

## Биомолекулярное моделирование редокс-процессов с участием комплексов металлов

Е. Р. Милаева

*ЕЛЕНА РУДОЛЬФОВНА МИЛАЕВА — доктор химических наук, профессор (Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова). Область научных интересов: металлоорганическая химия, биомолекулярная химия, химия свободных радикалов.*

119992 Москва, Ленинские горы, МГУ, Химический факультет, тел. (095) 939-38-64, факс (095) 939-55-46, E-mail milaeva@org.chem.msu.ru

### Введение

Бионеорганическая химия — интенсивно развиваемая дисциплина в современной химической науке. Исследования в этой области связаны с тремя основными направлениями: медицинской химией, биометикой и биомолекулярной химией.

Задачи *медицинской химии* — синтез комплексов металлов и металлоорганических соединений, обладающих фармакологической активностью, и установление закономерностей «структура—биологическая активность».

*Биомиметическая химия* создает и изучает структурные аналоги активных центров металлоферментов и осуществляет родственные (по задачам и объектам) исследования в области бионеорганической энзимологии.

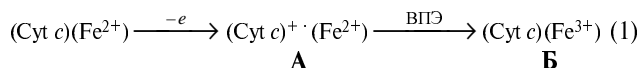
*Биомолекулярная химия* подразумевает изучение биохимических функций металлов с точки зрения их химической реакционной способности, исследование модельных биохимических реакций с участием металлов и их соединений и установление механизмов взаимодействия ионов металлов, металлоорганических и координационных соединений с биологическими субстратами. Основное внимание исследователей направлено на установление механизмов образования и разрыва связей иона металла с координированными группами биологических субстратов.

### Редокс-превращения комплексов металлов в биохимических процессах

Значительное число работ в этой области бионеорганической химии посвящено окислительно-восстановительным процессам из-за широкого распространения биохимических редокс-реакций металлов и их комплексов. При этом в большинстве случаев ключевая роль отводится иону металла, меняющему степень окисления в результате переноса одного или нескольких электронов или участия в окислительных процессах. Однако не менее важным представляется маршрут реакции, затрагивающий органическое лигандное окружение и включающий образование интермедиатов радикальной природы. Для первой стадии таких процессов характерно образование заряженных или нейтральных парамагнитных частиц с неспаренным электроном, локализованным в органической части молекулы. Дальнейшее химическое событие при

функционировании биологических редокс-систем — внутримолекулярный перенос электрона (ВПЭ) по внутрисферному механизму, приводящий к изменению степени окисления иона металла.

Вопрос о ВПЭ в природных цитохромах обсуждался Д. Дольфиним еще в семидесятых годах при изучении синтетических модельных порфиринов [1]. При этом утверждалось, что изменение степени окисления иона железа, пространственно недоступного для непосредственной атаки редокс-реагента, может осуществляться только по внутримолекулярному механизму с вовлечением на первой стадии органического лиганда.



Структуры **А** и **Б** являются не резонансными формами, а независимыми изоэлектронными системами, энергетический барьер взаимного перехода которых определяется конформационными изменениями лиганда, либо электронными изменениями в координационном узле.

В настоящее время внутримолекулярный транспорт электрона подробно изучен для многокомпонентных биологических структур [2–4]. Межмолекулярному (внешнесферному) и внутримолекулярному (внутрисферному) транспорту электрона в комплексах металлов также уделяется все больше внимания [5, 6]. В значительной степени это связано с развитием бионеорганической и биомолекулярной химии, в которых такие процессы используются для молекулярного конструирования моделей биологических систем.

С этой точки зрения интерес представляют соединения с двумя и более редокс-активными центрами, между которыми возможно эффективное электронное взаимодействие в системе лиганд—металл. Для исследования таких биомолекулярных моделей в условиях реальных химических процессов важны системы, которые можно использовать в виде термодинамически устойчивых в обычных условиях реагентов или катализаторов, подвергающихся обратной химической трансформации с образованием радикальных интермедиатов. Результат таких превращений — внутримолекулярная перестройка электронной системы комплексов (рис. 1). При этом функциональная группа, расположенная на периферии органического лиганда и пространственно доступная для атаки реагента, участвует в первом акте переноса электрона, в результате

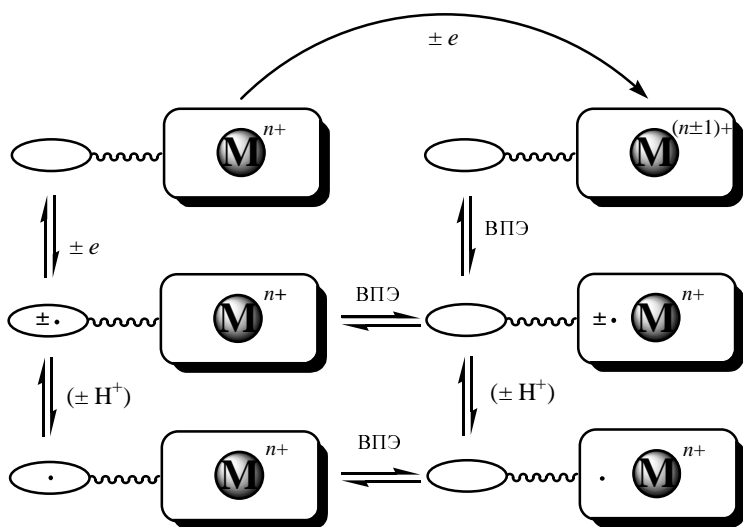


Рис. 1. Функционирование редокс-системы комплекса металла, при которой образуются ион-радикальные или радикальные формы лиганда, а затем осуществляется внутримолекулярный перенос электрона (ВПЭ) на ион металла

чего образуются ион-радикальные частицы с преимущественной локализацией неспаренного электрона в молекулярном фрагменте этой группы. Затем по системе связей функциональной группы с ближайшим лигандным окружением электрон переносится на органический фрагмент координационного узла (или в обратном направлении). В результате осуществляется транспорт электрона на ион металла. Подобные биохимические процессы, как правило, сопровождаются также транспортом атома водорода, протона или гидрид-иона [2].

Нейтральные радикалы фенок- сильного типа (схема 1) образуются, например, из остатка тирозина в процессе двухэлектронного восстановления пероксида водорода с участием метгемоглобина [7].

Метастабильные протеин-центрированные радикалы возникают также при окислении остатков триптофана и цистеина в белковой части метгемоглобина [8].

В данном обзоре приводятся данные, полученные нами при исследовании модельных редокс-реакций комплексов металлов, в которых образуются относительно стабильные парамагнитные продукты (схема 2).

Для структурного конструирования модельных соединений выбраны синтезированные в наших ранних работах комплексы металлов, содержащие 2,6-диалкилфенолы (образующие при окислении стабильные феноксильные радикалы) в качестве специфических групп, введенных в лигандное окружение металла [9, 10].

