

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
ДОНЕЦКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ
ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет»

Н. И. Белая, А. В. Белый

**ПРИРОДНЫЕ ФЕНОЛЫ
В РЕАКЦИИ С ГИДРАЗИЛЬНЫМ
РАДИКАЛОМ**

Монография

Донецк
Издательство ООО "НПП Фолиант"
2018

УДК 547.565:544.421:544.43:544.18

ББК Г 252.411.2

Б 439

ISBN 978-5-9500569-7-0

Печатается по решению Ученого совета ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет» (протокол № 7 от 29.09.2017 г.)

Рецензенты:

А. С. Алемасова, д.х.н., профессор, заведующая кафедрой аналитической химии ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет»

В. Л. Лобачев, д.х.н., с.н.с., ведущий научный сотрудник отдела исследований электрофильных реакций ГУ «Институт физико-органической химии и углехимии им. Л. М. Литвиненко»

В. В. Приседский, д.х.н., профессор, заведующий кафедрой общей химии ГОУ ВПО «Донецкий национальный технический университет»,

Б 439 Белая, Н. И., Белый, А. В. Природные фенолы в реакции с гидразильным радикалом: монография / Н. И. Белая, А. В. Белый. – Донецк: Издательство ООО "НПП Фолиант", 2018. – 155 с.

ISBN 978-5-9500569-7-0

В монографии рассмотрены кинетика и механизмы действия ряда групп растительных фенолов в реакции со стабильным радикалом 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразилом в различных средах, а также реакционная способность и структура продуктов их окислительного превращения. Особое внимание уделено тем соединениям, которые реально используются или могут быть использованы как антиоксиданты, исходя из их биологической активности и токсичности. Представлена полуэмпирическая модель оценки антирадикальной активности природных фенольных антиоксидантов на основе одно- и двухфакторных регрессионных уравнений зависимости реакционной способности вещества от параметров его структуры.

Книга предназначена для научных сотрудников, преподавателей и аспирантов в области химической кинетики, органической, фармацевтической, медицинской и биологической химии.

УДК 547.565:544.421:544.43:544.18

ББК Г 252.411.2

Б 439

ISBN 978-5-9500569-7-0

ISBN 978-5-9500569-7-0



9 785950 056970

© Белая Н. И., 2018

© Белый А. В., 2018

© ООО «НПП «Фолиант», 2018

СПИСОК ОСНОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АО – антиоксидант
DFT – теория функционала плотности
НАТ – непосредственный перенос атома Н с молекулы АО на радикал
PCET – одновременный перенос электрона и H^+ с молекулы АО на радикал
ET-PT – последовательный перенос электрона, а затем H^+
SPLET – последовательная потеря протона, а затем перенос H^+
 k – константа скорости реакции
 v – скорость реакции
DPPH \cdot – радикал 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразил
PhOH – фенольное соединение
benz – бензол
dmsO – диметилсульфоксид
water – вода
et – этанол
 ϵ – диэлектрическая проницаемость растворителя
 β^H – акцепторное число растворителя
 E_a – энергия активации реакции
 A – предэкспоненциальный множитель
 ΔH^\ddagger – энтальпия активации реакции
 ΔS^\ddagger – энтропия активации реакции
 ΔG^\ddagger – свободная энергия Гиббса активации реакции
 n – число опытов
 \tilde{r} – коэффициент корреляции
 \tilde{r}^2 – коэффициент детерминации
 F – критерий Фишера проверки значимости линейной регрессии
 p – уровень значимости
 S_{est} – стандартная ошибка оценки
DIE – дейтериевый изотопный эффект
 D_2O – диоксид дейтерия
 D_{O-H} – энергия гомолитического разрыва (прочность) O–H связи
 E_{total} – полная электронная энергия частицы
 e – выход радикала из клетки
 f – стехиометрический коэффициент ингибирования
АИБН – азодиизобутиронитрил
ЭТБ – этилбензол

$\text{ArCH}(\text{CH}_3)\text{OO}^\bullet$ – пероксильный радикал этилбензола
 τ – период индукции окисления
RH – субстрат окисления
I – интенсивность хемилюминесцентного свечения
 RO_2^\bullet (ROO^\bullet) – пероксирадикал
АРА – антирадикальная активность
ДБА – 9,10-дибромантрацен
ХЛ – хемилюминесценция
 PhO^- – фенолят-ион
 PhO^\bullet – феноксильный радикал
S – растворитель
KSE – кинетический эффект растворителя
PI – потенциал ионизации частицы
 $\tau_{1/2}$ – время (период) полупревращения вещества
 δ_{C} – химический сдвиг ^{13}C
 δ_{H} – химический сдвиг протона ^1H
 K_{a} – константа диссоциации вещества
 Δ_{k} – относительное отклонение величины
 $\bar{\Delta}_{\text{k}}$ – средняя ошибка аппроксимации

ВВЕДЕНИЕ

Радикал и антиоксидант – два неразрывно связанных понятия. Именно антиоксиданты способны управлять важнейшими радикальными процессами, начиная от цепных реакций окисления органических веществ и материалов на их основе и заканчивая радикальными превращениями с участием активных форм кислорода в окружающей среде и организме человека. Эти вещества даже в ничтожно малых количествах могут изменять механизм реакций с участием радикалов, позволяя химику-экспериментатору не только управлять ходом и направлением процесса, но и оптимизировать условия его проведения. По удобству в использовании, экспрессности и мобильности ни один физический способ подавления радикальной активности в системе не сравнится с применением антиоксидантов.

За время изучения в качестве антиоксидантов (АО) испытаны тысячи химических веществ различных классов, но первостепенное значение как наиболее эффективные антиоксиданты уже долгое время сохраняют фенольные соединения (PhOH) [1]. Интерес к ним не ослабевает в связи с тем, что в отличие от аминных, фосфоро- и серосодержащих, фенольные АО менее токсичны и не образуют канцерогенных продуктов, что является существенным преимуществом их производства и применения.

Наиболее изученными в качестве ингибиторов радикальных процессов являются пространственно-затрудненные фенолы [2–4], которые в основном и составляют группу лабораторных и промышленных антиоксидантов. Что касается незатрудненных фенолов, то их изучению уделялось значительно меньше внимания. Интерес к таким фенолам возрос в последние десятилетия в связи с более глубоким изучением природных антиоксидантов, которые относятся к этой группе фенолов. Среди природных фенолов обнаружены вещества, значительно превышающие по своей активности известные синтетические антиоксиданты.

Сейчас наблюдается тенденция к замене синтетических ингибиторов на вещества природного происхождения для стабилизации жиросодержащих пищевых продуктов, фармацевтических препаратов и других систем. Большой интерес в этом плане представляют фенольные соединения природного происхождения, которые в значительном количестве поступают в организм человека, поскольку являются обязательным компонентом почти любого растительного продукта питания. В растениях все эти вещества находятся в определенных соотношениях, которые создались в процессе эволюции при

взаимодействии с окружающей средой [5–7]. По-видимому, это и обуславливает преимущества растительных препаратов, полученных, как правило, экстракцией из растительного сырья, по сравнению с веществами, полученными путем химического синтеза.

Природные фенолы как естественные агенты обмена веществ не нарушают химический гомеостаз организма и не вызывают ответной реакции со стороны иммунной системы. Большое значение имеет их низкая токсичность, а значит и возможность применения в течение длительного времени [8]. Кроме того, неэкразированные фенолы способны образовывать феноксильные радикалы, обладающие способностью вступать в реакции передачи цепи окисления, выполняя таким образом роль буфера, поддерживающего скорость окисления на определенном уровне [8, 9]. В связи с этим постоянно проводится целенаправленный поиск эффективных ингибиторов радикальных процессов среди объектов растительной природы [10–12], что позволяет открыть как новые классы антиоксидантов, так и новые природные источники известных ингибиторов окисления. Многие структуры, обнаруженные в результате выбора природных объектов, в последующем получают синтетическим путем.

На данный момент можно сказать, что изучение антиоксидантов природного и синтетического происхождения проводится по двум направлениям: 1) расширение ассортимента соединений, обладающих выраженными антиоксидантными свойствами; 2) поиск и исследование кинетических моделей для оценки эффективности антиоксидантов и изучения механизмов их действия.

Для авторов монографии как физико-химиков принципиально важно второе направление, развитие которого позволит надежно определять эффективные ингибиторы радикальных процессов среди постоянно возрастающего количества новых антиоксидантов. В общем, для оценки реакционной способности антиоксидантов и изучения механизма их действия используют неэмпирические, эмпирические и полуэмпирические кинетические модели.

Довольно широко проводят моделирование механизма действия АО путем расчета констант скоростей реакций вещества с радикалами различной природы неэмпирическими методами теории функционала плотности (DFT) [13–16]. Предлагаются алгоритмы расчета антирадикальной активности веществ QM-ORSA (Quantum Mechanics based test for Overall free Radical Scavenging Activity) [17]. Их применение позволяет в десятки раз сократить

временные и материальные затраты на поиск и скрининговые испытания, но все равно требует обязательного экспериментального подтверждения на доклинической стадии.

Эмпирические кинетические модели безусловно более надежны для оценки эффективности антиоксидантов, но по сравнению с неэмпирическими методами являются более трудо- и временемкими. В эту группу стоит отнести классические модельные реакции радикально-цепного окисления органических веществ [1, 2, 18]; реакции генерирования свободных радикалов путем электровосстановления кислорода [19–21]; радиолиза [22] и фотолиза воды [23]; распада генераторов свободных радикалов [24–26]; реакции с участием стабильных радикалов [27–29] и др.

Особое место занимают полуэмпирические модели прогнозирования различных видов биологической активности на основе качественной взаимосвязи «структура – реакционная способность вещества» SAR (Structure – Activity Relationships) [30] и количественной взаимосвязи «структура – реакционная способность вещества» QSAR/ QSPR (Quantitative Structure – Activity/Property Relationships) [31–33] в виде линейных регрессионных уравнений. В этом случае при выборе антиоксиданта сочетаются как квантово-химические расчеты, так и эксперимент, что способствует снижению времени проведения скрининга по сравнению с полностью эмпирическим методом и повышению надежности результатов в отличие от неэмпирических расчетов.

Получение экспериментатором линейных регрессионных зависимостей параметров антирадикальной активности (АРА) антиоксиданта от показателя его структуры есть сложная комплексная задача, которая требует учета ряда факторов. Отметим наиболее важные из них:

- а) прежде всего выбор модельной реакции (или реакций), приводящей к образованию такого свободного радикала, с которым способен реагировать потенциальный антиоксидант;
- б) установление возможного антирадикального механизма действия вещества. На данный момент предложено пять основных механизмов: НАТ (Hydrogen Atom Transfer) – непосредственный перенос атома водорода с молекулы антиоксиданта на радикал [34–36]; PCET (Proton-Coupled Electron Transfer) – одновременный перенос электрона и протона с молекулы антиоксиданта на радикал [37–39]; ET–PT (Electron Transfer–Proton Transfer) – последовательный перенос электрона, а затем протона [40, 41]; SPLET (Sequential Proton Loss–Electron Transfer) последовательная потеря протона, а затем перенос электрона [42–45]; RAF (Radical Adduct

Formation) – образование радикального аддукта (как правило рассматривается для HO^\bullet и HO_2^\bullet радикалов) [46–48]. Во многом протекание того или иного механизма зависит от модельной реакции и среды ее протекания;

- в) выбор параметра структуры антиоксиданта, который определяется тем, в какой форме антиоксидант участвует в лимитирующей стадии реакции, иначе говоря – механизмом реакции. Закономерности же изменения параметра структуры можно надежно проследить исследовав большой гомологический ряд, к которому относится испытуемое вещество;
- г) экспериментальное определение показателя реакционной способности антиоксиданта. Таких показателей много, начиная от величин, зависящих от концентрации АО (периода индукции процесса окисления τ , эффективной концентрации антиоксиданта, уменьшающей интенсивность аналитического сигнала на 50% (EC_{50}) и т.д.), и заканчивая непосредственно константами (k) скорости реакции взаимодействия антиоксиданта с радикалом. Адекватность полученных полуэмпирических регрессионных уравнений часто зависит от того, какой параметр антиоксидантной активности был выбран экспериментатором.

Очевидно, что все перечисленные факторы взаимосвязаны между собой и требуют обязательного учета при составлении полуэмпирической модели скрининга, основанной на одно- или многопараметровых зависимостях реакционной способности вещества от его структуры. К сожалению, на данный момент в работах учитывается только часть указанных факторов или вообще связь «структура–реакционная способность» строится спонтанно для соединений разных классов и приводит лишь к качественным выводам [18, 30, 49]. Количественные зависимости АРА вещества от параметров его строения встречаются крайне редко [31, 33], как правило, для малого числа веществ с низким уровнем статистической обработки данных.

В представленной монографии, основанной на экспериментальных результатах авторов, учтено большинство факторов, влияющих на получение адекватной полуэмпирической модели скрининга антирадикальной активности вещества в реакции со стабильным радикалом 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразилом (DPPH^\bullet). Более того предлагается рассматривать не привычную взаимосвязь «структура – реакционная способность вещества», а комплексное взаимодействие «природа стабилизируемого материала (модельная реакция) – механизм окислительных превращений – параметр структуры антиоксиданта – его реакционная способность».

Описанная модель безусловно не претендует на «идеальность» и не гарантирует получение абсолютно правильных прогнозируемых результатов, поскольку в основе лежит всего одна модельная реакция. Природный фенол, реагирующий с DPPH[•], может и не проявить себя в реакции с другим радикалом или наоборот. Но авторы ставили перед собой задачу предложить не только готовые полуэмпирические уравнения для подбора эффективных антиоксидантов в зависимости от природы среды, но и представить четкий алгоритм скрининга антирадикальной активности природных фенольных соединений, который можно применять к реакциям с радикалами разной природы, составляя многоуровневые предсказательные модели оценки эффективности ингибиторов радикальных реакций, что безусловно повысит точность и надежность полученных результатов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рогинский, В. А. Фенольные антиоксиданты. Реакционная способность и эффективность / В. А. Рогинский. – М. : Наука, 1988. – 247 с.
2. Денисов, Е. Т. Ингибирование цепных реакций / Е. Т. Денисов, В. В. Азатын. – Черноголовка : ИПХФ РАН, 1997. – 267с.
3. Энергия O–H и ингибирующая способность пространственно-затрудненных фенолов / В. А. Беляков [и др.] // Известия АН СССР. – 1975. – № 12. – С. 2685–2691.
4. Ершов, В. В. Пространственно-затрудненные фенолы / В. В. Ершов, Г. А. Никифоров, А. А. Володькин. – М. : Химия, 1972. – 352 с.
5. Vermerris, W. Phenolic Compound Biochemistry / W. Vermerris, R. Nicholson. – Dordrecht : Springer, 2006. – 275 с.
6. Запрометов, М. Н. Фенольные соединения. Распространение, метаболизм и функции в растениях / М. Н. Запрометов. – М. : Наука, 1993. – 271 с.
7. Herrmann, K. Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods / K. Herrmann, C. W. Nagel // Food Science and Nutrition. – 1989. – Vol. 28, Issue 4. – P. 315–347.
8. Барабой, В. А. Растительные фенолы и здоровье человека / В. А. Барабой. – М. : Наука, 1984. – 160 с.
9. Касаикина, О. Т. Влияние радикалов ингибитора на кинетику ингибированного окисления / О. Т. Касаикина, В. Д. Кортенская,

Н. В. Янишлиева // Известия РАН. Серия химическая. – 1999. – № 10. – С. 1915–1920.

10. Сравнительная оценка биологической активности соединений, выделенных из видов *Rhodiola L.* / А. Д. Барнаулов [и др.] // Фармация. – 1994. – Т. 43, № 6. – С. 32–37.

11. Дардымов, И. В. Женьшень, элеутерококк / И. В. Дардымов. – М. : Наука, 1976. – 184 с.

12. Белая, Н. И. Физико-химическое исследование реакции полифенольных соединений с пероксильными и дифенилпикрилгидразильным радикалами : автореф. дис. ... канд. хим. наук / Белая Наталья Ивановна ; Донецкий национальный университет. – Донецк, 2003. – 20 с.

