

Министерство образования и науки Российской Федерации

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра аналитической химии и химической экологии

**ВЫЯСНЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ
ОРГАНИЧЕСКИХ СЕЛЕНИДОВ
И СОЛИ ДИГИДРОСЕЛЕНОХРОМИЛИЯ
С ДИФЕНИЛПИКРИЛГИДРАЗИЛОМ**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студентки IV курса 441 группы

направления 04.03.01 Химия

Института химии

Тугушевой Эльмиры Рушановны

Научный руководитель

профессор, д.х.н., профессор

подпись, дата

А.Н. Панкратов

Зав. кафедрой

д.х.н., доцент

подпись, дата

Т.Ю. Русанова

Саратов 2016

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Высшие грибы-базидиомицеты имеют важное значение как продукты питания и биологические объекты для установления закономерностей функционирования, развития живых систем, их отклика на действие эффекторов различной природы.

Недостаточно высокая активность антиоксидантной системы живых организмов, не позволяющая преодолеть негативные последствия окислительного стресса (избыточный уровень свободных радикалов в клетках) – причина старения и отмирания организмов.

Для повышения устойчивости культур высших грибов к окислительному стрессу, для обеспечения клеточной дифференциации и перехода к генеративной стадии используют антиоксиданты.

Ярко выраженными антиоксидантными свойствами обладают соединения селена, который является также жизненно важным микроэлементом.

Одним из показателей антиоксидантного действия служит антирадикальная активность, определяемая по реакции [1] с участием стабильного свободного радикала 1,1-дифенил-2-пикрилгидразила (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил, N,N-дифенил-N'-пикрилгидразил,ДФПГ, DPPH).

Другим важным индексом антиоксидантной активности является уровень пероксидного окисления липидов (ПОЛ), оцениваемый по реакции [1] с тиобарбитуровой кислотой (ТБК).

Ввиду токсичности неорганических соединений селена в качестве антиоксидантных и микроэлементных добавок при культивировании базидиомицетов перспективны селенорганические соединения.

При будущем биотестировании названных соединений понадобится учёт возможного взаимодействия самих добавок с ДФПГ и ТБК.

Поэтому необходимо осуществление контрольных реакций селенорганических соединений с ДФПГ.

Представляется целесообразным, чтобы экспериментальному исследованию названной реакции предшествовало квантовохимическое обоснование.

Цель настоящей работы – квантовохимическое рассмотрение пространственной и электронной структуры молекулярных систем трёх органических селенидов и соли дигидроселенохромилия, а также экспериментальное выяснение возможности взаимодействия названных соединений с дифенилпикрилгидразилом.

Для достижения поставленной **цели** нами решены следующие **задачи**:

– проведено сравнительное квантовохимическое исследование геометрического и электронного строения молекулярных систем органических селенидов, изолированного катиона и перхлората дигидроселенохромилия;

– изучено взаимодействие органических селенидов и соли дигидроселенохромилия со стабильным свободным радикалом дифенилпикрилгидразилом.

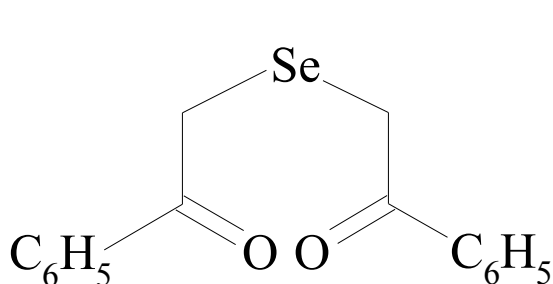
Объём и структура работы. Работа состоит из введения, 3 глав, заключения, списка использованных источников, включающего 45 наименований, благодарностей и описания правил техники безопасности при работе в химической лаборатории. Работа изложена на 52 страницах, содержит 11 рисунков и 3 таблицы.

Названия глав: 1. Общие представления и новые достижения химии органических селенидов и солей дигидроселенохромилия: Обзор литературы. 2. Экспериментальная часть. 3. Результаты и их обсуждение.