В ряду металлоорганических и координационных соединений с фенольными группами наибольший интерес представляют комплексы с макроциклическими лигандами — структурными аналогами редокс-активных биологических систем. В связи с этим исследованы модельные реакции для серии соединений — комплексов металлов на основе салицилальдимина- тов (SalM), диоксиматов (DM), фталоцианинов (PcM), а также пор- порфиринов (PM), содержащих

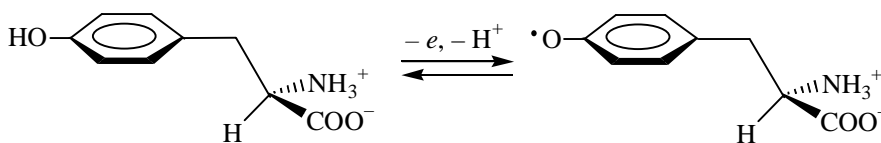


Схема 1

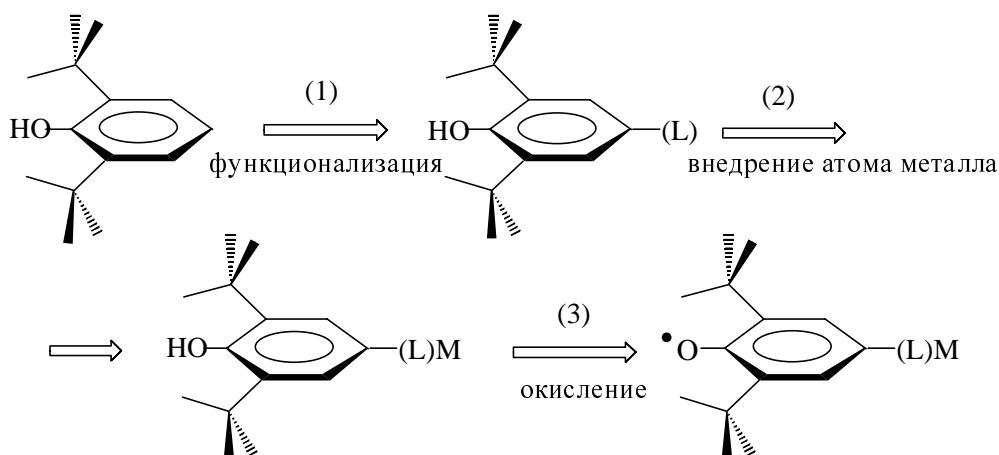
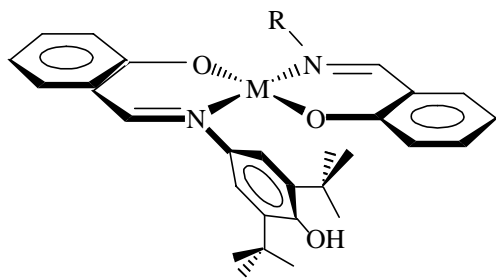
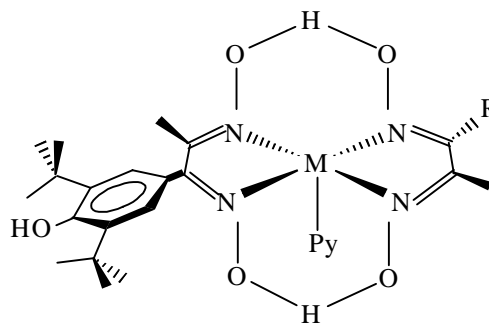


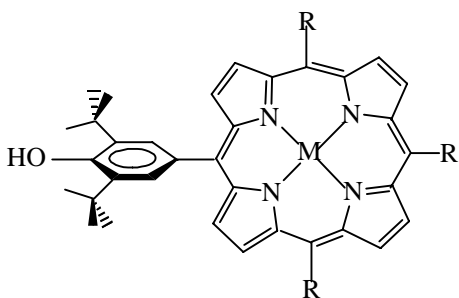
Схема 2



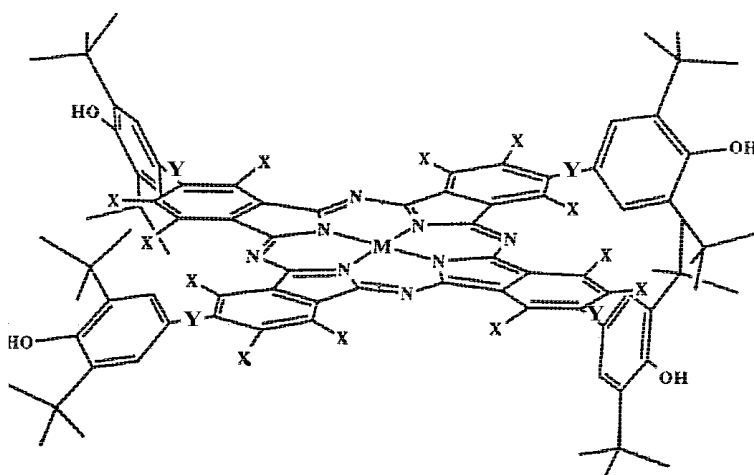
$R_2SalM$ ;  $M = Zn, Co$



$R_2DM$ ;  $M = Co, Ni$



$R_4PM$ ;  $M = Zn, Co, Fe, Ni, Pd, Pt$



$R_4PcM$ ;  $M = Zn, Co, Fe, Ni, Pd, Pt$

$R = 3,5$ -ди-*трет*-бутил-4-гидроксифенил

Схема 3

замещенные фенильные группы  $R$ :  $R_2SalM$ ,  $R_2DM$ ,  $R_4PcM$ ,  $R_4PM$ , где  $R = 3,5$ -ди-*трет*-бутил-4-гидроксифенил (схема 3).

Изучение биохимических функций комплексов металлов с точки зрения их химической реакционной способности основано в большинстве работ на принципах координационной химии, применяемых для исследований в бионеорганической химии, и на определяющей роли металла. Обсуждаются следующие характеристики и свойства иона металла как координационного центра: способность к координации, геометрия, степень окисления (редокс-форма), редокс-потенциалы, магнитные свойства, стабильность интермедиатов.

Рассмотрению биомолекулярных моделей с применением принципов органической химии для исследований в бионеорганической химии уделяется существенно меньше внимания. Однако для оценки роли органического лиганда и возможности его участия в окислительно-восстановительных превращениях комплексов металлов следует анализировать те же самые характеристики.

Такой подход мы применили в исследованиях и положили в основу настоящего обобщающего обзора полученных данных.

### Типы биохимических реакций, катализируемых оксидоредуктазами

Главная функция комплексов металлов в живой клетке — поглощение, накопление и транспорт электронов и кислорода. Металлы могут входить в состав активных центров ферментов или кофакторов. Ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции, относятся к классу оксидоредуктаз [12]. Окисление субстратов может происходить с участием  $O_2$ , в этом случае атомы кислорода внедряются в молекулу субстрата при действии монооксигеназ и диоксигеназ, либо не внедряются в субстрат при действии оксидаз. Окисление субстратов может проходить и без участия  $O_2$ , в этом случае идут реакции гидрирования и дегидрирования при действии редуктаз и дегидрогеназ соответственно, или осуществляется перенос электрона при действии цитохромов [13]. Но в каждом случае катализатор или переносит электроны, образуя на первой стадии соответствующие промежуточные редокс-формы, или активирует кислород.

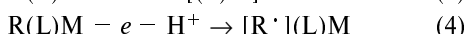
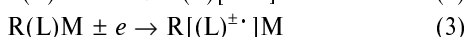
Участие молекулярного кислорода в биохимических процессах в условиях аэробного метаболизма сопровождается, однако, генерированием активных метаболитов кислорода ( $O_2^{\cdot-}$ ,  $O_2^{2\cdot-}$ ,  $O_2^1$ ,  $O_2^-$ ,  $OH^{\cdot}$ ,  $H_2O_2$ ,  $HO_2^{\cdot}$ ), которые в большинстве случаев являют-

ся активными радикальными частицами и индуцируют окислительный стресс организма [14, 15]. При этом важную роль играет антиокислительная защитная система, состоящая из низкомолекулярных антиоксидантов (например, аскорбиновая кислота,  $\alpha$ -токоферол, глутатион, кофермент Q) и ферментных систем, осуществляющих трансформацию этих реакционноспособных частиц в менее активные (например, супероксид дисмутаза, каталаза, глутатионредуктаза и др.) [15, 16]. Действие тех или иных участников защитной системы включает образование радикальных интермедиатов [17].