13. Cristina, I. Antioxidant Activity of trans-Resveratrol toward Hydroxyl and Hydroperoxyl Radicals: A Quantum Chemical and Computational Kinetics Study / I. Cristina, J. R. Alvarez-Idaboy, N. Russo // *J. Org. Chem.* – 2012. – Vol. 77, № 8. – P. 3868–3877.

14. Glazunov, V. P. DFT study of mechanisms of the antioxidant effect of natural polyhydroxy-1,4-naphthoquinones. Reactions of echinamines A and B, metabolites of sea urchin *Scaphechinus mirabilis*, with hydroperoxyl radical / V. P. Glazunov, D. V. Berdyshev, V. L. Novikov // *Russian Chemical Bulletin, International Edition.* – 2014. – Vol. 63, № 9. – P. 1993–1999.

15. A DFT study on the mechanism and kinetics of reactions of pterostilbene with hydroxyl and hydroperoxyl radicals / J. J. Guardia [et al.] // *Computational and Theoretical Chemistry.* – 2016. – Vol. 1077. – P. 113–118.

16. Coumarin-Chalcone Hybrids as Peroxyl Radical Scavengers: Kinetics and Mechanisms / G. Mazzone [et al.] // *Journal of Chemical Information and Modeling.* – 2016. – Vol. 56, № 4. – P. 662–670.

17. Galano, A. A Computational Methodology for Accurate Predictions of Rate Constants in Solution: Application to the Assessment of Primary Antioxidant Activity / A. Galano, J. R. Alvarez-Idaboy // *Journal of Computational Chemistry.* – 2013. – Vol. 34, Issue 28. – P. 2403–2492.

18. Перевозкина, М. Г. Тестирование антиоксидантной активности полифункциональных соединений кинетическими методами : монография / М. Г. Перевозкина. – Новосибирск: СибАК, 2014. – 240 с.

19. Исследование антиоксидантных свойств каталазы и супероксиддисмутазы методом вольтамперометрии / Е. И. Короткова [и др.] // *Химико-фармацевтический журн.* – 2008. – Т. 42, № 8. – С. 45–47.

20. Гуминовые кислоты в процессе электровосстановления кислорода / Н. В. Юдина [и др.] // Известия вузов. Химия и химическая технология. – 2002. – Т. 45, № 3. – С. 106–108.
21. Аврамчик, О. А. Закономерности процесса электровосстановления кислорода в присутствии антиоксидантов и их применение в аналитической практике : автореф. дис. ... канд. хим. наук / Аврамчик Олеся Александровна ; Томский политехнический университет. – Томск, 2006. – 20 с.
22. Determination of the rate constant of hydroperoxyl radical reaction with phenol / Z. Kozmérb [et al.] // Radiation Physics and Chemistry. – 2014. – Vol. 102. – P. 135–138.
23. Mamedov, F. K. Radiolysis and photolysis of water solutions of phenol / K. F. Mamedov // European Resercher. – 2014. – Vol. 78, № 7–1. – P.1220–1227.
24. Yoshinori, K. Radical-Scavenging Activity of Dietary Phytophenols in Combination with co-Antioxidants Using the Induction Period Method / K. Yoshinori, S. Fujusawa // Molecules. – 2011. – Vol. 16. – P. 10457–10470.
25. Application of water-soluble radical initiator, 2,2'-azobis(2-amidinopropane)dihydrochloride, to a study of oxidative stress / Y. Yoshida [et al.] // Free Radical Research. – 2004. – Vol 4. – P. 375–384.
26. Betigeri, S. Use of 2,2'-azobis(2-amidinopropane)dihydrochloride as a reagent tool for evaluation of oxidative stability of drugs / S. Betigeri, A. Thakur, K. Raghavan // Pharmaceutical Research. – 2005. – Vol. 22. – P. 310–317.
27. Saito, S. DPPH[•] (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) Radical-Scavenging Reaction of Protocatechuic Acid (3, 4-Dihydroxybenzoic Acid): Difference in Reactivity between Acids and Their Esters / S. Saito, J. Kawabata // Helvetica chimica acta. – 2006. – Vol. 89, № 7. – P. 1395–1407.
28. Foti, M. C. Electron-transfer reaction of cinnamic acids and their methyl esters with the DPPH[•] radical in alcoholic solutions / M. C. Foti, C. Daquino // The Journal of organic chemistry. – 2004. – Vol. 69, № 7. – P. 2309–2314.
29. Villano, D. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH[•] free radical / D. Villano // Talanta. – 2007. – Vol. 71, № 1. – P. 230–235.
30. Javan A. J. Electronic structure of some thymol derivatives correlated with the radical scavenging activity: Theoretical study / A. J. Javan, M. J. Javan // Food Chemistry. – 2014. – Vol. 165. – P. 451–459.

31. QSAR Models for the Prediction of Binding Affinities to Human Serum Albumin Using the Heuristic Method and a Support Vector Machine / C. X. Xue [et al.] // *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* – 2004. – Vol. 44, № 5. – P. 1693–1700.
32. Виртуальный скрининг в ряду эффективных ингибиторов каталитической активности лейкотриен-А4-гидролазы / И. А. Таипов [и др.] // *Вестник Башкирского университета.* – 2012. – Т. 17, № 2. – С. 886–891.
33. Хайруллина, В. Р. Взаимосвязь «структура-свойство» в ряду органических соединений с выраженной противовоспалительной, антиокислительной и противоопухолевой активностью : автореф. дис. ... д-ра хим. наук / Хайруллина Вероника Радиевна ; Башкирский государственный университет. – Уфа, 2015. – 47 с.
34. Hydrogen atom transfer in the reaction of hydroxycinnamic acids with $\cdot\text{OH}$ and $\text{HOO}\cdot$ radicals: DFT study / M. Nsangou [et al.] // *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM.* – 2008. – Vol. 862. – P. 53–59.
35. Luzhkov, V. B. Mechanisms of antioxidant activity: The DFT study of hydrogen abstraction from phenol and toluene by the hydroperoxyl radical / V. B. Luzhkov // *Chemical Physics.* – 2005. – Vol. 314. – P. 211–217.
36. Pérez-González, A. On the hydroperoxyl radical scavenging activity of two Edaravone derivatives: mechanism and kinetics / A. Pérez-González, A. Galano // *J. Phys. Org. Chem.* – 2013. – Vol. 26. – P. 261–268.
37. Theoretical studies of proton-coupled electron transfer: Models and concepts relevant to bioenergetics / S. Hammes-Schiffer [et al.] // *Coordination Chemistry Reviews.* – 2008. – Vol. 252. – P. 384–394.
38. Singh N. Mechanistic aspects of hydrogen abstraction for phenolic antioxidants. Electronic structure and topological electron density analysis / N. Singh, P. J. O'Malley, L. A. Paul / *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2005. – Vol. 7. – P. 614 – 619.
39. Sirjoosingh, A. Proton-Coupled Electron Transfer versus Hydrogen Atom Transfer: Generation of Charge-Localized Diabatic States / A. Sirjoosingh, S. Hammes-Schiffer // *J. Phys. Chem. A.* – 2011. – Vol. 115. – P. 2367–2377.
40. Galano, A. On the free radical scavenging mechanism of protocatechuic acid, regeneration of the catechol group in aqueous solution / A. Galano, A. Pérez-González / *Theor Chem Acc.* – 2012. – Vol. 131, № 9. – P. 1265 – 1278.
41. Investigation of the antioxidant and radical scavenging activities of some phenolic Schiff bases with different free radicals / Z. Marković [et al.] // *J. Mol. Model.* – 2015. – Vol. 21. – P. 293–303.

42. Galano, A. Cyclic 3-hydroxymelatonin, a key metabolite enhancing the peroxy radical scavenging activity of melatonin / A. Galano, D. X. Tan, R. J. Reiter // *The Royal Society of Chemistry Adv.* – 2014. – Vol. 4. – P. 5220–5227.

43. Investigation of the radical scavenging potency of hydroxybenzoic acids and their carboxylate anions / Z. Marković [et al.] // *Monatshefte für Chemie–Chemical Monthly.* – 2014. – Vol. 145, Issue 6. – P. 953–962.

44. Marino, T. On the Radical Scavenging Ability of Gallic Acid Toward OH and OOH Radicals. Reaction Mechanism and Rate Constants from the Density Functional Theory / T. Marino, A. Galano, N. Russo // *J. Phys. Chem. B.* – 2014. – Vol. 118, № 35. – P. 10380–10389.

45. Perez-Gonzalez, A. Dihydroxybenzoic acids as free radical scavengers: mechanisms, kinetics and trends in activity / A. Perez-Gonzalez, A. Galano, J. R. Alvarez-Idaboy // *New J. Chem.* – 2014. – Vol. 38. – P. 2639–2652.

46. Marino, T. A deeper insight on the radical scavenger activity of two simple coumarins toward \cdot OOH radical / T. Marino, N. Russo, A. Galano // *Computational and Theoretical Chemistry.* – 2016. – Vol. 1077. – P. 133–138.

47. Cordova-Gomez, M. Piceatannol, a better peroxy radical scavenger than resveratrol / M. Cordova-Gomez, A. Galano, J. R. Alvarez-Idaboy // *The Royal Society of Chemistry Adv.* – 2013. – Vol. 3. – P. 20209–20218.

48. Iuga, C. ROS Initiated Oxidation of Dopamine under Oxidative Stress Conditions in Aqueous and Lipidic Environments / C. Iuga, J. R. Alvarez-Idaboy, A. Vivier-Bunge // *J. Phys. Chem. B.* – 2011. – Vol. 115. – P. 12234–12246.

49. On the radical scavenging activity of isoflavones: thermodynamics of O–H bond cleavage / J. Lengyel [et al.] // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2013. – Vol. 15. – P. 10895–10903.

Глава 1

Реакции природных фенолов с гидразильным радикалом в апротонных средах

1.1. Реакции в бензоле

1.1.1. Кинетические, стехиометрические и активационные параметры реакции. Дейтериевый изотопный эффект

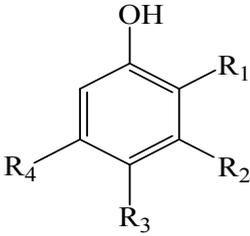
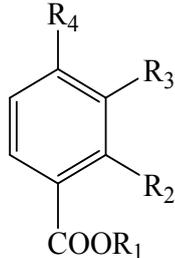
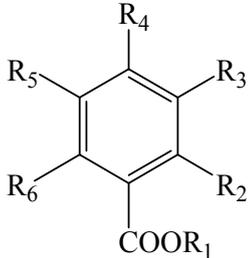
Наиболее простыми при изучении кинетики и механизма действия фенольных антиоксидантов в реакции с радикалами являются апротонные среды, в которых максимально подавлены процессы диссоциации реагентов и сведены к минимуму эффекты специфической сольватации (образование водородной связи). В таких растворителях, как правило, на реакционную способность фенолов оказывает влияние только неспецифическая сольватация – диэлектрическая проницаемость среды.

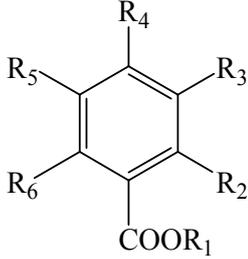
Для исследования влияния полярности среды на реакцию PhOH с DPPH* были выбраны бензол (benz) как неполярный апротонный растворитель, диметилсульфоксид (dmsO) – диполярный апротонный растворитель и их смеси (dmsO-benz) в разных соотношениях. Применение бензола дает возможность имитировать липидную фазу в биологических системах, а диметилсульфоксида – сильноокислые водные среды. Крайне низкая ионизирующая способность данных растворителей, не склонных к выраженному донорно-акцепторному взаимодействию с растворенным веществом, позволяет подавлять процессы диссоциации фенольных соединений и рассматривать участие в реакции с радикалом преимущественно только их молекулярные формы.

В качестве объектов исследования использовали соединения, относящиеся к различным группам растительных фенолов (табл. 1.1.1), производства «Sigma-Aldrich», «Fluka», «Merck», «Acros Organics», «Panreac», а также оксигидрохинон, синтезированный по методике [1].

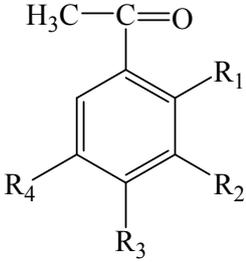
Подбор природных антиоксидантов осуществлялся таким образом, чтобы вещества каждого предыдущего класса были структурными элементами более сложных последующих групп растительных фенолов.

Таблица 1.1.1 – Структурные формулы соединений разных групп фенолов растительного происхождения

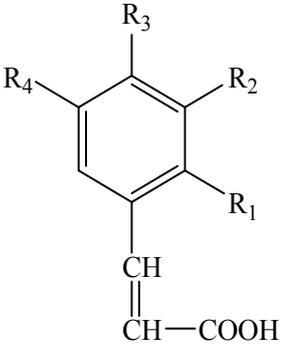
Соединение	Заместители	Структура
1	2	3
Гидроксibenзолы		
1 – пирокатехин	$R_1=OH, R_2=R_3=R_4=H;$	
2 – резорцин	$R_2=OH, R_1=R_3=R_4=H;$	
3 – орцин	$R_1=R_3=H, R_2=OH, R_4=CH_3;$	
4 – гидрохинон	$R_3=OH, R_1=R_2=R_4=H;$	
5 – метиловый эфир гидрохинона	$R_3=OCH_3, R_1=R_2=R_4=H;$	
6 – пирогаллол	$R_1=R_2=OH, R_3=R_4=H;$	
7 – флороглюцин	$R_2=R_4=OH, R_1=R_3=H;$	
8 – оксигидрохинон	$R_1=R_3=OH, R_2=R_4=H.$	
Гидроксibenзойные кислоты		
<i>Моногидроксibenзойные кислоты</i>		
9 – 2-гидроксibenзойная (салициловая) кислота	$R_2=OH, R_1=R_3=R_4=H;$	
10 – 3-метил-2-гидроксibenзойная кислота	$R_2=OH, R_3=CH_3, R_1=R_4=H;$	
11 – метиловый эфир 3-метил-2-гидроксibenзойной кислоты	$R_2=OH, R_3=CH_3, R_1=CH_3, R_4=H;$	
12 – 3-гидроксibenзойная кислота	$R_3=OH, R_1=R_2=R_4=H;$	
13 – 4-гидроксibenзойная кислота	$R_4=OH, R_1=R_2=R_3=H;$	
14 – этиловый эфир 4-гидроксibenзойной кислоты	$R_4=OH, R_2=R_3=H, R_1=C_2H_5.$	
<i>Дигидроксibenзойные кислоты</i>		
15 – 2,3-дигидроксibenзойная (пирокатеховая) кислота	$R_2=R_3=OH, R_1=R_4=R_5=R_6=H;$	
16 – 2,4-дигидроксibenзойная (β-резорциловая) кислота	$R_2=R_4=OH, R_1=R_3=R_5=R_6=H;$	
17 – метиловый эфир 2,4-дигидроксibenзойной кислоты	$R_2=R_4=OH, R_1=OCH_3, R_3=R_5=R_6=H;$	
18 – 2,5-дигидроксibenзойная (гентизиновая) кислота	$R_2=R_5=OH, R_1=R_3=R_4=R_6=H;$	
19 – 2,6-дигидроксibenзойная (γ-резорциловая) кислота	$R_2=R_6=OH, R_1=R_3=R_4=R_5=H;$	
20 – 3,4-дигидроксibenзойная (протокатеховая) кислота	$R_3=R_4=OH, R_1=R_2=R_5=R_6=H;$	
21 – 3,5-дигидроксibenзойная (α-резорциловая) кислота	$R_3=R_5=OH, R_1=R_2=R_4=R_6=H;$	