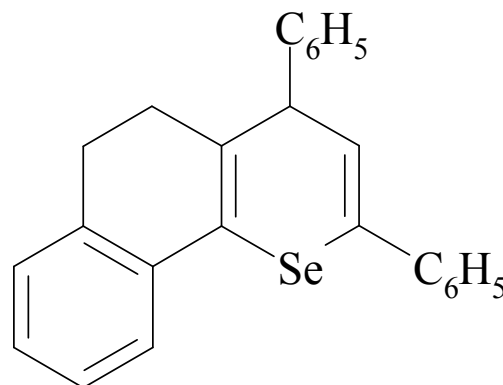
ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Общие представления и новые достижения химии органических селенидов и солей дигидроселенохромилия: Обзор литературы. Дано общее представление об антиоксидантах. Обобщены и проанализированы данные литературы по синтезу и свойствам (в том числе антиоксидантным) органических селенидов и солей дигидроселенохромилия по данным XXI века.

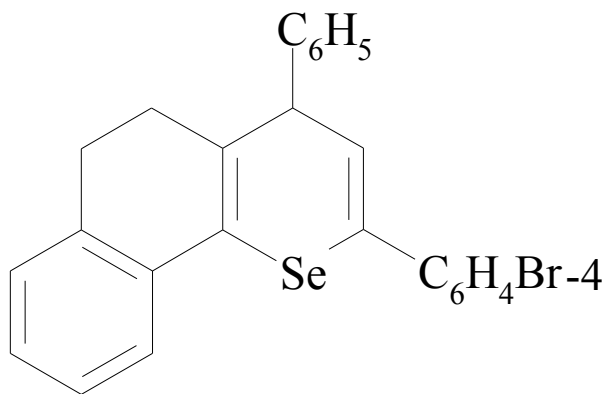
2. Методы и реагенты. Объектами исследования служили, во-первых, следующие органические соединения селена:



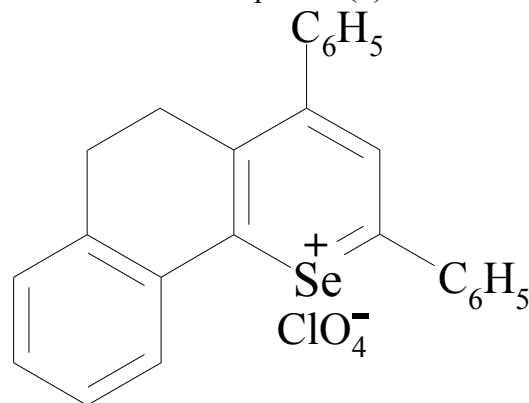
1,5-Дифенилселенопентандион-1,5
(диацетофенонилселенид,
бис(бензоилметил)селенид,
препарат ДАФС-25) (1)



2,4-Дифенил-7,8-бензо-5,6-дигидро-4H-
селенохромен (2)



2-(4-Бромфенил)-4-фенил-7,8-бензо-5,6-
дигидро-4H-селенохромен (3)



Перхлорат 2,4-дифенил-7,8-бензо-5,6-
дигидроселенохромилия (4)

Вещества были предоставлены кандидатом химических наук, научным сотрудником кафедры “Микробиология, биотехнология и химия” федерального государственного образовательного учреждения высшего образования “Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова” Ярославом Борисовичем Древки.

Другую группу объектов исследования составляли модельные соединения: циклогексан C_6H_{12} , бензол C_6H_6 , этилбензол $C_6H_5CH_2CH_3$, ацетофенон (метилфенилкетон, 1-фенилэтанон) $C_6H_5COCH_3$, бромбензол C_6H_5Br .

В работе изложены условия реализации адаптированных к задачам настоящего исследования спектрофотометрических методик определения антирадикальной активности веществ по реакции с ДФПГ и нахождения уровня

ПОЛ по реакции с ТБК. Описана методика квантовохимического исследования.

3. Результаты и их обсуждение.

3.1. Квантовохимическое исследование пространственной и электронной структуры дигидроселенохроменов, катиона и соли дигидроселенохромилия. Методом DFT на уровне теории B3LYP/6-311++G(d,p) с привлечением NBO-анализа нами рассчитана пространственная и электронная структура молекулярных систем **1-4**, а также отдельно катиона соли **4** и перхлорат-аниона ClO_4^- (таблицы 1 и 2).