Участие комплексов металлов, содержащих легко окисляющиеся фенольные группы (схема 3), в различных окислительно-восстановительных процессах изучали с учетом перечисленных выше основных типов реакций, катализируемых металлоферментами. Кроме того, была рассмотрена их роль в окислительной деструкции липидов при окислительном стрессе.

#### Участие комплексов металлов с фенольными группами в окислительно-восстановительных процессах

Комплексы металлов общей формулы R(L)M, содержащие группы 2,6-ди-*трет*-бутилфенола как фрагменты лигандов, имеют в своих молекулах несколько реакционных центров: фенольную группу R, основной лиганд L и ион металла M. Детальное исследование их окислительно-восстановительных свойств показало, что направление атаки редокс-реактанта и маршрут реакции, включающей одноэлектронное окисление или восстановление, определяются несколькими факторами: 1) природой иона металла; 2) типом связи металл—лиганд; 3) природой реактанта; 4) средой [9—11]. Регулирование процесса требует подбора различных условий приводит либо к изменению степени окисления металла M, либо к образованию ион-радикальных форм лиганда L или к генерированию феноксильных радикалов на периферии органического лиганда R' (уравнения 2—4).



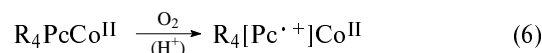
В подавляющем большинстве случаев все образующиеся редокс-формы стабильны и регистрируются физико-химическими методами. Важный фактор существенного повышения устойчивости радикальных частиц органической природы — их координация с ионом металла.

#### Взаимодействие с молекулярным кислородом

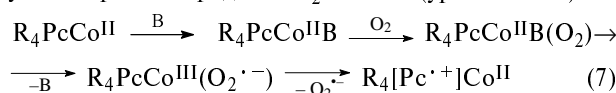
На примере фталоцианина кобальта ( $R_4PcCo^{II}$ ) показано, что молекулярный кислород может быть окислителем по отношению к фенольному заместителю, макрокольцу фталоцианина и иону металла [18, 19]. Маршрут реакции определяется средой. В щелочной среде окисляется периферийный фенольный фрагмент с образованием соответствующего феноксильного радикала  $R^{\cdot}$ , спектр ЭПР которого представляет собой триплет с  $g$ -фактором равным 2,005 (уравнение 5).



В кислой и нейтральной средах в некоординирующем растворителе  $O_2$  выступает как одноэлектронный окислитель по отношению к макроциклическому лиганду. В результате образуется его катион-радикальная форма L (уравнение 6), для которой характерен слабо разрешенный синглет в спектре ЭПР с  $g$ -фактором, равным 2,003.

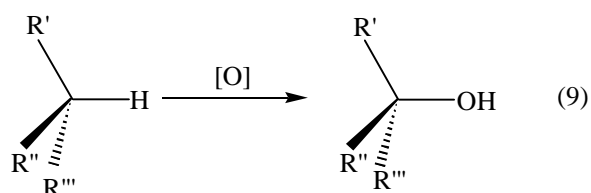
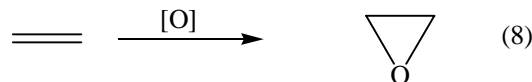


В присутствии основания В образуется супероксокомплекс с анизотропным сигналом в спектре ЭПР ( $g_{\perp} = 1,983$ ,  $g_{\parallel} = 1,973$ ,  $B = Py$ ). В этом комплексе реализуется перенос заряда на  $O_2$  и ВПЭ (уравнение 7):

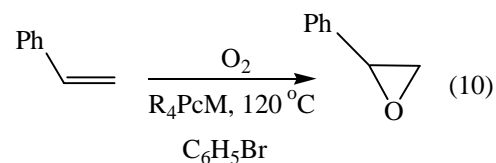


#### Оксигенирование и гидрокселирование субстратов (окисление)

Способность комплексов металлов активировать молекулярный кислород дает возможность окислять органические субстраты по механизму присоединения атома кислорода, например, по двойной C=C связи (оксигенирование) (уравнение 8) или внедрения по связи C—H (гидрокселирование) (уравнение 9):



На примере оксигенирования стирола ( $PhCH=CH_2$ ) в присутствии фталоцианинов  $R_4PcM$  ( $M = Fe, Co, Cu$ ) в условиях гомогенного катализа (уравнение 10) показано [20], что значения начальных скоростей эпоксицирования субстрата зависят от природы металла в  $R_4PcM$ .



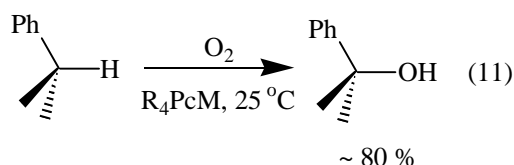
В отличие от комплексов железа и кобальта фталоцианин меди проявляет свойства ингибитора из-за активности фенольных групп. Однако при активации реакции пероксильными радикалами, обеспечивающими быстрое окисление фенольных фрагментов, кинетические параметры меняются, и начальные скорости реакции  $W_0 \cdot 10^4$  (моль  $\cdot$  л $^{-1} \cdot$  с $^{-1}$ ) возрастают в ряду: 1,8 (Cu); 4,2 (Co); 4,2 (Fe). Таким образом, фенольные группы осуществляют защитную функцию в каталитической системе по отношению к присутствующим в среде реакционноспособным частицам.

Активация C—H-связей при гидрокселировании кумола [ $PhCH(CH_3)_2$ ], этилбензола ( $PhCH_2CH_3$ ) и циклогексана ( $C_6H_{12}$ ) молекулярным  $O_2$  в присутствии

$R_4PcFe$  характеризуется резким падением значений начальных скоростей реакции для ряда данных субстратов:  $W_0 \cdot 10^4$ , моль  $\cdot$  л $^{-1} \cdot$  с $^{-1}$  составляют 1,3 (Cu); 0,01 (Co); 0,007 (Fe), соответственно [21].

Присутствие в реакционной среде активных алкильных, алкоксильных и пероксильных радикалов определяет отрыв атома водорода от фенольных групп и генерирование феноксильных радикалов на периферии макрокольца комплексов. Известно, что образование, например, соответствующих тирозину феноксильных радикалов в белковой части миоглобина может сопровождаться внутримолекулярной перестройкой электронной системы, приводящей к катион-радикалу порфиринового кольца [22]. Следствием таких трансформаций является индуцированное миоглобином дальнейшее повреждение белка.

Сопоставление активности комплексов  $R_4PcM$  ( $M = Fe, Co, Cu$ ) при окислении кумола, приводящем к 2-фенилпропанолу-2 (уравнение 11), также подтверждает существенный вклад радикальных реакций по периферийным заместителям в макрокольце.