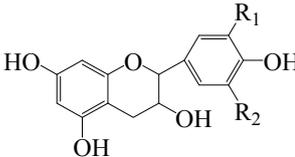
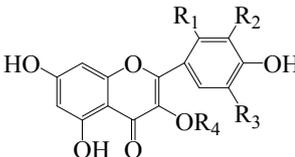
1	2	3
22 – 3-метокси-4-гидрокси-бензойная (ванилиновая) кислота	$R_3=OCH_3, R_4=OH,$ $R_1=R_3=R_5=R_6=H.$	
<i>Тригидроксibenзойные кислоты</i>		
23 – 2,3,4-тригидроксibenзойная (3-пирогаллолкарбоновая) кислота	$R_2=R_3=R_4=OH, R_5=R_1=R_6=H;$	
24 – 3,4,5-тригидроксibenзойная (галловая) кислота	$R_3=R_4=R_5=OH,$ $R_2=R_1=R_6=H;$	
25 – 3,5-диметокси-4-гидроксибензойная (сиреневая) кислота	$R_3=R_5=OCH_3, R_4=OH,$ $R_2=R_1=R_6=H;$	
26 – метиловый эфир 3,4,5-тригидроксibenзойной кислоты	$R_3=R_4=R_5=OH, R_2=R_6=H,$ $R_1=OCH_3;$	
27 – этиловый эфир 3,4,5-тригидроксibenзойной кислоты	$R_3=R_4=R_5=OH, R_2=R_6=H,$ $R_1=OCH_2CH_3;$	
28 – 2,4,6-тригидроксibenзойная (флороглюцинкарбоновая) кислота	$R_2=R_4=R_6=OH,$ $R_5=R_1=R_3=H.$	

Гидроксиацетофеноны

29 – 2-гидроксиацетофенон	$R_1=OH, R_2=R_3=R_4=H;$	
30 – 3-гидроксиацетофенон	$R_2=OH, R_1=R_3=R_4=H;$	
31 – 4-гидроксиацетофенон	$R_3=OH, R_1=R_2=R_4=H;$	
32 – 2,4-дигидроксиацетофенон	$R_1=R_3=OH, R_2=R_4=H;$	
33 – 2,5-дигидроксиацетофенон	$R_1=R_4=OH, R_2=R_3=H;$	
34 – 3,4-дигидроксиацетофенон	$R_2=R_3=OH, R_1=R_4=H;$	
35 – 3-метокси-4-гидрокси-ацетофенон	$R_2=OCH_3, R_3=OH,$ $R_1=R_4=H.$	

Гидроксикоричные кислоты

36 – 2-гидроксикоричная (о-кумаровая) кислота	$R_1=OH, R_2=R_3=R_4=H;$	
37 – 3-гидроксикоричная (м-кумаровая) кислота	$R_2=OH, R_1=R_3=R_4=H;$	
38 – 4-гидроксикоричная (п-кумаровая) кислота	$R_3=OH, R_1=R_2=R_4=H;$	
39 – 3,4-дигидроксикоричная (кофейная кислота)	$R_2=R_3=OH, R_1=R_4=H;$	

1	2	3
40 – 3-метокси-4-гидроксикоричная (феруловая) кислота	$R_2=OCH_3, R_3=OH, R_1=R_4=H;$	
41 – 3,5-диметокси-4-гидроксикоричная (синаповая) кислота	$R_2=R_4=OCH_3, R_3=OH, R_1=H.$	
Флавоноиды и их гликозиды		
<i>Флаванолы-3 (катехины)</i>		
42 – катехин	$R_1=OH, R_2=H;$	
43 – галлокатехин	$R_1=R_2=OH;$	
<i>Флавонолы</i>		
44 – кемпферол	$R_1=R_2=R_3=R_4=H;$	
45 – кверцетин	$R_2=OH, R_1=R_4=R_3=H;$	
46 – изорамнетин	$R_2=OCH_3, R_1=R_3=R_4=H;$	
47 – морин	$R_1=OH, R_2=R_3=R_4=H;$	
48 – мирицетин	$R_2=R_3=OH, R_1=R_4=H;$	
49 – кверцитрин (3-рамнозид кверцетина)	$R_2=OH, R_1=R_3=H, R_4=L\text{-рамноза};$	
50 – рутин (3-глюкорамнозид кверцетина)	$R_2=OH, R_1=R_3=H, R_4=рутиноза.$	

Соединения, относящиеся к гидроксibenзолам, содержатся в небольшом количестве в составе фруктов, овощей, лекарственных трав, участвуют в биосинтезе фенольных кислот и флавоноидов, являются структурными фрагментами практически всех групп растительных фенольных соединений [2]. Гидроксиацетофеноны редко встречаются в растительных тканях [3], но при этом изучаются в качестве моделей при исследовании окислительно-восстановительных свойств флавоноидов [4]. Гидроксibenзойные, гидроксикоричные кислоты и флавоноиды относятся к классу более сложных растительных фенолов, широко распространены в растениях и участвуют в образовании полимерных фенольных соединений (дубильных веществ). Могут существовать как в индивидуальном виде, так и в связанной форме (гликозиды, эфиры, депсиды) [5]. Эти три группы растительных фенолов широко распространены в растительных тканях и относятся к наиболее востребованным природным антиоксидантам, нашедшим свое применение при стабилизации пищевой, парфюмерной, фармацевтической продукции, разработке новых синергических смесей как биологически активных добавок

антиокислительной направленности. Исследование кинетики и механизма реакции представленных групп растительных фенолов с радикалом DPPH• позволит сформировать общую стратегию скрининга эффективных антиоксидантов среди фенолов растительного происхождения для разных субстратов окисления.

На начальном этапе исследование влияния среды на кинетику реакции фенольных соединений со стабильным гидразильным радикалом проводилось в неполярном неионизирующем растворителе – бензоле ($\epsilon=2,3$ [6]) методом УФ-спектроскопии (Specord S300 UV-VIS) в интервале температур 293–318 К при $\lambda_{\max}=520$ нм. Растворитель предварительно деоксигенировали путем барботирования аргоном в течение 15–20 минут. Концентрация радикала рассчитывалась по определенному экспериментально молярному коэффициенту светопоглощения $\epsilon_{benz}=8,77 \cdot 10^3$ л·моль⁻¹·см⁻¹. На рисунке 1.1.1а представлены кинетические кривые изменения концентрации DPPH• на примере реакции с ди- и тригидроксибензолами.

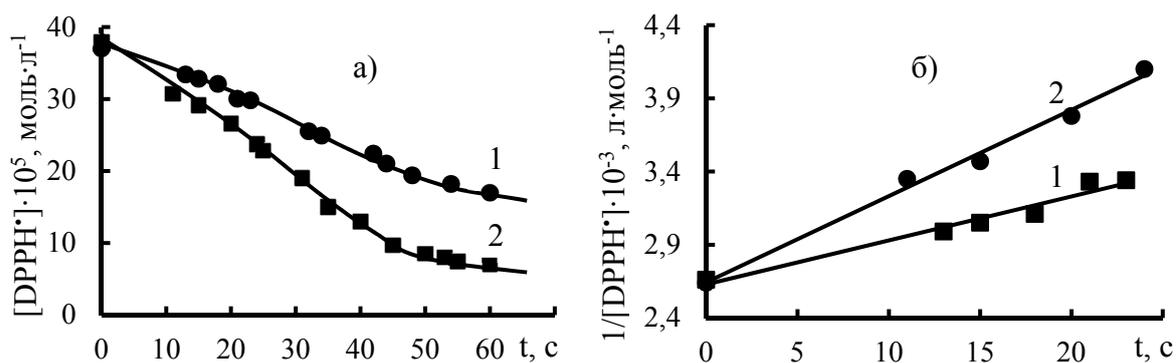


Рис. 1.1.1 – Кинетические кривые расходования DPPH• в реакции с гидроксибензолами (а) и их анаморфозы в координатах реакции второго порядка (б): 1 – пирокатехин ($C=3,77 \cdot 10^{-4}$ моль·л⁻¹); 2 – пирогаллол ($C=3,79 \cdot 10^{-4}$ моль·л⁻¹). Растворитель – бензол. $T=293 \pm 2$ К

Обращает на себя внимание вид кинетических кривых: на начальном участке наблюдается резкое линейное убывание концентрации радикала, которое обусловлено взаимодействием PhOH с DPPH•, а затем следует его медленное расходование за счет реакции с малоактивными продуктами превращения фенолов. Исследование кинетики и стехиометрии реакции проводилось на начальном участке кинетических кривых, где степень превращения веществ мала.

С использованием дифференциального метода Вант-Гоффа [7] при условии, что вещество, по которому проводилось определение, взято в большом недостатке (в 10–15 раз) по отношению к другим реагентам,

установлен первый псевдопорядок реакции по радикалу и фенолу (рис. 1.1.2). Независимо от строения приведенных фенолов порядки реакции по компонентам остаются неизменными.

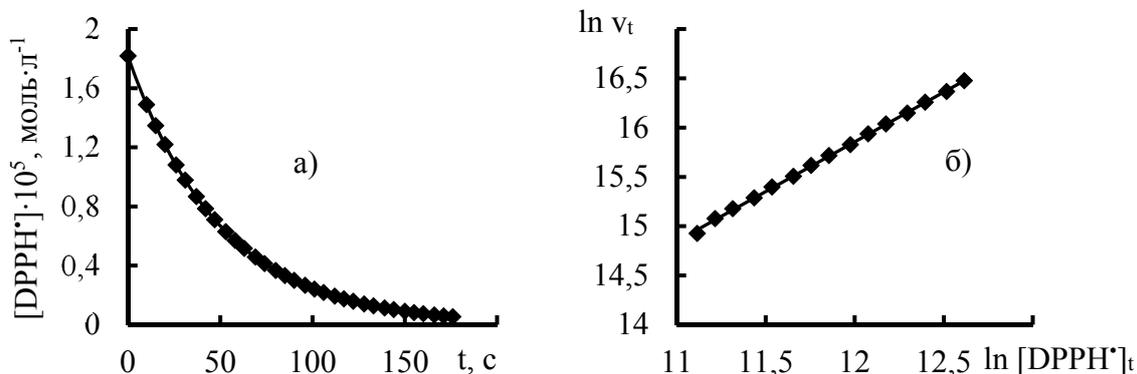


Рис. 1.1.2 – Определение псевдопорядка по DPPH^\bullet в реакции с гидроксibenзолами дифференциальным методом Вант-Гоффа: а) кинетическая кривая расходования DPPH^\bullet в присутствии сиреневой кислоты ($C=1,82 \cdot 10^{-4}$ моль · л $^{-1}$); б) логарифмическая анаморфоза этой кривой. Растворитель – бензол. $T=293 \pm 2\text{K}$

Исходя из полученных стехиометрических параметров по веществам, общий порядок реакции равен двум, что подтверждается линеаризацией начальных участков кинетических кривых в координатах реакции второго порядка (рис. 1.1.1б).

Кинетическое уравнение для скорости реакции (v) исследуемых фенолов с гидразильным радикалом в бензоле имеет следующий вид:

$$v = k_{benz} \cdot [\text{DPPH}^\bullet] \cdot [\text{PhOH}].$$

В таблице 1.1.2 представлены величины констант скоростей (k_{benz}) реакции PhOH с DPPH^\bullet как параметра антирадикальной активности (АРА) природных фенолов, определенные по величине углового коэффициента уравнения регрессии линейных анаморфоз (рис. 1.1.1б).

Видно, что в реакции с DPPH^\bullet наиболее активны соединения с несколькими фенольными группами в орто- и пара-положениях, такие как тригидроксibenзойные кислоты (соединения **23–27**), флавонолы (**45–50**), а также некоторые гидроксibenзолы (**4–6, 8**). Не реагируют с радикалом при температуре $293 \pm 2\text{K}$ все моногидроксibenзойные кислоты (**9–14**), часть дигидроксibenзойных и гидроксикоричных кислот, а также соединения с О–Н группами в мета-положении. Определение констант скоростей реакции DPPH^\bullet с фенолами при разных температурах ($293–318\text{ K}$) позволило обработать полученные результаты в координатах уравнений Аррениуса (рис. 1.1.3а) и Эйринга (рис. 1.1.3б) и вычислить соответствующие активационные

Таблица 1.1.2 – Экспериментальные значения кинетических и активационных параметров реакции природных фенолов с радикалом DPPH^{*} в бензоле

Соединение	k_{benz} , л·моль ⁻¹ ·с ⁻¹ (T=293K)	E_a , кДж·моль ⁻¹	A , л·моль ⁻¹ ·с ⁻¹	ΔH^\ddagger , кДж·моль ⁻¹	ΔS^\ddagger , Дж·моль ⁻¹ ·К ⁻¹	ΔG^\ddagger_{293} , кДж·моль ⁻¹
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>
Гидроксibenзолы						
1 – пирокатехин	36,2±1,4	17±1	(3,89±0,21)·10 ⁴	14±1	-165±7	63
2 – резорцин	(3,07±0,14)·10 ⁻³ a	38±2	(5,36±0,26)·10 ³	36±2	-182±8	93
3 – орцин	(1,83±0,07)·10 ⁻³ a	40±2	(6,8±0,3)·10 ³	38±2	-180±8	95
4 – гидрохинон	52,6±2,1	15±1	(2,48±0,14)·10 ⁴	13±1	-169±7	62
5 – метиловый эфир гидрохинона	60,3±2,2	12,3±0,5	(8,3±0,3)·10 ³	10,4±0,5	-178±8	62
6 – пирогаллол	65,2±2,2	10,3±0,5	(3,95±0,21)·10 ³	8,3±0,5	-184±8	61
7 – флороглюцин	(1,12±0,05)·10 ⁻³ a	41±2	(6,1±0,3)·10 ³	39±2	-181±8	96
8 – оксигидрохинон	60,4±2,2	12,4±0,5	(8,3±0,3)·10 ³	10,4±0,5	-178±8	62
Гидроксibenзойные кислоты						
<i>Моногидроксibenзойные кислоты</i>						
9 – салициловая кислота	(0,91±0,04)·10 ⁻³ a	44±2	(1,52±0,04)·10 ⁴	41±2	-174±8	97
10 – 3-метилсалициловая кислота	(1,10±0,05)·10 ⁻³ a	43±2	(1,16±0,03)·10 ⁴	40±2	-176±8	96
11 – метиловый эфир 3-метилсалициловой кислоты	(1,32±0,05)·10 ⁻³ a	42±2	(1,03±0,03)·10 ⁴	39±2	-177±8	96
12 – 3-гидроксibenзойная кислота	(1,42±0,05)·10 ⁻³ a	42±2	(1,11±0,03)·10 ⁴	39±2	-176±8	95
13 – 4-гидроксibenзойная кислота	(1,64±0,05)·10 ⁻³ a	41±2	(8,7±0,3)·10 ³	38±2	-178±8	95
14 – этиловый эфир 4-гидроксibenзойной кислоты	(1,43±0,05)·10 ⁻³ a	42±2	(1,11±0,03)·10 ⁴	39±2	-176±8	95
<i>Дигидроксibenзойные кислоты</i>						
15 – пирокатеховая кислота	31,2±1,4	20±1	(1,14±0,03)·10 ⁵	18±1	-156±6	63
16 – β-резорциловая кислота	(0,84±0,04)·10 ⁻³ a	45±2	(2,07±0,14)·10 ⁴	42±2	-171±8	97
17 – метиловый эфир β-резорциловой кислоты	(0,81±0,04)·10 ⁻³ a	46±2	(2,88±0,14)·10 ⁴	43±2	-168±7	97
18 – гентизиновая кислота	45,4±1,5	17±1	(4,83±0,21)·10 ⁴	15±1	-163±7	62
19 – γ-резорциловая кислота	(1,61±0,05)·10 ⁻³ a	41±2	(8,7±0,3)·10 ³	38±2	-178±8	95
20 – протокатеховая кислота	51,1±1,6	16±1	(3,63±0,21)·10 ⁴	14±1	-166±7	62