Таблица 1

Геометрические параметры гетероцикла селеноорганических молекулярных систем

Соединение	Длина связей, Å*		
	C-Se	C=C**	C-C**
1	1.995 и 1.999	–	–
2	1.938 и 1.939	1.336 и 1.347	1.519 и 1.536
3	1.939 и 1.940	1.336 и 1.347	1.518 и 1.536
Катион 4	1.866 и 1.875	1.378 и 1.400	1.411 и 1.416
Соль 4	1.855 и 1.863	1.373 и 1.396	1.408 и 1.411

*Для молекулы **1** первыми указана длина связи C-Se, ближайшей к карбонильной группе, выведенной из плоскости ароматического кольца на 13.5° . Для систем **2-4** первыми приведены величины длины связей C-Se, ближайших к ароматическому кольцу в положении **2**

Обозначения кратности связей C-Se, C=C и C-C в гетероцикле уместны для молекул **2 и **3**; применительно к катиону **4** и соли **4** эти обозначения сохранено как условные для преемственности и обеспечения возможности различать связи в таблице

Соединение	Валентные углы, град*			
	C-Se-C	C=C-Se**	C=C-C**	C-C-C
1	99.1	–	–	–
2	95.9	117.8 и 119.9	123.2 и 120.3	111.6
3	95.7	117.7 и 119.6	122.8 и 120.0	111.3
Катион 4	101.1	120.1 и 122.6	127.9 и 123.6	124.6
Соль 4	101.0	120.7 и 122.7	127.2 и 123.4	124.7

*Первыми приведены величины валентных углов, ближайших к ароматическому кольцу в положении **2**

Обозначения валентных углов C-Se-C, C=C-Se, C=C-C и C-C-C с учётом кратности связей в гетероцикле уместны для молекул **2 и **3**; применительно к катиону **4** и соли **4** эти обозначения сохранены как условные для преемственности и обеспечения возможности различать валентные углы в таблице

Таблица 2

Натуральный порядок (индекс К.Б. Уайберга) связей в гетерокольце*

Соединение	C-Se	C=C**	C-C**
1	0.954 и 0.958	–	–
2	0.999 и 1.002	1.816 и 1.742	0.996 и 0.980
3	0.999 и 1.002	1.811 и 1.741	0.967 и 0.979
Катион 4	1.195 и 1.200	1.482 и 1.413	1.332 и 1.333
Соль 4	1.215 и 1.223	1.493 и 1.415	1.329 и 1.335

*Для молекулы **1** первыми указан натуральный порядок связи C-Se, ближайшей к карбонильной группе, выведенной из плоскости ароматического кольца на 13.5°. Для систем **2-4** первыми приведены величины индекса К.Б. Уайберга связей C-Se, ближайших к ароматическому кольцу в положении **2**

Обозначения кратности связей C-Se, C=C и C-C в гетероцикле уместны для молекул **2 и **3**; применительно к катиону **4** и соли **4** эти обозначения сохранено как условные для преемственности и обеспечения возможности различать связи в таблице

Расчётами показано, что в молекуле **1** карбонильные группы C=O располагаются далеко друг от друга: расстояние между углеродными атомами CO-групп составляет 5.243 Å, между атомами кислорода 7.015 Å. Диполи связей C=O, векторно складываясь, в значительной степени компенсируют друг друга. Одна из карбонильных групп выведена из плоскости связанного с ней ароматического кольца на 13.5°, другая на 2.2°, так что условия для сопряжения π -связи группы C=O и π -системы кольца благоприятны.

В молекулах **2** и **3** гетероцикл имеет конформацию ванны, сумма валентных углов гетероцикла составляет 688.7° в **2** и 687.1° в **3**. Нами рассмотрены изомеры с псевдоэкваториальным расположением фенильного заместителя в позиции **4** гетерокольца.

В катионе **4** и соли **4** гетерокольцо планарное, каким оно и должно быть как гетероароматическое; сумма валентных углов гетерокольца в изолированном катионе **4** и перхлорате **4** равна соответственно 719.9° и 719.7°. Напомним, что в плоском шестиугольнике сумма углов 720°.