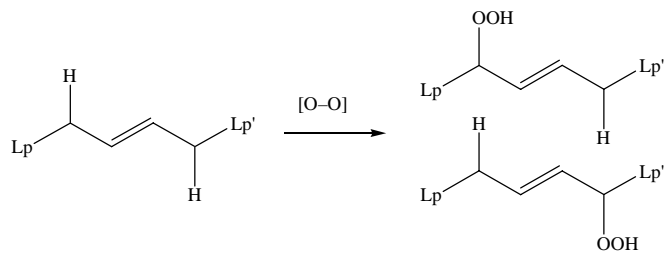


Константы начальных скоростей окисления кумола  $W_0 \cdot 10^3$ , моль  $\cdot$  л $^{-1} \cdot$  с $^{-1}$  уменьшаются в ряду 2,3 (Fe); 1,3 (Co); 0,17 (Cu). Для комплекса меди характерен отрыв атома водорода от фенольных групп, что обуславливает преобладающее ингибирующее действие и, следовательно, снижение каталитического эффекта приблизительно на порядок.

Реакция проходит как цепной радикальный процесс окисления субстрата  $R'H$ . При этом из соответствующих пероксильных радикалов образуются гидропероксиды кумола  $R'OON$ , и роль каталитической системы состоит также в каталитическом распаде гидропероксидов. Специальное исследование взаимодействия свободных радикалов с фталоцианином кобальта ( $R_4PcCo$ ) в процессе каталитического распада гидропероксида кумола методом ЭПР показало [23], что в зависимости от соотношения  $R'OON : R_4PcCo$  в реакционной среде возникают различные интермедиаты. Так, при соотношении 1 : 1 регистрируется спектр феноксильного радикала  $(R')R_3PcCo$  ( $g = 2,005$ ;  $a_H = 0,2$  мТл); при соотношении 4 : 1 — анизотропный сигнал комплекса  $[(R'OO\cdot)CoPcR_4]$  ( $g_{\perp} = 2,017$ ;  $g_{\parallel} = 2,001$ ); при высокой концентрации пероксильного радикала (соотношение 100 : 1) при 77 К возникает анизотропный сигнал  $R'OO\cdot$  ( $g_{\perp} = 2,011$ ;  $g_{\parallel} = 2,0036$ ).

#### Пероксидное окисление (оксигенирование липидов)

Пероксидное окисление биологических субстратов представляет собой каскад цепных радикальных реакций, которые начинаются с гомолитического разрыва  $C-H$ -связей и приводят к образованию гидропероксидов [24]. Последние претерпевают окислительное расщепление, включающее и разрыв  $C-C$ -связей, конечными продуктами которого являются спирты и карбонильные соединения [25]. Главные мишени действия кислорода



Lp, Lp' — фрагменты липида

Схема 4

при окислительной деградации — насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты липидов (схема 4) [26]. Например, в процессе биотрансформации арахидоновой кислоты, проходящей при участии липоксигеназы, образуются важные медиаторы — эйкозаноиды [27].

Пероксидное окисление липидов — нормальный метаболический процесс, патологическим он становится при значительном возрастании его уровня, что вызывает окислительный стресс организма [28].

Металлы и их соединения играют критическую роль в процессе пероксидного окисления липидов. Хорошо известно, что ионы переходных металлов (Fe, Co и др.) являются эффективными инициаторами цепных радикальных процессов окисления жирных кислот липидов [29]. В последние годы получены данные о том, что аккумуляция в организме соединений непереходных элементов — тяжелых металлов (Pb, Sn и Hg), приводит к снижению содержания общих липидов в органах и тканях. Так, следствием накопления оксида трибутилолова организмом является резкое снижение уровня ненасыщенных жирных кислот [30]. В цикле исследований биомолекулярных механизмов действия металлоорганических соединений было доказано, что липофильные органические производные Sn и Hg промотируют пероксидное окисление липидов не только за счет действия металла, но и вследствие гомолитического разрыва связи  $C-M$  и образования инициаторов — свободных органических радикалов [31].

В ряду комплексов металлов особую роль играют порфирины (PM), действие которых на липидный бислой клеточных мембран неоднозначно. С одной стороны, PM проявляют свойства эффективных катализаторов окисления [32], с другой стороны, порфирины входят в состав биосистем антиоксидантной защиты [33–35], и, наконец, они являются прооксидантами в индуцированном ионами железа пероксидном окислении липидов [36]. Данные клинических экспериментов свидетельствуют также о возможности применения порфиринов в качестве фармакологических препаратов в лечении заболеваний, связанных с развитием окислительного стресса, индуцированного накоплением активных метаболитов кислорода [37]. Участие миоглобина  $[Fe^{III}Mb]$  в процессах окисления органических субстратов пероксидом водорода сопровождается генерированием окисленной формы катализатора  $[\cdot MbFe^{IV}=O]$  с локализованным на лиганде неспаренным электроном [38].

Активность PM напрямую зависит от природы иона металла и групп на периферии макролиганда. Исследования влияния салицилальдиминатов  $R_2SalM$  и порфиринов металлов  $R_4PM$  на пероксидное окисле-

Таблица 1

Константы начальных скоростей накопления гидропероксидов олеиновой кислоты ( $k_i$ ) при окислении олеиновой кислоты кислородом в присутствии порфиринов.

R = 3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксифенил;  
65 °С, концентрация добавок 1 мМ

Соединение	$k_i \cdot 10^4 \text{с}^{-1}$	$k_i/k_0^*$
без добавок	$2,74 \pm 0,04$	1
2,6-ди- <i>трет</i> -бутилфенол	$2,29 \pm 0,01$	0,83
2,6-ди- <i>трет</i> -бутилфенол**	$1,38 \pm 0,03$	0,50
R <sub>4</sub> PH <sub>2</sub>	$1,37 \pm 0,01$	0,49
R <sub>4</sub> PCo	$3,13 \pm 0,01$	1,14
R <sub>4</sub> PNi	$1,19 \pm 0,04$	0,43
R <sub>4</sub> PCu	$1,17 \pm 0,05$	0,42
R <sub>4</sub> PPt	$1,21 \pm 0,04$	0,44
R <sub>4</sub> PFe***	$0,84 \pm 0,07$	0,31
Ph <sub>4</sub> PH <sub>2</sub>	$2,81 \pm 0,02$	1,03
Ph <sub>4</sub> PCo	$3,80 \pm 0,02$	1,39
Ph <sub>4</sub> PNi	$2,58 \pm 0,02$	0,97
Ph <sub>4</sub> PCu	$2,65 \pm 0,07$	0,97
Ph <sub>4</sub> PPt	$2,61 \pm 0,01$	0,95
Ph <sub>4</sub> PFe***	$3,91 \pm 0,82$	1,43

\*  $k_i/k_0$  — отношение константы скорости накопления R'OOH в присутствии данного соединения к константе скорости в отсутствие добавок; при  $k_i/k_0 > 1$  добавка инициирует окисление, при  $k_i/k_0 < 1$  вещество является антиоксидантом;

\*\* концентрация добавки 4 мМ; \*\*\* начальные 5 ч

ние структурных фрагментов липидов [(Z)-9-октадеценовой, 18:1(Δ9) (олеиновой) кислоты] показало, что в зависимости от природы металла активность комплексов меняется от инициирующей (прооксиданты) до ингибирующей (антиоксиданты). В таблице 1 приведены сравнительные данные, полученные для серии порфиринов с фенольными группами R<sub>4</sub>PM и аналогичных комплексов тетрафенилпорфиринов Ph<sub>4</sub>PM, при накоплении гидропероксидов R'OOH в процессе окисления олеиновой кислоты молекулярным кислородом [39].