<i>I</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>
21 – α-резорциловая кислота	$(1,32 \pm 0,05) \cdot 10^{-3} \text{ a}$	42±2	$(1,03 \pm 0,03) \cdot 10^4$	39±2	-177±8	96
22 – ванилиновая кислота	$(1,42 \pm 0,05) \cdot 10^{-3} \text{ a}$	43±2	$(1,62 \pm 0,04) \cdot 10^4$	40±2	-173±8	95
<i>Тригидроксibenзойные кислоты</i>						
23 – 3-пирогаллолкарбоновая кислота	53,3±1,6	16±1	$(3,77 \pm 0,21) \cdot 10^4$	14±1	-165±7	62
24 – галловая кислота	54,3±1,6	15±1	$(2,55 \pm 0,14) \cdot 10^4$	13±1	-169±7	62
25 – сиреневая кислота	36,1±1,4	18±1	$(5,83 \pm 0,26) \cdot 10^4$	16±1	-162±7	63
26 – метиловый эфир галловой кислоты	58,2±1,6	13±1	$(1,21 \pm 0,03) \cdot 10^4$	11,3±0,5	-175±8	62
27 – этиловый эфир галловой кислоты	60,4±1,7	13±1	$(1,25 \pm 0,03) \cdot 10^4$	11,5±0,5	-175±8	62
28 – флороглюцинкарбоновая кислота	$(1,64 \pm 0,05) \cdot 10^{-3} \text{ a}$	41±2	$(8,7 \pm 0,3) \cdot 10^3$	38±2	-178±8	95
<i>Гидроксикоричные кислоты</i>						
36 – о-кумаровая кислота	$(3,22 \pm 0,11) \cdot 10^{-3} \text{ a}$	39±2	$(8,2 \pm 0,3) \cdot 10^3$	36±2	-179±8	93
37 – м-кумаровая кислота	$(3,84 \pm 0,12) \cdot 10^{-3} \text{ a}$	38±2	$(6,6 \pm 0,3) \cdot 10^3$	35±2	-181±8	93
38 – п-кумаровая кислота	$(3,91 \pm 0,12) \cdot 10^{-3} \text{ a}$	38±2	$(6,8 \pm 0,3) \cdot 10^3$	35±2	-180±8	93
39 – кофейная кислота	62,4±1,7	13±1	$(1,29 \pm 0,03) \cdot 10^4$	11,2±0,5	-174±8	62
40 – феруловая кислота	30,2±1,4	20±1	$(1,11 \pm 0,03) \cdot 10^5$	18±1	-157±6	63
41 – синаповая кислота	40,2±1,4	19±1	$(9,8 \pm 0,3) \cdot 10^3$	17±1	-158±6	63
<i>Флавоноиды и их гликозиды</i>						
<i>Флаванолы-3 (катехины)</i>						
42 – катехин	$(2,72 \pm 0,11) \cdot 10^{-3} \text{ a}$	40±2	$(9,7 \pm 0,3) \cdot 10^3$	37±2	-177±8	94
43 – галлокатехин	$(3,83 \pm 0,12) \cdot 10^{-3} \text{ a}$	39±2	$(9,7 \pm 0,3) \cdot 10^3$	36±2	-177±8	93
<i>Флавонолы</i>						
44 – кемпферол	$(4,21 \pm 0,12) \cdot 10^{-3} \text{ a}$	37±2	$(5,02 \pm 0,26) \cdot 10^3$	34±2	-183±8	93
45 – кверцетин	50,4±1,6	16±1	$(3,56 \pm 0,21) \cdot 10^4$	14±1	-166±7	62
46 – изорамнетин	48,1±1,6	18±1	$(7,8 \pm 0,3) \cdot 10^4$	16±1	-159±6	62
47 – морин	55,3±1,6	15±1	$(2,61 \pm 0,14) \cdot 10^4$	13±1	-169±7	62
48 – мирицетин	49,4±1,6	17±1	$(5,26 \pm 0,26) \cdot 10^4$	15±1	-163±7	62
49 – кверцитрин (3-рамнозид кверцетина)	46,5±1,5	18±1	$(7,4 \pm 0,3) \cdot 10^4$	16±1	-160±7	62
50 – рутин (3-глюкорамнозид кверцетина)	44,2±1,5	18±1	$(7,1 \pm 0,3) \cdot 10^4$	16±1	-160±7	62

Примечание: ^a – величины k_{benz} представлены при 318 К.

параметры реакции – энергию активации (E_a), предэкспоненциальный множитель (A), энтальпию (ΔH^\ddagger) и энтропию (ΔS^\ddagger) активации, рассчитать свободную энергию Гиббса (ΔG^\ddagger_{298}) активации реакции при 293 К.

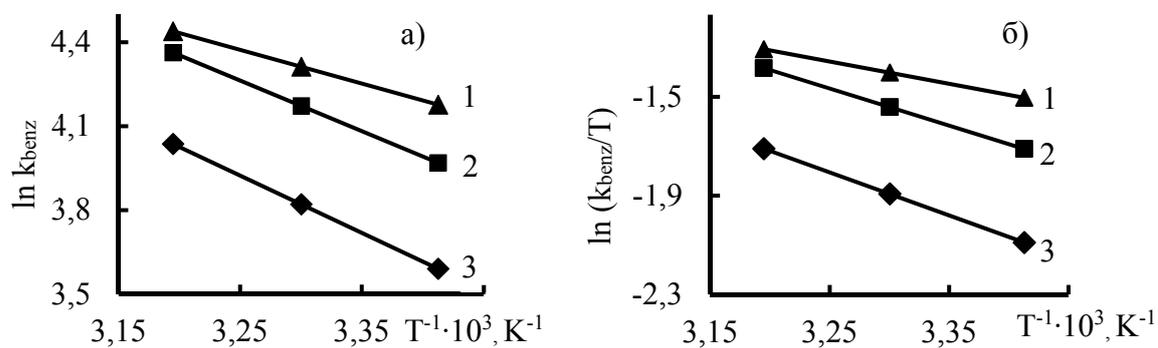


Рис. 1.1.3 – Определение активационных параметров в координатах уравнения Аррениуса (а) и Эйринга (б) для реакции взаимодействия радикала DPPH \cdot с фенолами: 1 – пирогаллол; 2 – гидрохинон; 3 – пирокатехин. Растворитель – бензол

В ряду фенольных соединений, проявляющих более выраженные антирадикальные свойства по отношению к DPPH \cdot при температуре 293 К, наблюдается компенсационный эффект, когда значения энергий активации E_a и предэкспоненциальных множителей A в уравнении Аррениуса для ряда однотипных реакций изменяются симбатно (рис. 1.1.4а), что характерно для процессов, которые различаются лишь структурой одного из реагентов.

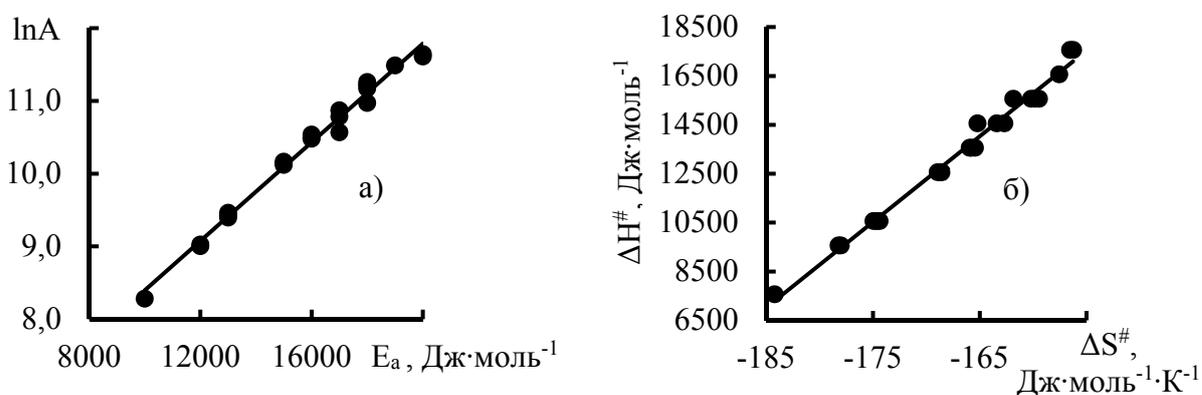


Рис. 1.1.4 – Определение компенсационного эффекта по зависимости логарифма предэкспоненциального множителя ($\ln A$) от энергии активации (E_a) (а) и энтальпии (ΔH^\ddagger) от энтропии активации (ΔS^\ddagger) (б) в реакции DPPH \cdot с фенолами. Растворитель – этанол

В ряду указанных соединений зависимость предэкспоненциального множителя от энергии активации реакции описывается следующим уравнением:

$$\ln A = (5,01 \pm 0,13) + (33,9 \pm 0,8) \cdot 10^{-5} E_a,$$

$$n = 22; \tilde{r} = 0,994; \tilde{r}^2 = 0,988; F = 1697; p < 0,0001; S_{\text{est}} = 0,1; \quad (1.1.1)$$

где n – число опытов; \tilde{r} – коэффициент корреляции; \tilde{r}^2 – коэффициент детерминации; F – критерий Фишера проверки значимости линейной регрессии; p – уровень значимости, при котором может быть принята нуль-гипотеза (о равенстве нулю истинного углового коэффициента уравнения регрессии); S_{est} – стандартная ошибка оценки (или стандартное отклонение ошибок предсказания) является мерой точности величин, предсказанных по предложенной модели.

В результате компенсационного эффекта значения представленных констант скорости близки, поскольку их изменения вследствие изменений E_a частично компенсируются соответствующими изменениями величины A . Аналогичная зависимость (рис. 1.1.4б) наблюдается между энтальпией и энтропией активации:

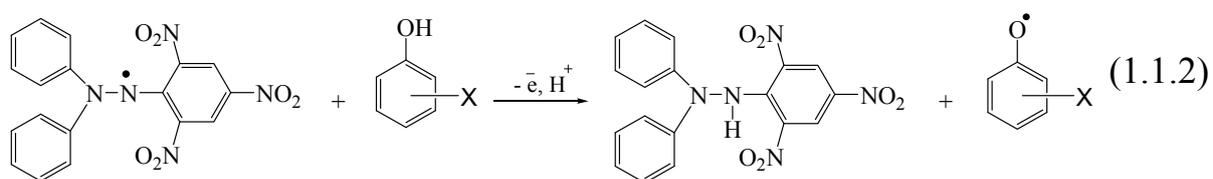
$$H^\# = (7,19 \pm 0,14) \cdot 10^4 + (351 \pm 9) \Delta S^\#,$$

$$n = 22; \tilde{r} = 0,994; \tilde{r}^2 = 0,988; F = 1697; p < 0,0001; S_{\text{est}} = 302,6. \quad (1.1.1a)$$

Изокинетическая температура, при которой все реакции данной серии будут характеризоваться одинаковыми скоростями, определяется по угловому параметру полученной линейной регрессии (1.1.1a) и соответствует 351 К.

Анализ термодинамических параметров активации реакции PhOH с DPPH \cdot в бензоле показал (табл. 1.1.2), что энтропия активации $\Delta S^\#$ имеет отрицательные значения, характерные для бимолекулярных реакций, где образование активного комплекса, более упорядоченного по сравнению с реагентами, сопровождается уменьшением энтропии. Величина свободной энергии Гиббса активации $\Delta G^\#_{298}$, которая является своеобразным энергетическим барьером, отделяющим исходные вещества от продуктов реакции, закономерно снижается для фенолов с высокой реакционной способностью.

В исследуемой реакции гидразильный радикал дезактивируется фенольными соединениями с образованием стабильного продукта – дифенилпикрилгидразина (DPPH–H) и малоактивного феноксильного радикала (PhO \cdot):



Реакция (1.1.2) в неполярных неионизирующих средах (бензол, гексан) протекает в одну стадию и может осуществляться как одновременный перенос электрона и протона с одной и той же атомной орбитали антиоксиданта на радикал, и тогда считают, что это механизм переноса атома водорода (Hydrogen Atom Transfer (HAT)), или как совместный перенос электрона и протона с разных атомных орбиталей антиоксиданта на радикал – механизм сопряженного переноса электрона и протона (Proton-Coupled Electron Transfer (PCET)) [8].

Полноценная реализация HAT/PCET возможна только в неполярных растворителях (S), которые не способны к образованию водородных связей с участием атома Н гидроксигруппы фенола (то есть имеют низкое акцепторное число β^H), поскольку в реакции с радикалом по стерическим соображениям может участвовать только «свободный» PhOH с O–H группой, невовлеченной в образование связи PhOH...S. Это подтверждается экспериментальными значениями констант скоростей реакции фенольных антиоксидантов с DPPH•, которые, например [9], больше в н-гептане ($\beta^H=0$) – растворителе, не поддерживающем образование водородных связей, чем в 1,4-диоксане ($\beta^H=10,8$ [6]), где формирование связи типа PhOH...S возможно.

Поскольку в лимитирующей стадии HAT/PCET участвуют и электрон, и протон, то для этих механизмов можно ожидать проявления дейтериевого изотопного эффекта (DIE). Для изучения DIE проводили получение дейтеропроизводного фенола (PhOD) путем изотопного обмена PhOH с диоксидом дейтерия (D₂O), поскольку в фенольной O–H группе атом водорода связан с кислородом, который имеет свободные электронные пары. В этом случае ион дейтерия присоединяется к свободной электронной паре и одновременно или вслед за этим отщепляется ион водорода от другой электронной пары. Этот процесс не связан с преодолением сколько-нибудь значительного потенциального барьера, поэтому может протекать быстро и при невысоких температурах. Действительно, методом ЯМР-спектроскопии установлено, что в течение первых 2–3 минут большая часть PhOH превращается в соответствующие PhOD при T=293±2K, а за 25–30 мин. происходит соответствующее превращение на 97–99%. Это подтверждается практически полным исчезновением пиков, характеризующих фенольные O–H группы, в интервале от 12,4 до 9,4 м.д. (рис. 1.1.5).

Отметим, что константа скорости реакции DPPH• с легким фенолом (k_{PhOH}) в бензоле больше, чем в присутствии дейтеропроизводного PhOD (k_{PhOD}) (рис. 1.1.6).

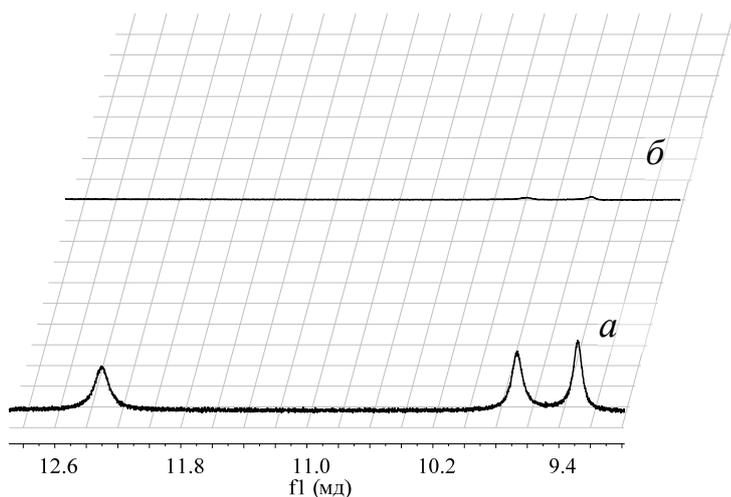


Рис. 1.1.5 – Сопоставление фрагментов ^1H ЯМР-спектров растворов пирогаллола ($C=0,025$ моль·л $^{-1}$) в dmsO-d_6 (а) и смеси $\text{dmsO-d}_6\text{-D}_2\text{O}$ (80:20 об.%) после 26 мин выдерживания при постоянном барботировании аргоном и $T=293\pm 2\text{K}$ (б)

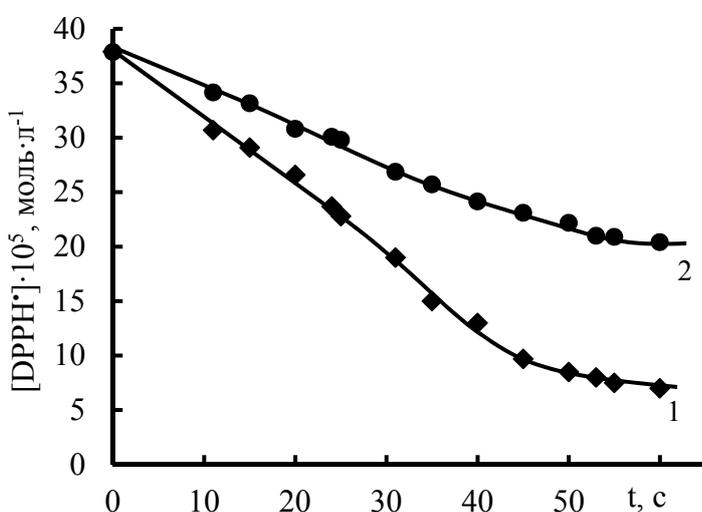


Рис. 1.1.6 – Кинетические кривые расходования $\text{DPPH}\cdot$ в реакции с пирогаллолом (1) ($C=3,79\cdot 10^{-4}$ моль·л $^{-1}$) и его дейтеропродуктом (2) ($C=3,79\cdot 10^{-4}$ моль·л $^{-1}$). Растворитель – бензол. $T=293\pm 2\text{ K}$

Наличие выраженного ДИЭ ($k_{\text{PhOH}}/k_{\text{PhOD}}$) (табл. 1.1.3) подтверждает перенос протона в реакции (1.1.2), а значит, возможна реализация реакции $\text{DPPH}\cdot$ с PhOH в бензоле как по пути НАТ, так и РСЕТ.