Типичная изолированная двойная углерод-углеродная связь C=C имеет длину 1.335 ± 0.005 Å, одинарная C-C связь в системе C=C-C 1.537 ± 0.005 Å [2]. Для сравнения нами на том же уровне теории B3LYP/6-311++G(d,p) рассчитана пространственная и электронная структура молекул этана CH₃CH₃ и

этилена $\text{CH}_2=\text{CH}_2$. Длина связей C-C и C=C оказалась равной соответственно 1.531 Å и 1.329 Å. Для “чистых” одинарной C-C (в этане) и двойной C=C (в этилене) углерод-углеродных связей натуральный порядок имеет величины 1.047 и 2.046 соответственно.

В соответствии с данными таблиц 1 и 2, в молекулах **2** и **3** имеются двойные C=C и одинарные C-C углерод-углеродные связи.

В молекулярных системах **2**, **3** и в особенности **4** по сравнению с **1** связь углерод-селен становится короче, а её натуральный порядок в некоторой степени возрастает, то есть связь делается прочнее.

В катионе **4** и перхлорате **4** наблюдается определённое выравнивание углерод-углеродных связей: те из них, которые в молекулах **2** и **3** являются двойными либо одинарными, в системах **4** соответственно удлиняются и укорачиваются, приобретая “полуторный” характер. Связь углерод-селен также получает некоторую степень двоевязанности.

Переход от дигидроселенохроменов **2** и **3** к катиону и соли дигидроселенохромилия **4** сопровождается также возрастанием всех валентных углов в гетероцикле.

Таким образом, солеобразование приводит к заметному выравниванию длины, порядка связей и валентных углов в гетерокольце по сравнению с дигидроселенохроменами.

Обращает на себя внимание сходство геометрических параметров и электронного распределения, с одной стороны, в гетероцикле молекул **2** и **3**, и, с другой стороны, в изолированном катионе и перхлорате **4**.

Это иллюстрируется не только парциальными величинами заряда на атомах, но также интегральным показателем – суммой значений натурального заряда атомов углерода и селена гетероцикла: -0.474 (**2**), -0.481 (**3**), 0.300 (катион **4**), 0.415 (соль **4**).

Атом брома в молекуле **3** приводит к существенному изменению натурального заряда по сравнению с молекулой **2** лишь на несущем бром атоме углерода. Это соответствует представлениям о быстром затухании эффекта

электроотрицательности (индуктивный эффект) атома брома и достаточно слабom его мезомерном влиянии.

Важно отметить, что в соли **4** катион дигидроселенохромилия сохраняет свою относительную автономность. Перхлорат-анион ClO_4^- располагается практически над гетероциклом, три атома кислорода соответственно над углеродными атомами в позициях 2, 4 и 6 гетерокольца. При этом расстояния между атомами C2, C4, C6 и ближайшими к ним O-атомами достаточно велики и равны 3.097 Å, 3.131 Å, 3.171 Å соответственно; расстояние $\text{Se}^{\cdots}\text{Cl}$ составляет 4.026 Å.

NBO-анализ показывает, что соль **4** состоит из двух более или менее обособленных субъединиц: гетероциклического катиона и перхлорат-аниона.

В перхлорате **4** перенос заряда от атомов кислорода аниона на атом селена и в целом на гетероцикл незначителен: сумма значений натурального заряда перхлорат-аниона составляет -0.962 . При переходе от изолированного катиона **4** к соли **4** даже несколько возрастают положительный натуральный заряд на атоме Se (от 0.738 до 0.789) и суммарный заряд гетероцикла (от 0.300 до 0.415).

Имеет место искажение геометрии и симметрии распределения заряда в перхлорат-анионе ClO_4^- . Это может иметь следствием более высокую биологическую активность перхлорат-аниона в соли дигидроселенохромилия **4** по сравнению с чисто ионно построенными неорганическими перхлоратами.