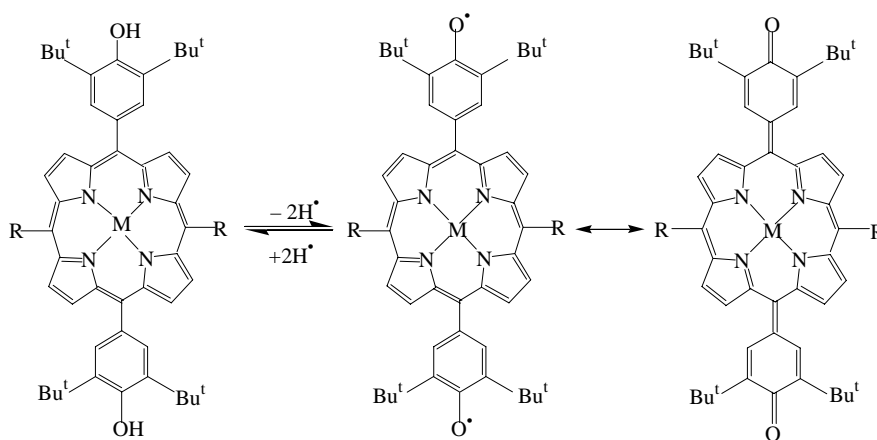
Очевидно, что свободное основание порфирина с фенольными группами является эффективным антиоксидантом, в то время как тетрафенилпорфирин практически не влияет на процесс. Действительно, при окислении порфирина R<sub>4</sub>PH<sub>2</sub>, содержащего четыре фенольные группы, образуется относительно стабильный бирадикал [40], который превращается в производное порфодиметендихинометида, дальнейшее окисление которого приводит к образованию конечного продукта — мезо-тетракис(3,5-ди-*трет*-бутил-4-хинометид)порфириногена (схема 5). Стадии окис-

ления обратимы и производные порфодиметендихинометида и порфириногена легко восстанавливаются до исходного порфирина.

Кинетические кривые накопления R'OOH в присутствии тетрафенилпорфиринов Ni, Cu и Pt свидетельствуют о том, что данные соединения не оказывают существенного влияния на окисление олеиновой кислоты. Однако некоторое уменьшение концентрации R'OOH после 5 ч проведения реакции может быть объяснено разрушением гидропероксидов под действием иона металла в макроцикле. С другой стороны, фенолсодержащие порфирины Ni, Cu и Pt являются антиоксидантами, эффект действия которых превышает таковой для 2,6-ди-*трет*-бутилфенола и фенолсодержащего свободного основания порфирина. Такой результат может быть связан со стабилизацией системы порфирина и порфодихинометена в присутствии атома металла в условиях окисления. Введение редокс-активного иона металла в макрокольцо приводит к изменению эффекта данных соединений при окислении олеиновой кислоты на инициирующий, что проявляется в резком увеличении концентрации гидропероксидов R'OOH по сравнению с контрольным экспериментом в присутствии порфиринов Co (табл. 1).

Необычный результат получен при изучении активности порфиринов железа (рис. 2) [41]. Тетрафенилпорфирин железа Ph<sub>4</sub>PFe проявляет свойства типичного инициатора. Эффект действия порфирина R<sub>4</sub>PFe, содержащего фенольные группы, оказывается двойственным. В первые часы выдерживания реакционной смеси данное соединение выступает как антиоксидант (рис. 2а), что свидетельствует об участии в процессе антиоксидантной части молекулы — 2,6-ди-*трет*-бутилфенольных групп и об их окислении до хиноидных форм. Однако при длительном выдерживании смеси (рис. 2б) R<sub>4</sub>PFe ускоряет процесс, что свидетельствует об участии порфирина Fe, как активного центра в образовавшемся порфодиметене. При этом кинетические данные показывают, что действие Ph<sub>4</sub>PFe и R<sub>4</sub>PFe практически совпадает.

Большой интерес представляют агенты, содержащие в составе молекул биологически активные группы. К таким соединениям относятся, в частности,



R = 3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксифенил

Схема 5

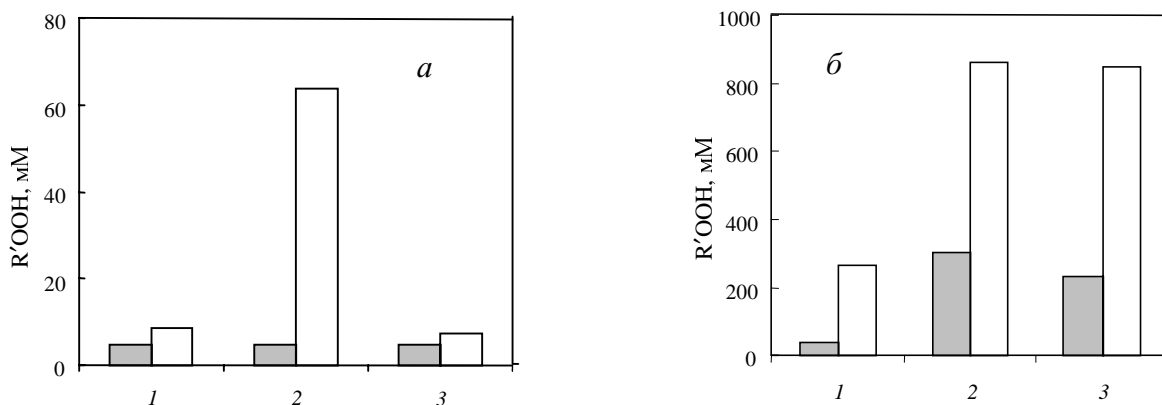


Рис. 2. Концентрации R'OOH при окислении олеиновой кислоты O<sub>2</sub> в присутствии замещенных порфиринов (65 °С):

1 — без добавок; 2 — в присутствии Ph<sub>4</sub>PFe; 3 — в присутствии R<sub>4</sub>PFe; а — начальный период (■ — 1 ч, □ — 5 ч); б — выдержанная во времени реакционная смесь (■ — (24 + 1) ч, □ — (24 + 5) ч

салицилальдиминаты. Эти соединения обладают липофильными свойствами, содержат функциональные органические группы, «родственные» организму, могут участвовать в метаболических превращениях и выводиться из организма. Активность салицилальдиминатов цинка R<sub>2</sub>SalZn и кобальта R<sub>2</sub>SalCo, а также исходного лиганда RSalH, содержащих 2,6-ди-*трет*-бутилфенольный фрагмент подчиняется той же закономерности (рис. 3) [41].

Как видно из рис. 3, в присутствии R<sub>2</sub>SalH<sub>2</sub> ( $k_i \cdot 10^4 c^{-1} = 0,37 \pm 0,07$ ;  $k_i/k_o = 0,14$ ) и R<sub>2</sub>SalZn ( $k_i \cdot 10^4 c^{-1} = 0,31 \pm 0,03$ ;  $k_i/k_o = 0,11$ ) наблюдается заметное снижение скорости накопления гидропероксидов, и эти соединения ведут себя как антиоксиданты, эффект действия которых превышает ингибирующий эффект 2,6-ди-*трет*-бутилфенола ( $k_i \cdot 10^4 c^{-1} = 2,29 \pm 0,09$ ;  $k_i/k_o = 0,83$ ). Это связано с повышением устойчивости образующихся феноксильных радикалов за счет участия спиновой плотности неспаренного электрона в общей сопряженной системе молекулы.