Таблица 1.1.3 – Величины дейтериевого изотопного эффекта ДИЭ ($k_{\text{PhOH}}/k_{\text{PhOD}}$) для некоторых групп природных фенолов. $T=293\pm 2\text{ K}$

Соединение	k_{PhOD} , л·моль $^{-1}$ ·с $^{-1}$	$k_{\text{PhOH}}/k_{\text{PhOD}}$
1	2	3
Гидроксibenзолы		
1 – пирокатехин	14,5±0,5	2,5
4 – гидрохинон	20,2±0,8	2,6
6 – пирогаллол	29,6±0,9	2,2
8 – оксигидрохинон	25,2±0,9	2,4
Гидроксibenзойные кислоты		
<i>Дигидроксibenзойные кислоты</i>		
15 – пирокатеховая кислота	14,9±0,6	2,1

Окончание таблицы 1.1.3

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>
18 – гентизиновая кислота	20,6±0,7	2,2
20 – протокатеховая кислота	26,9±0,8	1,9
<i>Тригидроксibenзойные кислоты</i>		
23 – 3-пирогаллолкарбоновая кислота	28,1±0,8	1,9
24 – галловая кислота	30,2±0,9	1,8
25 – сиреневая кислота	15,1±0,6	2,4
27 – этиловый эфир галловой кислоты	33,6±0,9	1,8
<i>Гидроксикоричные кислоты</i>		
39 – кофейная кислота	32,8±0,9	1,9
40 – феруловая кислота	13,1±0,6	2,3
41 – синаповая кислота	15,5±0,5	2,6
<i>Флавоноиды и их гликозиды</i>		
45 – кверцетин	28,1±0,8	1,8
47 – морин	32,5±0,9	1,7
48 – мирицетин	22,5±0,7	2,2
49 – кверцитрин (3-рамнозид кверцетина)	19,4±0,6	2,4
50 – рутин (3-глюкорамнозид кверцетина)	18,4±0,6	2,4

Поскольку указанные механизмы протекают в одну стадию и приводят к одинаковым конечным продуктам, то экспериментально провести границу между ними невозможно, а доказательство того или иного пути протекания требует детального изучения структуры переходного состояния реакции, которое будет проведено в дальнейших исследованиях методами квантовой химии с учетом влияния среды. На данном этапе работы авторы полагали, что механизм переноса атома водорода может реализовываться как по механизму НАТ, так и по РСЕТ.

1.1.2. Влияние энергии гомолитического разрыва O–H связи

Несмотря на то, что многие растительные фенолы одной группы имеют одинаковое количество O–H групп в бензольном кольце (например, моно-, ди- или тригидроксibenзойные кислоты), их активность резко отличается, что делает исследование взаимосвязи «структура – реакционная способность» одним из важнейших аспектов при изучении антиоксидантных свойств фенольных соединений.

В рамках теории функционала плотности (DFT) с использованием гибридного функционала B3LYP [10] (программный пакет Gaussian 09 [11]) были рассчитаны геометрические, электронные и термодинамические характеристики изученных фенолов и соответствующих им радикалов.

Выбор V3LYP обусловлен опубликованными данными [12] об успешном применении этого функционала для ряда соединений фенольного типа, а также результатами, полученными путем сравнения экспериментальных энергий гомолитического разрыва (прочностей) O–H связи (D_{O-H}) в молекулах гидроксibenзолов с таковыми, рассчитанными V3LYP и HF с разными базисными наборами (в газовой фазе при $T=298$ K).

$$D_{O-H} = (H_H^0 + H_{PhO\cdot}^0) - H_{PhOH}^0, \quad (1.1.3)$$

где H_H^0 , $H_{PhO\cdot}^0$, H_{PhOH}^0 – стандартные энтальпии атома водорода, феноксильного радикала и молекулы фенола соответственно.

Установлено (табл. 1.1.4), что наименьшая относительная погрешность расчета порядка 3 – 6 % наблюдается для V3LYP с базисом 6-311++G(d,p), несколько выше – до 10% для 6-311G.

Наибольшая же корреляция экспериментальных значений прочностей O–H связей фенолов с расчетными величинами характерна для валентно-расщепленного набора 6-311G:

$$D_{O-H(расч.)} = -(90 \pm 60) + (1,15 \pm 0,17)D_{O-H(эксп.)}, \\ n = 10; \tilde{r} = 0,926; \tilde{r}^2 = 0,859; F = 48,6; p < 0,00012; S_{est} = 4,5,$$

а также для базисного набора с поляризационными и диффузными функциями 6-311++G(d,p):

$$D_{O-H(расч.)} = (99 \pm 40) + (0,68 \pm 0,11)D_{O-H(эксп.)}, \\ n = 10; \tilde{r} = 0,914; \tilde{r}^2 = 0,835; F = 40; p < 0,00022; S_{est} = 2,9.$$

Таким образом, действительно, для расчета параметров структуры фенольных соединений хорошо зарекомендовал себя метод V3LYP с набором 6-311G и 6-311++G(d,p).

Поиск основных конформеров предварительно осуществляли в рамках полуэмпирического метода PM6 [16]. Структуры с самой низкой электронной энергией использовались в качестве начального приближения для неэмпирического расчета на уровне V3LYP/6-311++G(d,p) (с поляризационными и диффузными функциями на всех атомах) для систем с закрытыми оболочками и UB3LYP/6-311++G(d,p) для систем с открытыми оболочками. В последнем случае контролировались ожидаемые значения оператора квадрата полного электронного спина S^2 : до аннигиляции первой примеси спина значения S^2 лежали в пределах 0,76–0,78, после аннигиляции

Таблица 1.1.4 – Расчетные (D_{O-H} (расч.)) и экспериментальные (D_{O-H} (эксп.)) [13–15] величины прочностей O–H связей молекул гидроксibenзолов

Соединение	D_{O-H} (расч.), кДж·моль ⁻¹								D_{O-H} (эксп.), кДж·моль ⁻¹
	HF/6-31G	HF/6-311G	HF/6-311+G*	HF/6-311++G**	B3LYP/6-31G	B3LYP/6-311G (относительная погрешность расчета, %)	B3LYP/6-311+G*	B3LYP/6-311++G** (относительная погрешность расчета, %)	
Гидроксibenзол	184	184	187	207	410	334 (9,0)	328	347 (5,4)	367
2-метилгидроксibenзол	316	172	174	193	316	324 (9,0)	318	336 (5,7)	356,2
3-метилгидроксibenзол	178	180	180	201	327	334 (8,5)	328	347 (4,9)	365
4-метилгидроксibenзол	181	180	183	203	325	331 (8,0)	320	338 (6,1)	359,8
1,2- дигидроксibenзол	205	232	201	219	340	309 (9,1)	330	330(2,9)	340
1,3-дигидроксibenзол	190	217	193	213	331	338 (8,2)	327	345 (6,3)	368,3
1,4-дигидроксibenзол	180	206	179	199	314	319 (10,5)	307	338 (5,2)	356,5
2-метоксигидроксibenзол	207	207	201	220	339	336 (6,5)	327	344 (4,3)	359,3
3-метоксигидроксibenзол	193	193	198	217	338	343 (6,5)	333	351 (4,4)	367
4-метоксигидроксibenзол	180	180	180	200	312	314 (10)	308	335 (4,1)	349

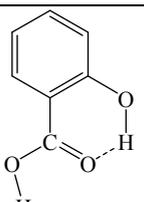
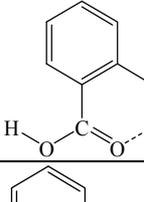
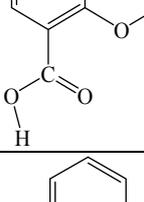
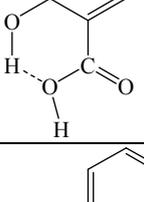
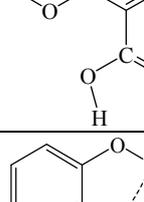
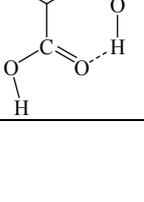
они составили во всех случаях 0,75, что соответствует идеальной величине для чистого дублетного состояния и свидетельствует о незначительном вкладе в волновую функцию состояний с более высокой мультиплетностью [17]. Во всех случаях отклонения от идеального значения были намного ниже 10% до и после аннигиляции, то есть загрязнение спина может быть признано незначительным и не оказывающим существенного влияния на точность структур и энергий исследованных частиц с открытыми оболочками.

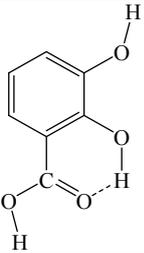
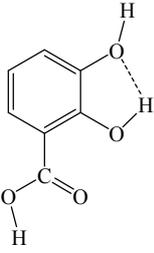
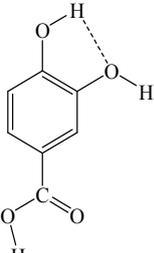
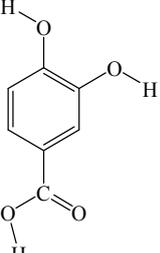
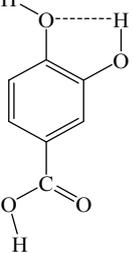
Геометрия всех структур была оптимизирована по всем независимым переменным (условие сходимости по RMS-матрице плотности составляло $1 \cdot 10^{-8}$, по энергии – $1 \cdot 10^{-6}$ а.е.) и без каких-либо ограничений по симметрии. Все полученные результаты относятся к основному состоянию и стандартным условиям ($T = 298$ К, $P = 1$ атм). Первоначально расчеты проводились в газовой фазе (gas) и далее использовались в качестве основы для полной оптимизации геометрии реагентов, интермедиатов и продуктов реакции с учетом влияния растворителя (benz), используя подход поляризуемого континуума PCM [18]. Для построения полости растворенного вещества задавались радиусы атомных сфер из модели силового поля UFF [19]. Для всех равновесных структур был проведен гармонический колебательный анализ с целью тестирования на соответствие минимуму, а также для расчета их термодинамических характеристик.

Поскольку параметром, влияющим на протекание механизма НАТ/РСЕТ (1.1.3), является наименьшая прочность O–H связи в молекуле фенольного соединения, то логично было ожидать корреляционную зависимость между D_{O-H} и реакционной способностью вещества ($\ln k_{benz}$).

Энергии гомолитического разрыва O–H связей в PhOH были рассчитаны по уравнению (1.1.3) с учетом образования водородной связи как между двумя фенольными гидроксигруппами, так и между O–H группой и другими заместителями, такими как $-COOH$, $>C=O$, $-OCH_3$. Важность такого подхода к расчету структурных параметров фенолов подчеркивается в работах [20–22] по изучению антирадикальных свойств гидроксibenзойных кислот и флавоноидов. На примере группы фенолкарбоновых кислот показано (табл.1.1.5), что наименьшая величина прочности характерна для гидроксигруппы, в которой атом H не принимает участия в образовании водородной связи (структуры IX и XI), но при этом O образует водородную связь с соседней O–H группой в орто-положении (IX и X). Причем D_{O-H} возрастает у той фенольной группы, которая взаимодействует с электроотрицательной $>C=O$ карбоксильной группы (I, IV и VI).

Таблица 1.1.5 – Величины прочностей O–H связей (D_{O-H}) и полной электронной энергии (E_{total}) конформеров салициловой (I – V), пирокатеховой (VI – VIII) и протокатеховой (IX – XI) кислот, рассчитанные по методу B3LYP/6-311++G(d,p) в газовой фазе

Структура конформера	Положение O–H группы	D_{O-H} , кДж·моль ⁻¹	E_{total} , а.е.
<i>I</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
(I) 	2	374	-496,205
(II) 	2	347	-496,195
(III) 	2	356	-496,188
(IV) 	2	372	-496,200
(V) 	2	352	-496,189
(VI) 	2	363	-571,455
	3	352	

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
(VII) 	2	380	-571,446
	3	331	
(VIII) 	2	355	-571,436
	3	310	
(IX) 	3	324	-571,447
	4	356	
(X) 	3	341	-571,440
	4	337	
(XI) 	3	354	-571,445
	4	318	

Обращает на себя внимание тот факт, что наличие водородной связи влияет не только на прочность О–Н связи, но и способствует стабилизации структуры молекулы фенольного соединения, что выражается в снижении ее полной электронной энергии (E_{total}) (**I** и **III**, **IV** и **V**, **VI** и **VII**). Конформации с карбоксильной группой, стабилизированной водородной связью, имеют более низкую электронную энергию (**I** и **II**). Аналогичное снижение величины E_{total} наблюдается для конформеров, где фенольная ОН-группа образует более

сильную водородную связь с $>C=O$ (I и IV, VII и VIII). Такие закономерности характерны для всех групп представленных в таблице 1.1.1 природных фенолов.

В таблице 1.1.6 приведены расчетные прочности наиболее слабых O–H связей с учетом установленных особенностей в структуре PhOH. Их величины уменьшаются при переходе из газовой фазы в бензол в среднем на 3–7 кДж·моль⁻¹, что должно способствовать протеканию реакции (1.1.2) по механизму НАТ/PCET.