Укорочение, то есть упрочение, связей углерод-селен при переходе от диацетофенонилселенида **1** к селенидам **2**, **3** и соли дигидроселенохромилия **4** согласуется с результатами экспериментов [3, 4], показывающих, что циклические соединения **2-4**, в отличие от открытоцепного селенида **1**, не склонны к биодеструкции с выделением элементного селена [3, 4], несмотря на повышение положительного натурального заряда на атоме селена и в целом в гетероцикле, способствующего нуклеофильной атаке реагента-восстановителя (например, *L*-цистеина).

3.2. Взаимодействие селенорганических соединений с дифенилпикрилгидразилом. Чтобы оценить возможность участия тех или иных связей С-Н или С-Br селенорганических молекулярных систем в реакции с ДФПГ, нами, наряду с веществами **1-4**, в названной реакции были изучены модельные соединения: циклогексан C_6H_{12} (неактивированная метиленовая группа CH_2), бензол C_6H_6 (связь С-Н в ароматическом кольце), этилбензол $C_6H_5CH_2CH_3$ (CH_2 -звено по соседству с ароматической системой), ацетофенон $C_6H_5COCH_3$ (связи С-Н в α -положении к карбонильной группе $C=O$), бромбензол C_6H_5Br (связь $C_{Ar}-Br$).

Результаты изучения реакции ингибирования ДФПГ показаны в таблице 3.

Таблица 3

Количество вещества, вступившего в реакцию с ДФПГ (n), и мольная доля прореагировавшего вещества (ν) для селенорганических (**1-4**) и модельных соединений

Соединение	n , мкмоль	s_r *	ν
1	1.0 ± 0.2	0.07	0.01
2	14 ± 3	0.08	0.14
3	41 ± 8	0.08	0.41
4	51 ± 6	0.05	0.51
Циклогексан	7 ± 4	0.2	0.07
Бензол	6 ± 2	0.04	0.06
Этилбензол	10 ± 2	0.07	0.10
Ацетофенон	12 ± 4	0.03	0.12
Бромбензол	12 ± 1	0.04	0.12

* s_r – относительное стандартное отклонение

Широкий в ряде случаев доверительный интервал (таблица 3) обусловлен “потерей точности при вычитании” в ходе разностных оценок ($A_0 - A_x$), где A_0 – оптическая плотность в отсутствие антиоксидантов (контроль); A_x – оптическая плотность исследуемого раствора.

Модельные вещества, как и соединения **1-4**, проявляют эффект ингибирования ДФПГ. При этом степень протекания указанного процесса несколько больше в случае систем с более или менее активированными связями С-Н:

для этилбензола и ацетофенона выше, нежели для циклогексана; для бромбензола выше, чем для бензола.

Почти не ингибирует ДФПГ диацетофенонилселенид **1**. Степень превращения вещества **1** (таблица 3) даже ниже, чем в случае модельного ацетофенона. Возможным объяснением этому служит экранирование атома азота – центра радикальной атаки в ДФПГ в сочетании со стерической малодоступностью CH_2 -групп в селениде.

Вещество **2** характеризуется ингибирующим эффектом практически в той же степени, что и модельные объекты.

Наибольшую степень ингибирования ДФПГ демонстрируют соединения **3** и **4**, особенно последнее.

Наиболее высокий уровень ингибирования ДФПГ для соли **4** может быть связан с активацией метиленовых групп в катионе **4** за счёт приобретения гетерольцом положительного заряда. Напомним, что сумма значений натурального заряда атомов углерода и селена гетероцикла в системах **1-4** составляет: -0.474 (**2**), -0.481 (**3**), 0.300 (катион **4**), 0.415 (соль **4**).

3.3. Взаимодействие селенорганических соединений с тиобарбитуровой кислотой. Ни вещества **1-4**, ни модельные соединения не приводят к образованию окрашенных форм, характерных для продуктов взаимодействия ТБК с дикарбонилами (большой частью 1,2- и 1,3-) – интермедиатами реакции ПОЛ. Не возникают вообще какие-либо продукты, поглощающие в видимой области спектра.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Методом теории функционала плотности (*Density Functional Theory*, DFT) на уровне B3LYP/6-311++G(*d,p*) с привлечением анализа натуральных связевых орбиталей (*Natural Bond Orbital Analysis*, NBO-анализ) рассчитана пространственная и электронная структура молекулярных систем 1,5-дифенилселенопентандиона-1,5 (диацетофенонилселенид,

бис(бензоилметил)селенид, препарат ДАФС-25), 2,4-дифенил-7,8-бензо-5,6-дигидро-4*H*-селенохромена, 2-(4-бромфенил)-4-фенил-7,8-бензо-5,6-дигидро-4*H*-селенохромена, изолированного катиона и перхлората 2,4-дифенил-7,8-бензо-5,6-дигидроселенохромилия, а также перхлорат-аниона.