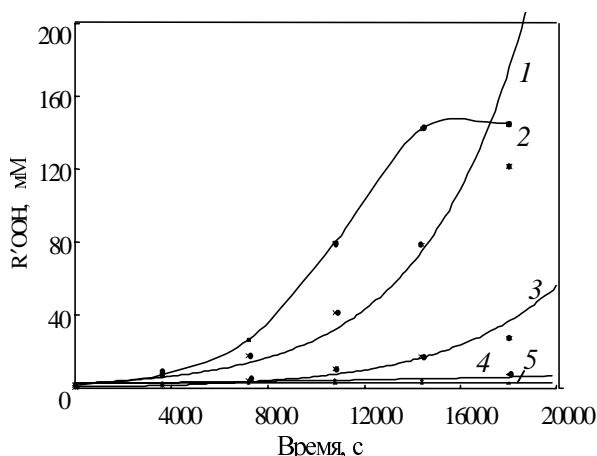


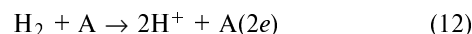
Рис. 3. Кинетические кривые накопления R'OOH при окислении олеиновой кислоты кислородом:

1 — без добавок; в присутствии: 2 — R<sub>2</sub>SalCo; 3 — 2,6-ди-*трет*-бутилфенола; 4 — RSalZn; 5 — R<sub>2</sub>SalZn (65 °С, концентрация добавок  $1 \cdot 10^{-3}$  моль · л<sup>-1</sup>)

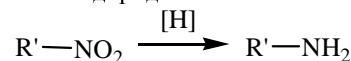
Иная картина наблюдается в случае R<sub>2</sub>SalCo ( $k_i \cdot 10^4 c^{-1} = 3,80 \pm 0,24$ ;  $k_i/k_o = 1,39$ ). Добавка комплекса кобальта приводит на начальном этапе окисления олеиновой кислоты к увеличению скорости реакции. Однако при более глубоком протекании процесса скорость образования ROOH становится сопоставимой со скоростью их распада, и кривая приобретает S-образный характер. Из полученных данных следует, что данный комплекс проявляет свойства прооксиданта и приводит к увеличению скорости реакции. В данном случае наблюдается конкуренция между влиянием антиоксидантного фрагмента и иона Co<sup>II</sup>, наличие которого, как известно, приводит к активации O<sub>2</sub> или субстрата и приводит к ускорению процесса окисления [42]. Эти данные могут быть использованы при прогнозировании возможного эффекта действия данных соединений на процесс пероксидного окисления липидов в биомембранах клеток.

**Гидрирование субстратов (восстановление)**

Гидрогеназная реакция означает перенос водорода в виде протона на субстрат при каталитическом содействии фермента как акцептора (А) (уравнение 12) [2]:



Редокс-переходы А обратимы, поэтому фактически акцептор электронов играет роль медиатора, переносящего электроны на субстрат. Классическим примером каталитической гидрогенизации органических субстратов является восстановление нитроароматических соединений водородом:



Спектральные и кинетические исследования гомогенной каталитической системы R<sub>4</sub>PcM (M = Co, Ni, Pd, Pt), эффективность которой определяется степенью конверсии субстрата и соотношением образовавшихся продуктов восстановления субстратов, показали [43, 44], что механизм действия катализатора заключается в переносе электрона либо только на макрокольцо лиганда (M = Ni, Pd, Pt) либо на ион металла и макрокольцо лиганда (M = Co) (табл. 2). В условиях проведения реакции участие в процессе фенольных групп (образование феноксильных радикалов) пред-

Таблица 2

Конверсия субстратов и выходы продуктов при каталитическом гидрировании нитроароматических соединений  $\text{NaBH}_4$  в присутствии  $\text{R}_4\text{PcNi}$  и  $\text{R}_4\text{PcCo}$ .

Этанол-ТГФ (1:1), 50 °С, соотношение катализатор : субстрат составляет 1 : 50; время реакции 5 ч

Субстрат $\text{R}'\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$ , $\text{R}'$	$\text{R}_4\text{PcM}$ , $\text{M}$	Конверсия, %	Выходы продуктов, %*		
			анилин	азосоединение	азоксисоединение
H	Ni	80,4	21,3	4,9	42,8
	Co	58,3	4,1	7,0	33,4
<i>n</i> -Cl	Ni	73,4	12,5	9,9	62,5
	Co	97,3	27,9	20,0	34,3
<i>m</i> -Cl	Ni	99,4	49,8	25,5	19,9
	Co	99,0	21,2	22,6	28,3
<i>n</i> - $\text{CH}_3$	Ni	70,1	26,7	4,5	33,9
	Co	88,4	49,2	7,2	19,2
<i>n</i> - $\text{C}_2\text{H}_5$	Ni	52,6	35,2	7,0	21,8
	Co	73,7	60,9	5,7	12,5
<i>n</i> - $\text{C}_6\text{H}_{11}$ -цикло	Ni	76,0	48,0	16,5	12,2
	Co	88,0	58,2	13,8	16,8

\* Выходы приводятся по данным анализа реакционных смесей методом ГЖХ

ставляется маловероятной либо неконтролируемой, поскольку в присутствии восстановителя скорость обратной реакции (образование фенолов из радикальных продуктов) будет крайне высока. В этой связи возникновение различных промежуточных форм катализаторов (а следовательно, и промежуточных форм субстратов) действительно ограничивается вовлечением фталоцианинового макрокольца и иона металла в редокс-процесс.

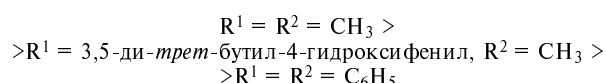
Общая схема каталитического процесса может быть описана в рамках внешнесферного транспорта электрона от предварительно восстановленного катализатора к субстрату, восстановленная форма которого (анион-радикал или дианион) в свою очередь подвергается гидрированию, и степень восстановления субстрата находится в прямой зависимости от степени восстановления катализатора.

**Метилирование ( $\text{C}_1$  перенос)**

Корриновый комплекс кобальта входит в состав кофермента кобаламина — витамина  $\text{B}_{12}$  [12]. Его метильное производное является алкилирующим агентом по отношению к ионам металлов, осуществляя перенос  $\text{CH}_3$ -группы ( $\text{C}_1$  перенос) в реакциях биохимического алкилирования [45] (схема 6). Эта реакция проходит как редокс-процесс, в котором ион кобальта меняет степень окисления.

В качестве моделей для изучения данных реакций используются диоксиматные комплексы кобальта — метилкобалоксимы [46]. Введение фенольного фрагмента в диоксиматный комплекс  $\text{R}_2\text{DCo}(\text{CH}_3)$  позволяет генерировать на первой стадии редокс-процесса феноксильный радикал в лиганде, обеспечивая активацию металлоорганического центра в комплексе [47].

Кинетические исследования, проведенные с использованием спектрофотометрического метода, показали, что для диамагнитных замещенных комплексов с пиридином в качестве аксиального лиганда реакция подчиняется общим закономерностям и имеет первый порядок по метилкобалоксиму. Время процесса дезалкилирования определяется электронодонорным характером заместителей в экваториальном лиганде и убывает в ряду:



В отличие от времени самораспада  $\text{R}_2\text{DCo}(\text{CH}_3)(\text{Py})$  (несколько суток) и времени дезалкилирования замещенных комплексов в присутствии ионов металлов по схеме 7 (от 5—20 мин до 10—30 ч) (табл. 3), процесс дезалкилирования парамагнитного метилкобалоксима  $(\text{R}')\text{RGlyCo}(\text{CH}_3)(\text{Py})$  при добавле-

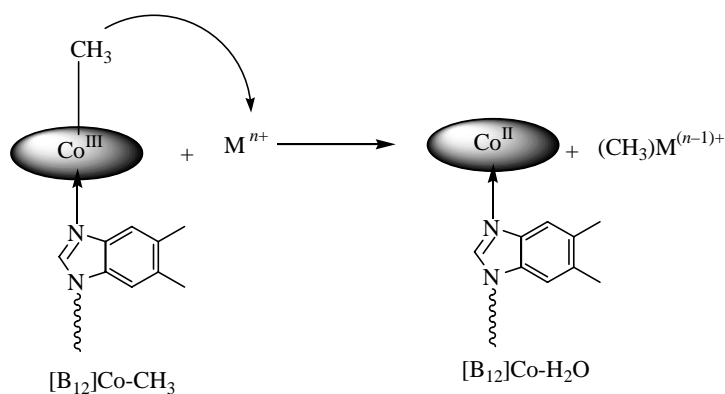


Схема 6



Время деалкилирования метилкобалооксимов RR<sup>I</sup>DCo(CH<sub>3</sub>) в присутствии ионов металлов.