Таблица 1.1.6 – Расчетные величины прочностей O–H связей молекул природных фенолов в газовой фазе ($D_{O-H(gas)}$) и в бензоле ($D_{O-H(benz)}$), рассчитанные по методу B3LYP/6-311++G(d,p), модель PCM/UFF

Соединение	Положение O–H группы	$D_{O-H(gas)}$ кДж·моль ⁻¹	$D_{O-H(benz)}$, кДж·моль ⁻¹
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
Гидроксibenзолы			
1 – пирокатехин	1	347	340
2 – резорцин	1	345	343
3 – орцин	1	351	347
4 – гидрохинон	1	326	322
5 – метиловый эфир гидрохинона	1	323	320
6 – пирогаллол	1	315	312
7 – флороглюцин	1	351	348
8 – оксигидрохинон	1	320	317
Гидроксibenзойные кислоты			
<i>Моногидроксibenзойные кислоты</i>			
9 – салициловая кислота	2	352	349
10 – 3-метилсалициловая кислота	2	351	347
11 – метиловый эфир 3-метилсалициловой кислоты	2	349	345
12 – 3-гидроксibenзойная кислота	3	346	342
13 – 4-гидроксibenзойная кислота	4	345	341
14 – этиловый эфир 4-гидроксibenзойной кислоты	4	344	339
<i>Дигидроксibenзойные кислоты</i>			
15 – пирокатеховая кислота	3	344	341
16 – β-резорциловая кислота	4	356	351
17 – метиловый эфир β-резорциловой кислоты	4	363	358
18 – гентизиновая кислота	5	332	328
19 – γ-резорциловая кислота	2	348	344
20 – протокатеховая кислота	3	325	322
21 – α-резорциловая кислота	3	351	347
22 – ванилиновая кислота	4	353	348
<i>Тригидроксibenзойные кислоты</i>			
23 – 3-пирогаллолкарбоновая кислота	3	326	321

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
24 – галловая кислота	3	328	320
25 – сиреневая кислота	4	339	335
26 – метиловый эфир галловой кислоты	3	326	319
27 – этиловый эфир галловой кислоты	3	324	318
28 – флороглюцинкарбоновая кислота	4	351	345
Гидроксикоричные кислоты			
36 – о-кумаровая кислота	2	349	342
37 – м-кумаровая кислота	3	343	339
38 – п-кумаровая кислота	4	341	338
39 – кофейная кислота	3	319	314
40 – феруловая кислота	4	348	342
41 – синаповая кислота	4	336	330
Флавоноиды и их гликозиды			
<i>Флаванолы-3 (катехины)</i>			
42 – катехин	3'	354	348
43 – галлокатехин	3'	351	346
<i>Флавонолы</i>			
44 – кемпферол	4'	348	342
45 – кверцетин	3'	327	321
46 – изорамнетин	4'	328	323
47 – морин	4'	325	318
48 – мирицетин	3'	324	320
49 – кверцитрин (3-рамнозид кверцетина)	3'	328	325
50 – рутин (3-глюкорамнозид кверцетина)	3'	326	324

Показано (рис. 1.1.7), что в бензоле с ростом $D_{O-H(benz)}$ значения экспериментальной константы скорости уменьшаются:

$$\ln k_{benz} = (12,1 \pm 0,4) - (25,2 \pm 1,4) \cdot 10^{-3} D_{O-H(benz)},$$

$$n = 22; \tilde{r} = 0,972; \tilde{r}^2 = 0,944; F = 335; p < 0,00001; S_{est} = 0,05. \quad (1.1.4)$$

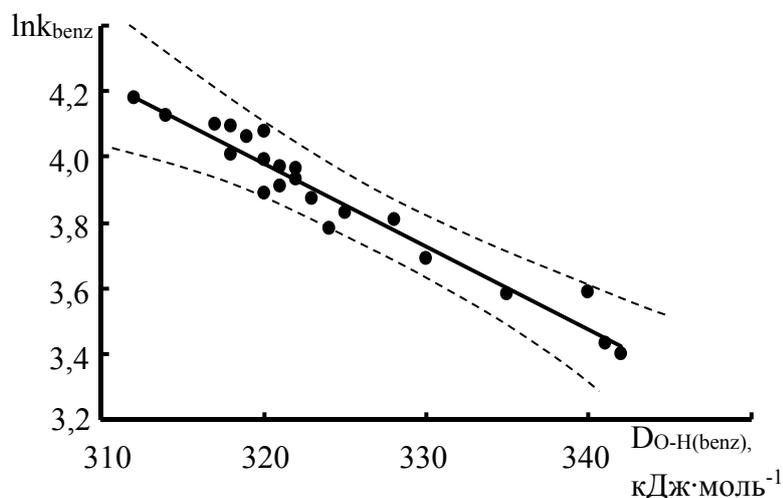


Рис. 1.1.7 – Однофакторная линейная регрессионная зависимость $\ln k_{benz}$ от $D_{O-H(benz)}$

Установленная линейная однофакторная регрессионная зависимость (1.1.4) характеризуется высоким коэффициентом корреляции \tilde{r} , а также \tilde{r}^2 , который показывает, что изменение $\ln k_{\text{benz}}$ на 94,4 % обусловлено изменением $D_{\text{O-H(benz)}}$, влияние посторонних факторов составляет 5,6 %. Все полученные результаты входят в границы доверительного интервала; высокое значение F-критерия проверки значимости линейной модели регрессии ($F=335$) и его низкий уровень значимости ($p=0,00001$), при котором может быть принята нуль-гипотеза (о равенстве нулю истинного углового коэффициента уравнения регрессии), свидетельствуют об адекватности полученной линейной модели.

Для всех представленных групп растительных фенолов существует ряд общих закономерностей в изменении $D_{\text{O-H(benz)}}$ в зависимости от структуры молекулы:

- если функциональная фенольная О–Н группа расположена в орто- или пара-положении по отношению к другой электронодонорной гидроксигруппе, то прочность ее связи снижается;
- если фенольная группа расположена в мета-положении по отношению к электроноакцепторной карбоксильной –СООН или кетогруппе $>C=O$, то прочность ее О–Н связи снижается;
- если атом Н фенольной группы участвует в образовании водородной связи, то прочность О–Н связи повышается.

Изменения в прочности О–Н связей функциональных групп молекул PhOH приводят к соответствующим изменениям в их реакционной способности по отношению к гидразильному радикалу в неполярных средах. Так, в группе гидроксибензолов с ростом числа О–Н групп в молекуле снижается величина $D_{\text{O-H}}$, а реакционная способность веществ (k_{benz}) повышается. Исключение составляют мета-гидроксибензолы (соединения **2**, **3**, **7**), где независимо от числа гидроксигрупп, величина прочности О–Н связи велика, а антирадикальная активность крайне низкая.

Увеличение числа фенольных групп не означает их безусловное участие в реакции с гидразильным радикалом. Согласно установленным порядкам реакции по веществу (рис. 1.1.2) в реакции (1.1.2) на одну молекулу фенола приходится одна молекула радикала независимо от того, к какой группе природных фенолов принадлежит исследуемое вещество. Иначе говоря, в элементарный химический акт вступает только одна группа О–Н с наименьшей прочностью связи, остальные гидроксигруппы в молекуле фенола выполняют роль электронодонорных заместителей.

Введение в молекулу фенола электроноакцепторной карбоксильной группы –COOH приводит к резкому уменьшению антирадикальной активности вещества, что четко проявляется в крайне низких величинах k_{benz} для моногидроксibenзойных кислот и их эфиров (соединения **9 – 14**). Увеличение числа гидроксигрупп в молекулах фенолкарбоновых кислот способствует повышению их реакционной способности в ряду: моно- < ди- < тригидроксibenзойные кислоты.

Среди дигидроксibenзойных кислот наиболее активны в реакции с гидразильным радикалом пирокатеховая, гентизиновая и протокатеховая кислоты. У всех этих соединений (**15, 18, 20**) гидроксигруппа с наиболее слабой O–H связью расположена в мета-положении к электроноакцепторной карбоксильной группе (то есть не имеет с ней прямого сопряжения) и в орто- или пара-положении по отношению ко второй гидроксигруппе. У остальных соединений данного ряда O–H группы находятся либо в прямом пара- или орто-сопряжении с –COOH (**16, 17, 19, 22**), либо в мета-положении по отношению ко второй O–H группе (**21**).

Тригидроксibenзойные кислоты закономерно проявили наиболее выраженные антирадикальные свойства (соединения **23 – 27**). Причем эфиры галловой кислоты (**26, 27**), где карбоксильная группа заменена на менее электроноакцепторную сложноэфирную группу, более активны, чем соответствующая кислота (**24**). Исключение составила флороглюцинкарбоновая кислота (**28**), не проявившая высокой активности по отношению к DPPH^{*}. На примере этого соединения проявляются основные тенденции в строении, приводящие к росту прочности O–H связи и падению реакционной способности вещества: одна фенольная группа находится в мета-положении по отношению к двум другим гидроксигруппам, которые в свою очередь находятся в орто-сопряжении с карбоксильной группой.

Гидроксикоричные кислоты (**36–41**) проявляют более высокую антирадикальную активность, чем соответствующие гидроксibenзойные кислоты (**9, 12, 13, 20, 22, 25**), что связано с наличием винильного мостика, ослабляющего негативное электроноакцепторное влияние карбоксильной группы на функциональную O–H группу, а также способствующего стабилизации образующего феноксильного радикала.

Анализируя группу флавоноидов, следует отметить четыре структурных фрагмента (рис. 1.1.8), каждый из которых вносит определенный вклад в общую антиоксидантную активность вещества [23–25]:

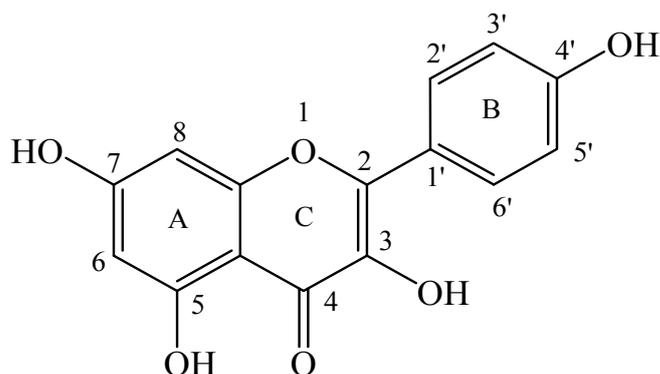


Рис. 1.1.8 – Структура соединения группы флавоноидов

1. Наличие двойной связи в положении 2, 3 и карбонильной группы $>C=O$ приводит к образованию сопряженной системы, которая предотвращает раскрытие пиранового цикла С в щелочных и кислых средах, способствует стабилизации образующегося феноксильного радикала, тем самым препятствуя непродуктивному расходованию флавоноида и повышая его антиоксидантные свойства.
2. О–Н группы в положениях 3 и 5 не участвуют в дезактивации радикалов, но при этом активно связывают металлы переменной валентности в комплексы (хелаты), что делает флавоноиды довольно эффективными дезактиваторами металлов.
3. Гидроксигруппы кольца А в положениях 5 и 7 имеют, как правило, очень высокие прочностные связи, поэтому не участвуют в реакции с радикалами в неполярных (липидных) средах, но при этом первыми склонны к диссоциации, образуя фенолят-ионы, и обеспечивая высокую антирадикальную активность флавоноидов в реакциях переноса электрона в водных средах.
4. Наименьшие энергии гомолитического разрыва характерны для О–Н связей гидроксигрупп кольца В, что делает этот фрагмент ответственным за реакцию со свободными радикалами в неполярных средах по механизму переноса атома водорода НАТ/РСЕТ.

В настоящее время не существует общей теории, позволяющей связать структуру флавоноидов с их антиоксидантной активностью, однако можно предположить, что существует определенная специализация флавоноидов при защите организма от различных повреждающих агентов.

Наличие того или иного фрагмента может как усиливать, так и ослаблять реакционную способность флавоноидов. Так, соединения группы флаванолов-3,4 (катехинов) (42–43) проявили крайне низкую антирадикальную активность, что может быть связано не только с высокими прочностями рвущихся О–Н связей (табл. 1.1.6), но и с непродуктивным

расходом вещества в реакциях полимеризации и поликонденсации, к которым склонны все катехины [2, 5, 23] вследствие их крайней неустойчивости из-за отсутствия двойной связи в положении 2, 3 и карбонильной группы $>C=O$ кольца С.

Среди флавонолов как наиболее устойчивой и эффективной группы антиоксидантов фактически все исследуемые соединения **45–50** проявили достаточно высокую активность по отношению к гидразильному радикалу. Заметна явная зависимость величины k_{benz} от количества О–Н групп в кольце В: чем меньше их количество, тем ниже реакционная способность вещества (соединение **44**). Гликозиды флавоноидов – кверцитрин и рутин – проявили несколько более низкую активность, чем их агликон – кверцетин, что, по-видимому, связано с влиянием объемной гликозидной группы в положении 3 не только на величину $D_{\text{O-H}}$, но и на подвижность молекулы в реакции с радикалом (1.1.2).

Резюмируя экспериментальные данные по дейтериевому изотопному эффекту и проведенный регрессионный анализ взаимосвязи «структура–реакционная способность вещества» (уравнение 1.1.4), можно сделать заключение, что взаимодействие стабильного гидразильного радикала DPPH^{\bullet} с фенольными соединениями растительного происхождения в апротонных неполярных средах, имитирующих липидную фазу в биологических системах, будет протекать по механизму переноса атома водорода НАТ/РСЕТ. В данной реакции подавляющее большинство исследуемых соединений группы тригидроксibenзойных кислот и флавонолов зарекомендовали себя как наиболее эффективные дезактиваторы радикалов. Их высокая реакционная способность позволяет надеяться на их активность по отношению и к другим радикалам, в том числе пероксирадикалам, что должно обуславливать высокую антиоксидантную активность этих фенолов в процессах радикально-цепного окисления в живых организмах и органических веществах.

1.1.3. Сравнительный анализ реакционной способности природных фенолов с азот- и кислородцентрированными радикалами

Реакционная способность фенолов, установленная в реакции с DPPH^{\bullet} в бензоле (табл. 1.1.2), исследовалась относительно пероксирадикалов, имеющих другую химическую природу и широко распространенных в искусственных и природных системах. Для проверки прогнозируемой реакционной способности антиоксидантов использовали природные фенолы разных групп (табл. 1.1.1)

Реакция фенолов с пероксильными радикалами этилбензола ($\text{ArCH}(\text{CH}_3)\text{OO}\cdot$) изучалась в процессе иницированного окисления углеводорода в интервале температур 333–353К [26]. Выбор этилбензола (ЭТБ) в качестве источника пероксирадикалов обусловлен тем, что процесс окисления этого углеводорода является одной из наиболее хорошо исследованных модельных систем жидкофазного окисления. В исследуемом интервале температур возможно использование хорошо изученного и широко распространенного инициатора окисления – азодиизобутиронитрила (АИБН). Скорость иницирования (v_i) процесса окисления этилбензола рассчитывалась по формуле:

$$v_i = 2e \cdot k_p \cdot [\text{АИБН}],$$

где k_p – константа скорости распада инициатора на радикалы: $k_p = 1,58 \cdot 10^{15} \exp(-(30800 \pm 250)/RT) \text{ c}^{-1}$; e – выход радикалов из клетки: $2e_{333} = 1,20$, $2e_{343} = 1,32$, $2e_{353} = 1,45$ [27].

Скорость иницирования варьировали в интервале $(2-7) \cdot 10^{-7} \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$. Для изучения кинетики взаимодействия фенолов с пероксирадикалами применялись газовольюмометрический и хемилюминесцентный методы. Количественно активность фенолов в реакции с пероксирадикалами характеризовали константой скорости реакции (k_7):



На представленных в качестве примера кинетических кривых поглощения кислорода (рис. 1.1.9а) при окислении этилбензола в присутствии фенолов (реакция 1.1.5) четко видны периоды индукции (τ). Наличие на кинетических кривых поглощения кислорода периодов индукции свидетельствует об антиоксидантном действии фенолов, а прямолинейная зависимость τ от концентрации фенола (рис.1.1.9 б) подтверждает участие фенолов (PhOH) в линейном обрыве цепей окисления по реакции с пероксирадикалами этилбензола.

Стехиометрический коэффициент ингибирования f для исследуемых ингибиторов (табл. 1.1.7) рассчитывали по формуле [28] используя экспериментально определяемую величину периода индукции (τ):

$$f = \frac{\tau \cdot v_i}{[\text{PhOH}]_0}, \quad (1.1.6)$$

где $[\text{PhOH}]_0$ - начальная концентрация фенола.

