ли в процессе окисления олеиновой кислоты кислородом воздуха. В качестве контрольного образца использовали чистую олеиновую кислоту. Количество оставшихся в анализируемом образце пероксидов определяли при помощи иодометрического титрования. Результаты приведены в таблице.

Из рис. 5 видно, что наилучшие результаты в ингибировании процесса образования гидроперекисей показал дециловый эфир 3,4,6,7-бис-фуллеро[60]пирролизидин-5-карбоновой кислоты (образец 4). Высокая активность этого соединения может быть связана с захватом радикалов сразу двумя фуллереновыми сферами.

Необычайно низкая активность образца 2 связана с его выраженной восстановительной способностью, в результате чего в процессе определения перекисного числа вещество полностью окислилось кислородом воздуха. Это было подтверждено данными масс-спектрометрии высокого разрешения (Материалы и методы, п. 8).

Заключение

Нами синтезированы новые соединения, содержащие одну и две фуллереновые сферы в молекуле. Установлена возможность их использования в качестве эффективных антиоксидантов, причем с увеличением числа сфер в молекуле антиоксидантная активность возрастает.

Литература

- Nielsen G., Roursgaard M., Jensen K. et al. *In vivo* Biology and Toxicology of Fullerenes and Their Derivatives // *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2008. V.103. P.197–208.
- Shuster D.I., Wilson S.R., Shinazi R.F. Anti-human immunodeficiency virus activity and cytotoxicity of derivatized buckminsterfullerenes // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1996. V.6. P.1253–1256.
- Shinazi R.F., Sijbesma R., Sradanov G. et al. Synthesis and virucidal activity of a water-soluble, configurationally stable, derivatized C₆₀ fullerene // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1993. V.37. №8. P.1707–1710.
- Bakry R., Vallant R., Najam-ul-Haq M. et al. Medicinal applications of fullerenes // *Int J Nanomedicine.* 2007. V.2. P.639–649.
- Maggini M., Scorrano G., Prato M. Addition of Azomethine Ylides to C₆₀: Synthesis, Characterization, and Functionalization of Fullerene Pyrrolidines // *J. Am. Chem. Soc.* 1993. V.115. P.9798–9799.
- Wilson S.R., Wang Y., Cao J., Tan X. Amino Acids as Precursors for N-unsubstituted Fulleropyrrolidine Derivatives // *Tetrahedron Lett.* 1996. V.37. P.775–778.
- Ioutsy V.A., Zadorin A.A., Khavrel P.A. et al. Diastereoselective lithium salt-assisted 1,3-dipolar cycloaddition of azomethine ylides to the fullerene C₆₀ // *Tetrahedron.* 2010. V.66. P.3037–3041.
- Filipone S., Maroto E.E., Martin-Domenech A. et al. Anefficient approach to chiral fullerene derivatives by catalytic enantioselective 1,3-dipolar cycloadditions // *Nat Chem.* 2009. V.1. P.578–582.
- Титце Л., Айхер Т. *Препаративная органическая химия.* М.: Мир, 1999. С.156.

Информация об авторах:

Соколов Сергей Александрович, студент кафедры физической химии химического факультета Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова, лаборант научно-исследовательского института канцерогенеза Российского онкологического научного центра им. Н.Н.Блохина
Адрес: 119991, Москва, ул. Ленинские горы, 1, стр. 3
Телефон: (499) 353-5396
E-mail: sokol481@rambler.ru

Семивражская Олеся Олеговна, студентка кафедры физической химии химического факультета Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова
Адрес: 119991, Москва, ул. Ленинские горы, 1, стр. 3
Телефон: (499) 353-5396
E-mail: semivrazhskaya@gmail.com

Апендова Марина Георгиевна, младший научный сотрудник лаборатории термодинамики кафедры физической химии химического факультета Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова
Адрес: 119991, Москва, ул. Ленинские горы, 1, стр. 3
Телефон: (499) 353-5396
E-mail: mg.apenova@mail.ru

Белов Никита Михайлович, аспирант лаборатории термодинамики кафедры физической химии химического факультета Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова
Адрес: 119991, Москва, ул. Ленинские горы, 1, стр. 3
Телефон: (499) 353-5396
E-mail: nikita.belov@gmail.com

Ковалев Сергей Васильевич, аспирант лаборатории протеомики научно-исследовательского института канцерогенеза Российского онкологического научного центра им. Н.Н.Блохина
Адрес: 115478, Москва, Каширское ш., 24
Телефон: (499) 323-5611
E-mail: sergekov@mail.ru

Шевченко Валерий Евгеньевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией протеомики научно-исследовательского института канцерогенеза Российского онкологического научного центра им. Н.Н.Блохина
Адрес: 115478, Москва, Каширское ш., 24
Телефон: (499) 323-5611
E-mail: vshev@nm.ru

Негребецкий Вадим Витальевич, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой химии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-0465
E-mail: negrebetsky1@rsmu.ru

СТРАНИЧКА УЧЕНОГО СОВЕТА РНИМУ ИМ. Н.И.ПИРОГОВА

Информация о защитах диссертаций на соискание ученой степени доктора наук в ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава России

Автор	Тема	Специальность
Давыдовская Мария Вафаевна	Нейродегенеративный процесс при рассеянном склерозе: возможности оценки и коррекции	14.01.11 — нервные болезни (медицинские науки)
<i>Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Научный консультант — д. м. н., проф. А.Н. Бойко. Защита состоится 12.12.2012 на заседании диссертационного совета Д 208.072.09 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: (495) 434-84-64).</i>		
Хорева Марина Викторовна	Комплексный анализ системы Toll-подобных рецепторов при различных патологических состояниях человека	14.01.05 — кардиология (медицинские науки)
<i>Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Научный консультант — д. м. н., проф. Л.В. Ковальчук. Защита состоится 24.12.2012 на заседании диссертационного совета Д 208.072.05 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: (495) 434-84-64).</i>		