2. Установлен факт упрочения связей углерод-селен при переходе от открытоцепного селенида к гетероциклическим селенсодержащим системам, согласующийся с меньшей склонностью последних к биодеструкции с элиминированием селена.

3. Показано, что гетероцикл в циклических селенидах имеет конформацию ванны, в то время как в катионе и перхлорате дигидроселенохромилия характеризуется плоским строением. Солеобразование приводит к выравниванию длины связей, валентных углов и распределения электронной плотности в гетерокольце по сравнению с дигидроселенохроменами.

4. В перхлорате 2,4-дифенил-7,8-бензо-5,6-дигидроселенохромилия органический катион сохраняет автономность. По данным НВО-анализа, соль состоит из двух более или менее обособленных субъединиц: гетероциклического катиона и перхлорат-аниона. Перенос заряда от атомов кислорода аниона на атом селена и в целом на гетероцикл не превышает 0.04.

5. Выдвинуто предположение, что искажение геометрии и симметрии распределения заряда в перхлорат-анионе при солеобразовании с селенорганическим катионом может иметь следствием более высокую биологическую активность перхлорат-аниона в соли 2,4-дифенил-7,8-бензо-5,6-дигидроселенохромилия по сравнению с чисто ионно построенными неорганическими перхлоратами.

6. Изучено взаимодействие ряда селенорганических и модельных соединений с ДФПГ. Показано, что диацетофенонилселенид почти не ингибирует ДФПГ. Уровень ингибирования наиболее высок в случае 2-(4-бромфенил)-4-фенил-7,8-бензо-5,6-дигидро-4*H*-селенохромена и особенно перхлората 2,4-дифенил-7,8-бензо-5,6-дигидроселенохромилия. Для соли значительная степень ингибирования может быть связана с активацией мети-

леновых групп в элементоорганическом катионе за счёт приобретения гетерольцом положительного заряда.

7. В смеси селенорганического (дигидроселенохромены, соль дигидроселенохромилия) или модельного соединения с тиобарбитуровой кислотой не образуются продукты, имеющие полосы поглощения в видимой области спектра.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Сибгатуллина Г.В., Хаертдинова Л.Р., Гумерова Е.А., Акулов А.Н., Костюкова Ю.А., Никонорова Н.А., Румянцева Н.И. Методы определения редокс-статуса культивируемых клеток растений. Казань: Казанск. (При-волжский) Федеральный ун-т, Биолого-почвенный ф-т, кафедра генетики, 2011. 61 с.

2. Гордон А., Форд Р. Спутник химика. Физико-химические свойства, методики, библиография. Пер. с англ. Е.Л. Розенберга, С.И. Коппель. М.: Мир, 1976. 543 с.

3. Tsivileva O.M., Loshchinina E.A., Pankratov A.N., Burashnikova M.M., Yurasov N.A., Bylinkina N.N., Kazarinov I.A., Nikitina V.E. Biodegradation of an Organoselenium Compound to Elemental Selenium by *Lentinula edodes* (Shiitake) Mushroom // Biological Trace Element Research. 2012. Vol. 149, № 1. P. 97-101.

4. Панкратов А.Н., Лощинина Е.А., Цивилева О.М., Бурашникова М.М., Казаринов И.А., Былинкина Н.Н., Никитина В.Е. Ростовые и метаболические эффекты ксенобиотической органической формы селена в культуре базидиомицета *Lentinula edodes* // Изв. Саратовск. ун-та. Новая серия. 2012. Т. 12. Серия: Химия. Биология. Экология. Вып. 1. С. 11-17.