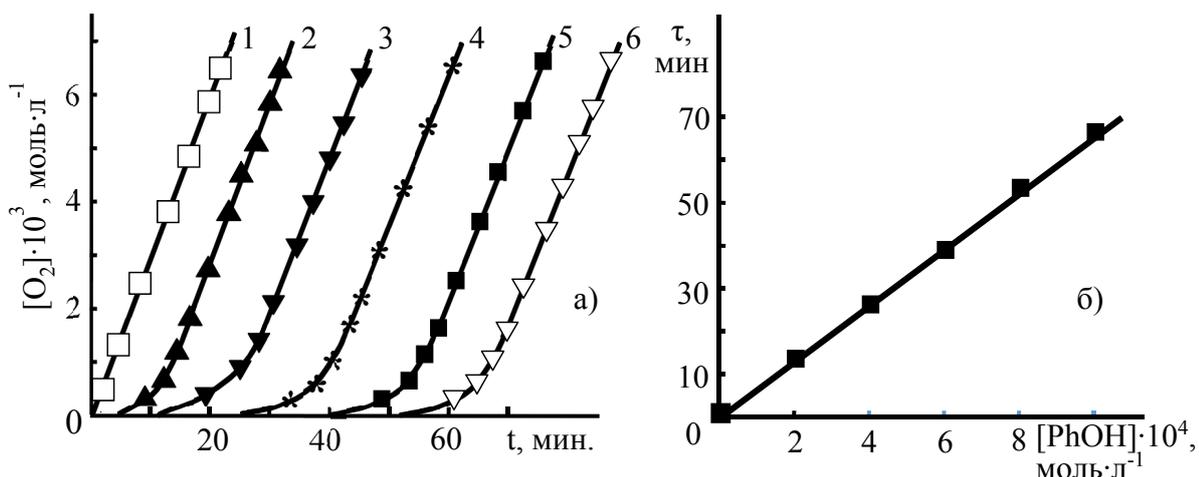


Рис. 1.1.9 – Кинетические кривые поглощения кислорода в процессе инициированного (АИБН) окисления этилбензола в присутствии галловой кислоты (моль·л⁻¹): а) 1– без добавок фенола, 2 – $2 \cdot 10^{-4}$, 3 – $4 \cdot 10^{-4}$, 4 – $6 \cdot 10^{-4}$, 5 – $8 \cdot 10^{-4}$, 6 – $1 \cdot 10^{-3}$; б) зависимость периода индукции окисления от концентрации галловой кислоты. $v_i = 4,9 \cdot 10^{-7}$ моль·л⁻¹·с⁻¹. T=343K

Таблица 1.1.7 – Параметры антирадикальной активности (АРА) фенолов при инициированном окислении этилбензола. $v_i = 4,9 \cdot 10^{-7}$ моль·л⁻¹·с⁻¹. T=333 K

Соединение	f газов.	f хем.	k ₇ , л·моль ⁻¹ ·с ⁻¹	
			по уравнению 1.1.7	по уравнению 1.1.8
27 – этиловый эфир галловой кислоты	2,1	2,4	$(1,22 \pm 0,05) \cdot 10^5$	$(4,45 \pm 0,21) \cdot 10^5$
24 – галловая кислота	1,8	1,9	$(1,04 \pm 0,05) \cdot 10^5$	$(4,32 \pm 0,21) \cdot 10^5$
39 – кофейная кислота	1,6	2,0	$(8,9 \pm 0,3) \cdot 10^4$	$(8,9 \pm 0,3) \cdot 10^4$
45 – кверцетин	2,0	2,5	$(7,4 \pm 0,3) \cdot 10^4$	$(7,2 \pm 0,3) \cdot 10^4$
20 – протокатеховая кислота	1,8	2,2	$(5,6 \pm 0,3) \cdot 10^4$	$(5,23 \pm 0,52) \cdot 10^4$
25 – сиреневая кислота	1,4	1,5	$(3,52 \pm 0,15) \cdot 10^4$	$(3,74 \pm 0,15) \cdot 10^4$
40 – феруловая кислота	1,0	1,3	$(1,63 \pm 0,09) \cdot 10^4$	$(1,71 \pm 0,09) \cdot 10^4$
50 – рутин	1,0	1,2	$(3,21 \pm 0,15) \cdot 10^4$	$(1,15 \pm 0,05) \cdot 10^4$
22 – ванилиновая кислота	0,6	0,7	$(1,09 \pm 0,05) \cdot 10^4$	$(1,09 \pm 0,05) \cdot 10^4$
7 – флороглюцин	1,7	1,8	$(6,5 \pm 0,3) \cdot 10^3$	$(6,9 \pm 0,3) \cdot 10^3$
13 – 4-гидроксibenзойная кислота	0,5	0,5	$(2,11 \pm 0,11) \cdot 10^3$	$(2,24 \pm 0,12) \cdot 10^3$

Прямое подтверждение взаимодействия фенолов с пероксирадикалами этилбензола, приводящего в итоге к обрыву цепей окисления, получено хемилюминесцентным методом. Установлено, что введение в окисляющийся этилбензол фенолов растительного происхождения приводит к резкому снижению хемилюминесцентного свечения. Однако, хемилюминесцентный метод не всегда применим для количественной оценки антирадикальной активности соединений [29]. В связи с этим была проведена предварительная

проверка возможности его использования для оценки активности фенолов в реакции с пероксирадикалами ЭТБ. Отсутствие свечения в хлорбензольных растворах изученных веществ свидетельствует о том, что хемиллюминесценция самих фенолов в отсутствие субстрата окисления (RH) в условиях эксперимента не наблюдается. Было также установлено, что фенолы не являются физическими тушителями хемиллюминесценции. Для этого сопоставляли начальные скорости окисления ЭТБ, определенные газовольнометрическим методом, без добавки фенола (v_0) и в его присутствии (v) с соответствующими интенсивностями хемиллюминесцентного свечения (I_0 и I) в одинаковых условиях эксперимента. Выполнение соотношений между скоростями окисления и соответствующими интенсивностями хемиллюминесцентного свечения

$$\frac{v}{v_0} = \frac{[RO_2^*]}{[RO_2^*]_0} = \sqrt{\frac{I}{I_0}}$$

свидетельствует о том, что исследуемые соединения не являются физическими тушителями возбужденных молекул, а выступают химическими ингибиторами реакции окисления, уменьшая концентрацию пероксирадикалов (RO_2^*).

Известно [29], что хемиллюминесцентный метод, в отличие от газовольнометрического, считается более строгим и точным и может быть применен для измерения любых значений k_7 . В этом методе меньше вероятность осложнений, связанных с побочными реакциями молекул и радикалов антиоксиданта. Ошибки в определении констант газовольнометрическим методом (рабочие концентрации антиоксиданта на 1-3 порядка выше, чем в хемиллюминесцентном методе) связаны с некоторой некорректностью квазистационарного приближения для антиоксидантов с высокими значениями k_7 . Необходимо также иметь в виду возможность ослабления эффекта антиоксидантного действия фенолов с увеличением их концентрации в системе за счет окисления их кислородом и гидропероксидом. Исходя из сказанного выше, при дальнейшем обсуждении кинетики и механизма ингибирующего действия фенолов использовали кинетические параметры, полученные хемиллюминесцентным методом.

В качестве примера, на рис. 1.1.10 приведены кинетические кривые изменения относительной интенсивности хемиллюминесценции (I/I_0) при инициированном окислении этилбензола в присутствии различных фенолов.

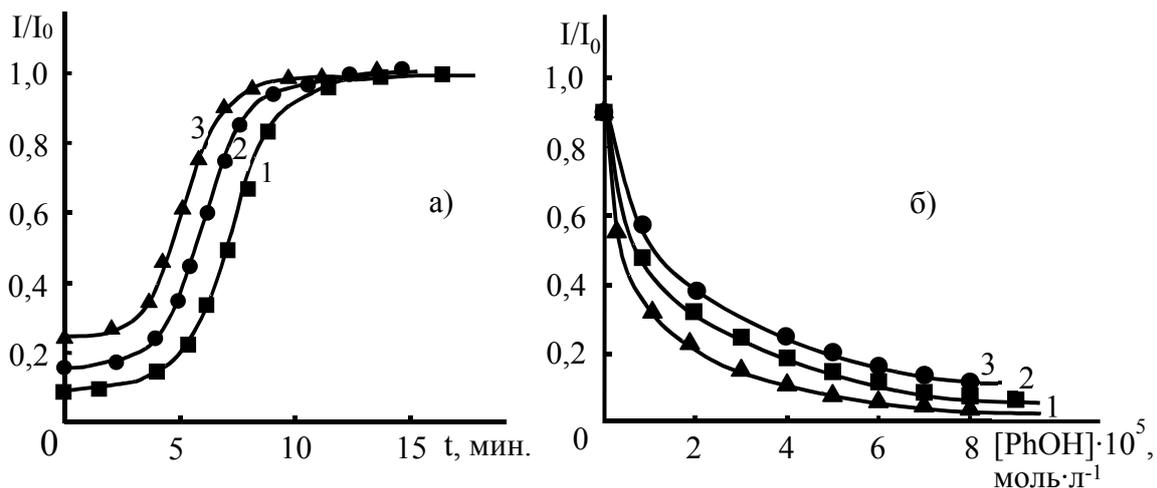


Рис. 1.1.10 – а) Кинетические кривые изменения относительной интенсивности хемилюминесценции (I/I_0) при инициированном окислении этилбензола в присутствии протокатеховой кислоты (моль·л⁻¹): 1 – $7 \cdot 10^{-5}$, 2 – $5 \cdot 10^{-5}$, 3 – $3 \cdot 10^{-5}$; б) зависимость I/I_0 от концентрации фенолов: 1 – кофейной кислоты, 2 – протокатеховой кислоты, 3 – сиреневой кислоты. $T=343\text{K}$. $\nu_i=4,9 \cdot 10^{-7}$ моль·л⁻¹·с⁻¹

Видно, что чем больше концентрация введенного ингибитора, тем больше падение интенсивности свечения (рис. 1.1.10 а, б), определенное в момент введения ингибитора.

В присутствии фенола интенсивность свечения остается пропорциональной квадрату концентрации пероксильных радикалов, а зависимость интенсивности свечения от концентрации ингибитора количественно характеризует падение концентрации пероксильных радикалов по мере увеличения концентрации ингибитора. Эта зависимость выражается уравнением [13, 15]:

$$\frac{[RO_2^*]_0}{[RO_2^*]} = \sqrt{\frac{I_0}{I}} = 1 + 1,1 \frac{k_7}{\sqrt{k_6 \nu_i}} [PhOH]. \quad (1.1.7)$$

Линейная зависимость $\sqrt{I_0/I}$ от концентрации антиоксиданта (рис.1.1.11) удовлетворительно выполняется с угловым коэффициентом

$$\text{tg}\varphi = (1,1 \pm 0,1)\beta, \text{ где } \beta = k_7 / \sqrt{k_6 \nu_i}.$$

Используя известные для этилбензола значения константы скорости рекомбинации пероксирадикалов ($\text{ArCH}(\text{CH}_3)\text{OO}^*$) k_6 , рассчитанные из уравнения $k_6 = 10^{(8,6 \pm 0,2)} \exp(-(4000 \pm 250)/RT)$ л·моль⁻¹·с⁻¹ [27], можно получить величину k_7 .

По мере расходования в системе ингибитора постепенно восстанавливается прежний уровень свечения, кинетическая кривая хемилюминесценции имеет S-образную форму (рис.1.1.10а). Максимальный угловой коэффициент такой кривой равен [13, 15]:

$$\left[\frac{d(I/I_0)}{dt} \right]_{\max} = 0,22 \frac{k_7}{\sqrt{k_6}} \sqrt{v_i} . \quad (1.1.8)$$

Уравнение (1. 1.8) дает возможность рассчитать константу скорости взаимодействия фенола с пероксильными радикалами этилбензола еще одним способом.

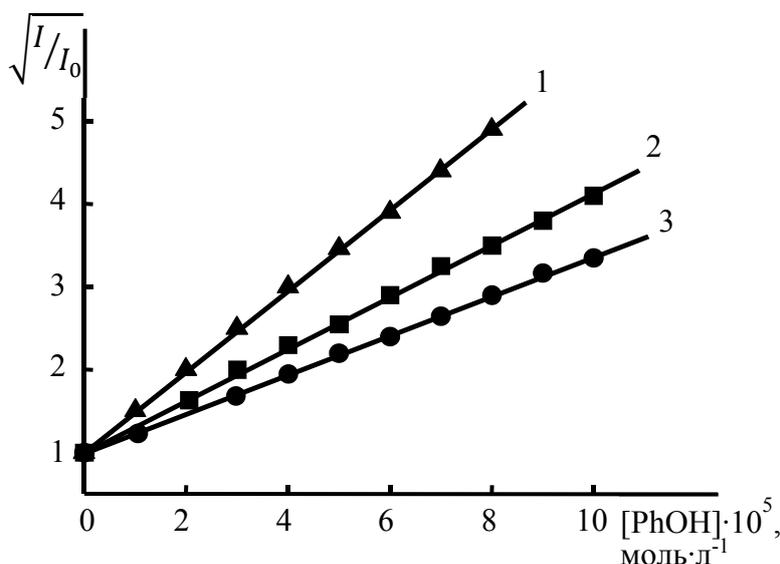


Рис. 1.1.11 – Зависимость относительной интенсивности (I_0/I) хемилюминесценции в реакции окисления этилбензола от концентрации фенолов: 1 – кофейной кислоты, 2 – протокатеховой кислоты, 3 – сиреневой кислоты. $T=343K$. $v_i=4,9 \cdot 10^{-7}$ моль · л⁻¹ · с⁻¹

Рассчитанные с использованием этих уравнений значения k_7 , приведены в табл. 1.1.7, из которой видно, что константы скорости реакции, определенные с использованием двух способов обработки хемилюминесцентных кривых, для большинства соединений имеют значения, совпадающие в пределах погрешности измерений (~7 – 8%). Следует отметить, что для изученных фенолов по мере их расходования в окисляющейся системе, интенсивность хемилюминесцентного свечения восстанавливается до первоначального значения, соответствующего $I/I_0=1$ (рис.1.1.10а), что говорит об отсутствии антиоксидантного действия у продуктов превращения фенолов. Для характеристики реакционной способности фенолов по отношению к пероксирадикалам использовали значения k_7 (табл. 1.1.7), определенные по уравнению (1.1.7), позволяющему рассчитывать константы k_7 для фенолов с разной антиоксидантной активностью.

Экспериментальные значения стехиометрических коэффициентов ингибирования f исследуемых фенольных антиоксидантов, полученные хемилюминесцентным и газовой хроматографическим методами, представлены в табл. 1.1.7, из которой видно, что определенные двумя разными методами значения f не имеют существенных различий. Следует учитывать тот факт, что этот параметр не есть однозначной функцией только структуры антиоксиданта и является эффективной величиной. Значения f могут меняться в широких пределах в зависимости от деталей механизма ингибированного окисления, а именно от активности радикалов, образующихся из ингибитора (In^{\cdot}), вклада побочных реакций с участием антиоксиданта, условий окисления. Более низкие значения ($f \approx 1$) для фенолов с невысокой АРА (табл. 1.1.7) могут быть обусловлены дальнейшим исчезновением радикала ингибитора в реакциях продолжения цепи, а молекул фенолов в реакциях непродуктивного расходования. Наиболее реакционноспособные орто-полигидроксифенолы независимо от числа входящих в их состав О–Н групп имеют $f \approx 2$, что может свидетельствовать об участии одной О–Н группы в реакции с пероксирадикалами этилбензола.

Анализ полученных значений k_7 (табл. 1.1.7) показывает, что эти константы изменяются в границах двух порядков и зависят от структуры молекул антиоксидантов [26]. Установлено, что как и в реакции с $DPPH^{\cdot}$, реакционная способность фенолов в реакции с $ArCH(CH_3)OO^{\cdot}$ определяется не количеством О–Н групп в молекуле фенола, а активностью гидроксигруппы с наименьшей энергией гомолитического разрыва связи. Прочность этой связи зависит от положения группы в ароматическом цикле, а также наличия других заместителей, их природы и положения. Значения прочностей наиболее слабых связей О–Н в молекулах исследуемых фенолов представлены в таблице 1.1.6.

Кверцетин имеет в составе молекулы пять О–Н групп, но, по результатам расчета, наиболее реакционноспособной является одна из двух О–Н групп в орто-положении, в частности в положении 4' (табл. 1.1.6). Флавоноиды (кверцетин) проявляют большую активность в реакции с пероксирадикалами, чем их гликозиды (рутин). Реакционная способность фенолкарбоновых кислот в реакции с $ArCH(CH_3)OO^{\cdot}$ определяется влиянием на активность О–Н группы электроноакцепторной карбоксильной группы в пара-положении и электронодонорных заместителей в орто-положениях к ней. Высокая АРА этилового эфира галловой кислоты обусловлена гидроксигруппой, расположенной в мета-положении к сложноэфирной группе

и имеющей наименьшую прочность связи. Снижению прочности этой связи способствует наличие О–Н групп в орто-положении к ней. Возможное образование внутримолекулярной водородной связи с участием атома кислорода от этой О–Н группы повышает ее активность в реакции с пероксирадикалами этилбензола. Уменьшение количества О–Н групп в составе молекулы протокатеховой кислоты приводит к снижению ее АРА по сравнению с таковой у галловой кислоты. Кофейная кислота с двумя гидроксигруппами в орто-положении молекулы и электроноакцепторной карбоксильной группой, отделенной винильным мостиком от ароматического цикла, более активна в реакции с $\text{ArCH}(\text{CH}_3)\text{OO}^\bullet$, чем протокатеховая кислота. Это объясняется, во-первых, удаленностью электроноакцепторной карбоксильной группы от ароматического цикла за счет винильного мостика, во-вторых, группа $-\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$ участвует в стабилизации радикалов у производных коричной кислоты. Аналогичная закономерность в изменении активности со строением наблюдается для феруловой и ванилиновой кислот. Дезактивирующее влияние карбоксильной группы в составе парагидроксибензойной кислоты частично компенсируется в составе ванилиновой и сиреневой кислот электронодонорными метоксигруппами в орто-положении к О–Н группе. Наличие в составе молекулы флороглюцина трех О–Н групп в мета-положении с одинаково высокими прочностями связей (табл. 1.1.6) обуславливает его низкую АРА.