H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>OH 25:1, 20 °C, pH 7,2

RR <sup>I</sup> DCo(CH <sub>3</sub> )		M <sup>IV</sup>		M <sup>II</sup>			
R	R <sup>I</sup>	Pb	Sn	Hg*	Cd	Pb	Hg**
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	2 мин	6 мин	12 мин	14 мин	17 мин	25 мин
3,5-ди- <i>трет</i> -бутил-4-гидроксифенил	CH <sub>3</sub>	13 мин	25 мин	2 ч	3 ч	3,5 ч	4 ч
CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	40 мин	3,5 ч	18 ч	20 ч	32 ч	40 ч

\* Хлорид ртути; \*\* салицилат ртути

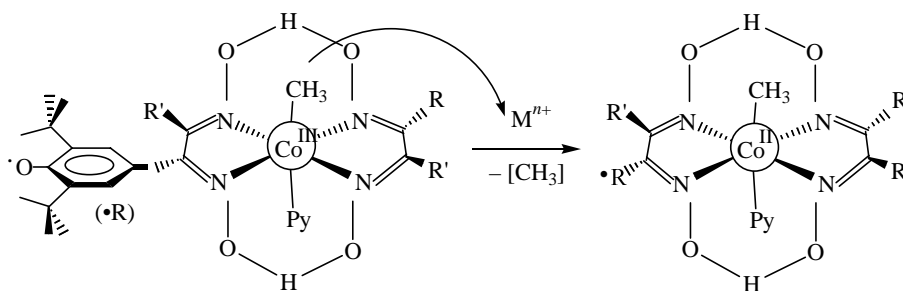


Схема 7

нии соли металла протекает практически мгновенно.

Полученные данные позволяют сделать заключение, что возникающий на периферии неспаренный электрон по системе сопряженных связей лиганда оказывает влияние на ион металла, усиливая донорные свойства экваториального лиганда и облегчая тем самым разрыв Co—C-связи, что соответствует эффекту внутримолекулярной активации (схема 7).

#### Внедрение иона металла

В окислительной среде на периферии кольца порфиринов R<sub>4</sub>PH<sub>2</sub> образуются свободнорадикальные феноксильные группы в соответствии со схемой 5. Такие переходы моделируют редокс-превращения π-радикалов оксофлоринов, образующихся при окислении гидроксипорфиринов [48]. Активационный барьер образования комплексов порфиринов при координации иона металла с порфириновым кольцом существенно понижается при переводе исходных фенолсодержащих порфиринов в парамагнитное состояние (уравнение 13) [9].



При этом парамагнетизм лиганда сохраняется ( $g = 2,004$ ,  $a_H(2H) = 0,18$  мТл), а спектр поглощения, например, комплекса Pb<sup>II</sup>, относится к спектрам гиперпорфиринов *p*-типа и свидетельствует о наличии дополнительных полос разрешенных переходов в области 450 нм, что отвечает спектральным характеристикам моделей цитохрома P<sub>450</sub>.

Эти данные, а также исследование активности свободных оснований порфиринов R<sub>4</sub>PH<sub>2</sub> как антиоксидантов в процессе пероксидного окисления липидов позволили высказать предположение о возможности использования этих соединений как антиокислительных ловушек [49]. Действительно, в то время как хлорид олова оказывает иницирующее действие на окис-

ление олеиновой кислоты [50], добавка R<sub>4</sub>PH<sub>2</sub> не только снижает уровень пероксидного окисления как ингибитор радикального процесса в присутствии R'OO•, но и практически полностью нивелирует действие SnCl<sub>2</sub> за счет образования комплекса R<sub>4</sub>PSn (схема 8) [51]. При этом координация иона металла с макрокольцом сопровождается стабилизацией свободнорадикальной формы лиганда, ответственной за механизм антиоксидантного действия.

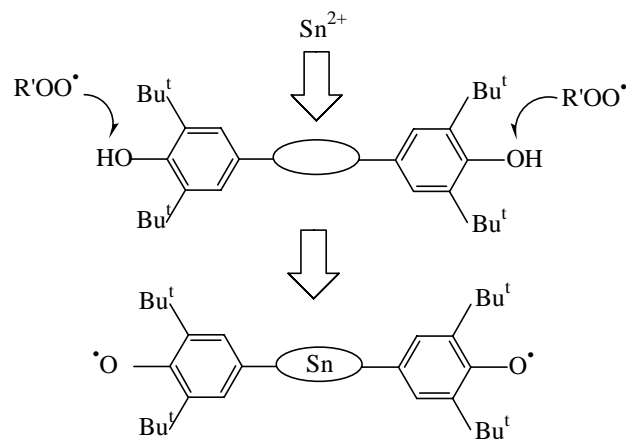


Схема 8

Порфирин R<sub>4</sub>PH<sub>2</sub> является антиокислительной ловушкой и по отношению к металлоорганическому соединению CH<sub>3</sub>HgI (рис. 4) [52].

Поскольку вовлечение метилртутидида в окислительный процесс сопровождается реакциями радикального замещения у атома ртути и выходом в реакцию среду активного метильного радикала [53], порфирин с фенольными группами проявляет двойной эффект — ингибитора и лиганда, связывающего ионы Hg<sup>2+</sup>.

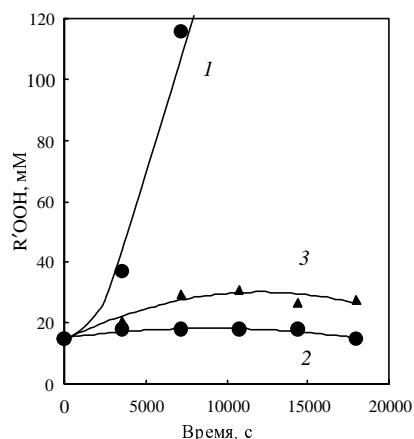


Рис. 4. Кинетические кривые накопления R'OOH при окислении олеиновой кислоты кислородом:

1 — без добавок; в присутствии: 2 — R<sub>4</sub>PH<sub>2</sub>; 3 — эквимолярной смеси R<sub>4</sub>PH<sub>2</sub> и CH<sub>3</sub>HgI (65 °С, концентрация добавок 1 · 10<sup>-3</sup> моль · л<sup>-1</sup>)

### Заключение

Предлагаемый подход к созданию комплексов металлов различного типа с легко окисляющимися органическими группами в лиганде с использованием ресурсов молекулярной химии позволяет, таким образом, детально исследовать окислительно-восстановительные процессы биометалломолекул. С другой стороны, воспроизведение функциональных особенностей сложных биохимических систем, в которых окислительные и радикальных процессы затрагивают белковое окружение металлоферментов или коферментов, может послужить реальной основой использования синтетических биомолекулярных моделей в качестве биологически активных агентов в живой клетке.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 03-03-32938).

### ЛИТЕРАТУРА

- Dolphin D., Felton R.H. Acc. Chem. Res., 1974, v. 7, p. 26.
- Electron and Proton Transfer in Chemistry and Biology. Ed. A. Müller, Amsterdam: Elsevier, 1992.
- Holm R.H., Kennepohl P., Solomon E.J. Chem.Rev., 1996, v. 96, p. 2239.
- Electron Transfer in Inorganic, Organic and Biological Systems. Ed. J.R. Bolton, N. Mataga, G. McLendon. Adv. Chem. Ser., A.C.S., Washington, D.C., 1991, v. 228, p. 1.
- Astruc D. Electron Transfer and Radical Processes in Transition-Metal Chemistry, New York: VCH, 1995, 630 p.
- Hirao T. Coord. Chem. Rev., 2002, v. 226, p. 81.
- Gunter M. In: Free Radical Biol. Med., Serial Review: Protein Radicals in Biological Systems — ESR Spin Trapping and Immuno Spin Trapping Approaches. Ed. B. Kalyanaraman, 2004, v. 36, p. 1345.
- Davies M.J., Gilbert B.C., Haywood R.M. Free Radic. Res. Commun., 1991, v. 15, p. 111.
- Милаева Е.Р. Изв. АН, Сер.хим., 2001, № 4, с. 549.
- Milaeva E., Speier G. As. J. Chem. Rev., 1990, v. 1, p. 159—185.
- Lever A.B.P., Milaeva E., Speier G. In: Phthalocyanines. Properties and Applications. Eds. C.C. Leznoff, A.B.P. Lever, VCH Publ., New York, 1993, v. 3, p. 3.
- Copeland R.A. Enzymes: A Practical Introduction to Structure, Mechanism, and Data Analysis, New York: Wiley-VCH, Inc., 2000, 391 p.

- Webb E.C. Enzyme Nomenclature, San Diego: Academic Press, CA, 1992.
- Schöneich C. Exper. Gerontol., 1999, v. 34, p. 19.
- Mittler R. Trends Plant Sci., 2002, v. 7, p. 405.
- Wang X., Quinn P.J. Progr. Lip. Res., 1999, v. 38, p. 309.
- Chaudiere J., Ferrari-Iliou R. Food Chem. Toxic., 1999, v. 37, p. 949.
- Milaeva E.R., Szeverenyi Z., Simandi L.I. Inorg. Chim. Acta, 1990, v. 167, p. 139.
- Milaeva E.R., Speier G. Ibid., 1992, v. 192, p. 117.
- Кузнецов М.В., Филиппова Т.В., Блюмберг Э.А., Милаева Е.Р. Хим. физика, 1995, т. 14, с. 15.
- Филиппова Т.В., Либерова Т.В., Милаева Е.Р., Копраненков В.Н., Кузнецов М.В. Кинетика и катализ, 1995, т. 36, с. 232.
- Irvin J.A., Stal H., Davies M.J. Arch. Biochem. Biophys., 1999, v. 362, p. 94.
- Филиппова Т.В., Байдер Л.М., Кузнецов М.В., Блюмберг Э.А., Милаева Е.Р. Кинетика и катализ, 1999, т. 40, с. 261.
- Niki E. In: Organic Peroxides. Ed. W. Ando. New York: John Wiley, 1992, p. 763.
- Frankel E.N. In: Autooxidation in Food and Biological Systems. Eds. M. Simic, M. Karel. New York: Plenum Press, 1980, p. 141.
- Hamilton R.J., Kalu C., Prisk E., Padley F.B., Pierce H. Food. Chem., 1997, v. 60, p. 193.
- Кольман Я., Рм К.-Г. Наглядная биохимия, М.: Мир, 2004, 376 с.
- Sies H. In: Oxidative stress. Ed. H. Sies. London: Academic Press, 1985, p. 1.
- Бурлакова Е.Б., Храпова Н.Г. Успехи химии, 1985, т. 54, с. 1540.
- Shah D.S.M., Rojaramani V., Sathick O., Priya R.S. J. Environ. Poll., 2001, v. 8, p. 7.
- Milaeva E., Petrosyan V., Berberova N., Pimenov Yu., Pellerito L. Bioinorg. Chem. Appl., 2004, v. 2, p. 69.
- Mlodnicka T. In: Metalloporphyrins in Catalytic Oxidation. Ed. R. Sheldon. New York: Marcel Dekker, 1994, p. 261.
- Faulkner K., Liochev S.I., Fridovich I. J. Biol. Chem., 1994, v. 269, p. 23471.
- Milano J., Day B.J. Nucleic Acids Res., 2000, v. 28, p. 968.
- Sheng H., Enghild J.J., Bowler R. e. a. Free Radic. Biol. Med., 2002, v. 33, p. 947.
- Perez M.J., Cederbaum A.I. Ibid., 2002, v. 33, p. 111.
- Patel M., Day B.J. Trends Pharmacol. Sci., 1999, v. 20, p. 359.
- Østdal H., Andersen H.J., Davies M.J. Arch. Biochem. Biophys., 1999, v. 362, p. 105.
- Milaeva E., Gracheva Yu., Shpakovski D., Tyurin V., Petrosyan V. J. Porphyrins Phthalocyanines, 2003, v. 8, p. 701.
- Milgrom L.R., Palmer C. J. Chem. Res. Synop., 1990, v. 66.
- Шпаковский Д.Б. Дисс. ... канд. хим. наук. Москва, МГУ, 2004.
- Sheldon R.A., Koshi J.K. Metal-catalysed oxidation of organic compounds. New York: Academic Press, 1981, 643 p.
- Vizi-Orosz A., Milaeva E. Transition Met.Chem., 1992, v. 17, p. 16.
- Bulatov A.V., Kasparov V.V., Chechulina I.N., Rakovski S.K., Milaeva E.R. Oxid. Commun., 1993, v. 16, p. 1.
- The Biological Alkylation of Heavy Elements. Ed. P.J. Craig, Royal Soc. Chem., London, 1988, 294 p.
- Brown D.G. The chemistry of vitamin B<sub>12</sub> and related inorganic model systems. In: Progress in Inorganic Chemistry, 1972, p. 177.
- Милаева Е.Р., Андросова А.В., Полякова О.В., Прокофьев А.И., Петросян В.С. Изв. АН. Сер.хим., 1996, № 7, с. 1822.
- Balch A.L., Koerner R., Latos-Grazynski L. e. a. Inorg. Chem., 1997, v. 36, p. 3892.
- Милаева Е.Р., Шпаковский Д.Б., Грачева Ю.А., Тюрин В.Ю., Петросян В.С. VIII Менд. съезд по общей и прикладной химии, Казань, 2003, т. 2, с. 169.
- Petrosyan V., Gracheva Yu., Grigor'ev E. e. a. Appl. Organometal.Chem., 2002, v. 16, p. 655.
- Milaeva E., Shpakovski D., Petrosyan V. Macromol.Symp., 2003, v. 204, p. 191.
- Милаева Е.Р., Кириллова Л.Б., Берберова Н.Т. и др. Ж. общ. химии, 2002, т. 72, с. 761.
- Милаева Е.Р., Пименов Ю.Т., Берберова Н.Т. и др. Докл. АН, 2001, т. 379, с. 631.