Таким образом, наиболее активны в реакции с пероксирадикалами этилбензола, равно как и с радикалом DPPH^\bullet , галловая кислота и ее этиловый эфир, кофейная кислота, кверцетин. Низкую активность в реакции как с пероксильным, так и с гидразильным радикалом проявили ванилиновая кислота, флороглюцин и 4-гидроксибензойная кислота (табл. 1.1.2, 1.1.7). Сопоставление констант скоростей реакции фенолов с $\text{ArCH}(\text{CH}_3)\text{OO}^\bullet$ (k_7) и с DPPH^\bullet (k_{benz}) (рис. 1.1.12) свидетельствует о симбатном изменении констант в ряду фенолов и общности НАТ механизма этих реакций в апротонных средах.

Основываясь на результатах АРА природных фенолов в модельных реакциях с радикалами DPPH^\bullet и $\text{ArCH}(\text{CH}_3)\text{OO}^\bullet$ в неполярных средах, исследовался тот же ряд природных фенолов в реакции с пероксирадикалами подсолнечного масла.

Антиокислительная стабилизация масел и жиров является важной практической проблемой, которая может быть решена путем использования природных фенольных антиоксидантов. Практическое применение растительных фенолов для торможения радикально-цепных процессов

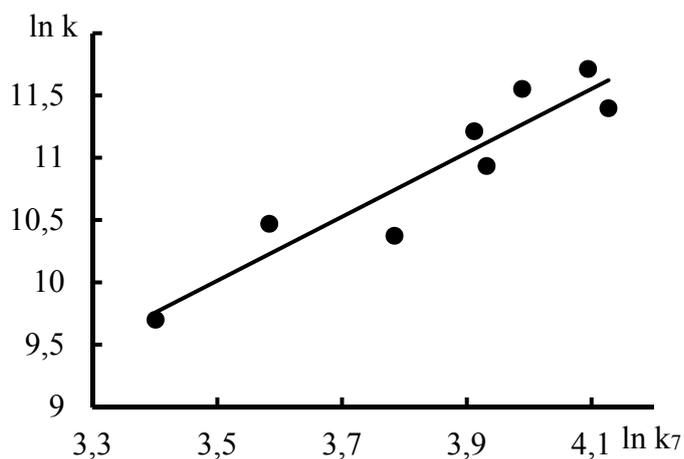


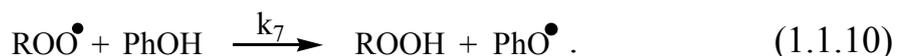
Рис. 1.1.12 – Зависимость между логарифмами констант скоростей реакции фенолов с $\text{ArCH}(\text{CH}_3)\text{OO}^\bullet$ (333K) ($\ln k_7$) и с DPPH^\bullet (293K) ($\ln k_{\text{benz}}$)

окисления в подсолнечном масле должно основываться на результатах оценки их антиоксидантной активности и учитывать особенности действия фенолов в субстрате сложного состава.

Для определения кинетических параметров антиоксидантного действия ($k_7/\sqrt{k_6}$, τ) фенолов в процессе окисления масла был использован, как и в случае с ЭТБ, метод хемилюминесценции, основанный на возникновении свечения (I_0) в процессах гомолитического окисления кислородом органических веществ [30]. Электронно-возбужденные продукты этой реакции образуются, как правило, в актах рекомбинации пероксильных (ROO^\bullet) радикалов:



В присутствии ингибиторов реакция между пероксильными радикалами подавляется и ХЛ-свечение падает (I) или полностью исчезает:



Иницированное (АИБН) окисление подсолнечного масла с активатором ДБА (9,10-дибромантрацена) или без него проводилось в растворе хлорбензола (1:1). Фенольный антиоксидант вводился в систему после полного расходования природных антиоксидантов масла – токоферолов и выхода ХЛ-свечения на стационарный уровень (I_0) [31]. На рис. 1.1.13 приведены три типа кинетических кривых изменения I/I_0 при введении в масло исследуемых фенолов. Как видно из рисунка 1.1.13а, только для ионола, взятого в качестве антиоксиданта сравнения, и сиреневой кислоты кинетическая кривая имеет классический вид (свечение падает при введении ингибитора (I), а потом по мере расходования антиоксиданта восстанавливается до первоначального уровня (I_0)).

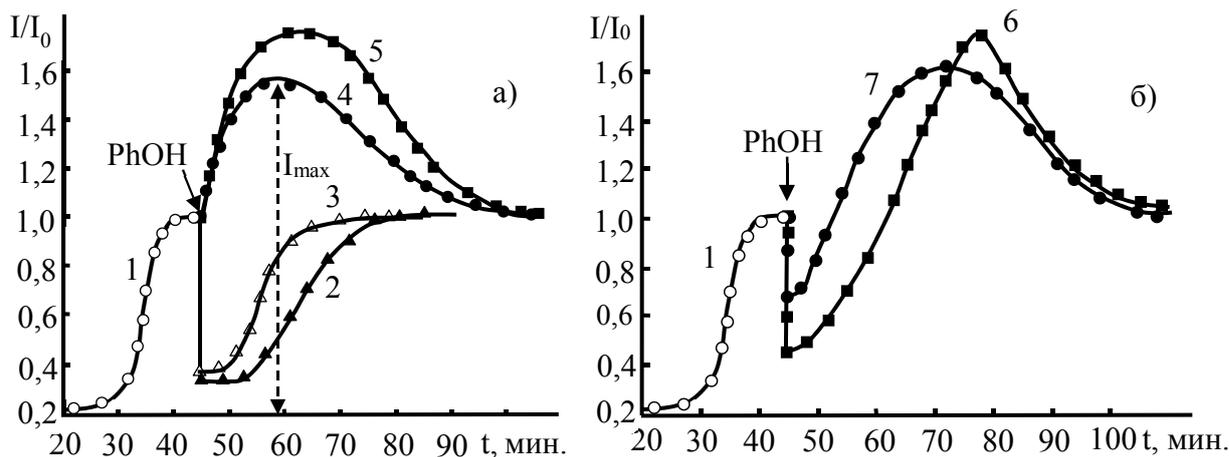


Рис. 1.1.13 – Кинетические кривые изменения I/I_0 при инициированном окислении масла в смеси с хлорбензолом (1:1) (1) в присутствии фенолов ($C=5 \cdot 10^{-4}$ моль·л $^{-1}$): а) 2 – ионол; 3 – сиреневая кислота; 4 – флороглюцин; 5 – протокатеховая кислота; б) 6 – кверцетин; 7 – феруловая кислота. $[АИБН] = 2.0 \cdot 10^{-2}$ моль·л $^{-1}$. $[ДБА] = 2 \cdot 10^{-3}$ моль·л $^{-1}$. $T=343K$

Второй вид кинетических кривых характерен для флороглюцина, резорцина, протокатеховой кислоты, галловой кислоты и ее этилового эфира: при введении этих фенолов в масло вместо падения свечения наблюдается его рост. Для остальных изученных фенолов (кверцетин, кофейная, сиреневая, феруловая, ванилиновая, п-гидроксibenзойная кислоты, рутин) после их введения в масло ХЛ-свечение сначала падает, а затем возрастает, превышая значение I_0 (рис. 1.1.13б). Конечные продукты превращения фенолов очевидно не влияют на ХЛ-свечение, так как со временем кинетические кривые ХЛ стремятся к значению $I/I_0 \rightarrow 1$, что соответствует по времени полному израсходованию фенольного антиоксиданта.

Своеобразное влияние исследуемых фенолов на ХЛ окисляющегося масла можно было бы объяснить с точки зрения отсутствия у этих фенолов антиоксидантных свойств в масле. Однако параллельно газовольнометрическим методом было показано, что все фенолы в той или иной степени тормозят окисление масла, реагируя с пероксирадикалами с обрывом цепи (табл. 1.1.8). Сравнение периодов индукции, полученных при инициированном окислении масла и этилбензола, показало, что при переходе от насыщенного субстрата (этилбензола) к ненасыщенному (маслу) сохраняется антиоксидантная активность изученных фенолов и ряд по изменению этой активности в зависимости от строения их молекул (табл. 1.1.8).

Таблица 1.1.8 – Значения периодов индукции при инициированном окислении ($[\text{PhOH}] = 5 \cdot 10^{-4}$ моль·л⁻¹) и высокотемпературном автоокислении ($[\text{PhOH}] = 5 \cdot 10^{-5}$ моль·л⁻¹) этилбензола и подсолнечного масла в присутствии фенолов.

Соединение	τ , мин., ЭТБ, [АИБН]= $1,1 \cdot 10^{-2}$ моль·л ⁻¹ , 343 К	τ , мин., масло, [АИБН]= $2,0 \cdot 10^{-2}$ моль·л ⁻¹ , 343 К	τ , мин. ЭТБ, 393 К	τ , мин. масло, 393 К
27 – этиловый эфир галловой кислоты	35	30	570	125
24 – галловая кислота	31	22	240	105
39 – кофейная кислота	28	26	250	85
45 – кверцетин	32	20	920	65
20 – протокатеховая кислота	30	18	500	45
25 – сиреневая кислота	23	5	140	35
40 – феруловая кислота	19	5	145	30
50 – рутин	18	7	70	25
22 – ванилиновая кислота	11	3	90	35
7 – флороглюцин	29	4	110	15
13 – 4-гидроксибензойная кислота	7	3	90	25

Наиболее эффективными ингибиторами окисления масла являются орто-полигидроксифенолы: галловая кислота и ее этиловый эфир, кофейная кислота, кверцетин. При высокотемпературном (393К) автоокислении подсолнечного масла (табл.1.1.8) ингибирующая способность фенолов значительно ниже, чем в этилбензоле в аналогичных условиях. Это, по-видимому, можно объяснить участием радикалов фенолов в реакции продолжения цепи с ненасыщенным субстратом. Нами установлено, что фенолы и продукты их превращения не являются обычными фотосенсибилизаторами. Без активатора свечения интенсивность ХЛ при окислении масла слабая и не регистрируется хемилюминесцентной установкой, поэтому ХЛ масла изучалась только в присутствии активаторов. При замене активатора 9,10-дибромантрацена (ДБА) на хелат европия эффект усиления фенолами ХЛ-свечения в масле сохраняется (рис. 1.1.14). Отмечено, что хелат европия значительно более эффективнее как активатор по сравнению с ДБА. В остальном наблюдаются такие же закономерности в изменении ХЛ, как и в случае этилбензола: ХЛ-свечение в периоде индукции сохраняется при замене инициатора, в отсутствие инициатора и при отключении подачи кислорода рост люминесценции не наблюдается, с ростом

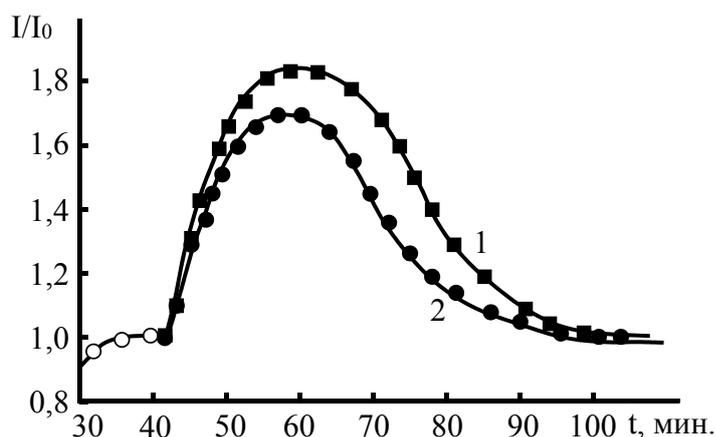


Рис. 1.1.14 – Кинетические кривые изменения I/I_0 при инициированном окислении масла в хлорбензоле (1:1) с добавками протокатеховой кислоты ($C=4 \cdot 10^{-4}$ моль \cdot л $^{-1}$) в присутствии активаторов ХЛ: 1 – $[XeEu] = 2 \cdot 10^{-4}$ моль \cdot л $^{-1}$; 2 – $[ДБА] = 2 \cdot 10^{-3}$ моль \cdot л $^{-1}$. $[АИБН] = 2 \cdot 10^{-2}$ моль \cdot л $^{-1}$. $T=343K$

скорости инициирования (при $[PhOH]=const$) линейно растет величина I_{max} , а при постоянной концентрации АИБН значение I_{max} растет с увеличением концентрации фенола и при определенном ее значении достигает постоянной величины. Эти данные подтверждают выводы, сделанные в работах [32, 33], о том, что источником дополнительного свечения в системе является реакция между феноксильным и пероксильным радикалами, в результате которой образуется хинон в электронно-возбужденном состоянии, способный при переходе в основное состояние излучать ХЛ-свечение:



В соответствии с этим, интенсивность ХЛ-свечения в периоде индукции при ингибированном окислении масла будет зависеть от вклада всех реакций, по которым свечение возникает (реакции 1.1.9, 1.1.11) и гасится (реакция 1.1.10), и описываться следующим выражением:

$$I = k_6\phi_6 [ROO\dot{O}]^2 + k_8\phi_8[ROO\dot{O}][PhO\dot{O}], \quad (1.1.12)$$

где k_6, k_8, ϕ_6, ϕ_8 – константы скоростей и квантовые выходы реакций (1.1.9) и (1.1.11). Если $[PhOH] = 0; [PhO\dot{O}] = 0$, то $I=I_0 = k_6\phi_6 [ROO\dot{O}]^2 = \phi_6 V_i$. С ростом $[PhOH]$ растет $[PhO\dot{O}]$ и при большой концентрации фенола $[PhO\dot{O}] \gg [ROO\dot{O}]$, тогда $I=I_{max} = k_8\phi_8[ROO\dot{O}][PhO\dot{O}] = const$.

Поскольку в масле усиление ХЛ-свечения в периоде индукции ингибированного окисления наблюдается в присутствии активатора, то это является следствием влияния полярности субстрата (масла) на течение ХЛ-реакции 1.1.11. Для оценки влияния полярности субстрата на значение I_{max} хемилюминесценцию масла в присутствии фенолов изучали с добавлением неполярного растворителя – бензола (рис. 1.1.15).

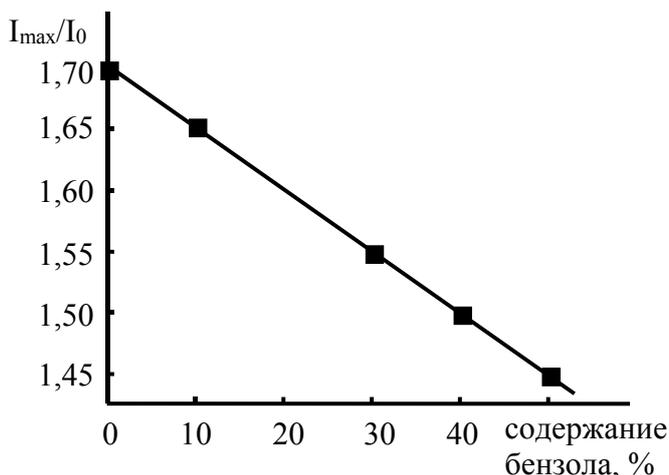
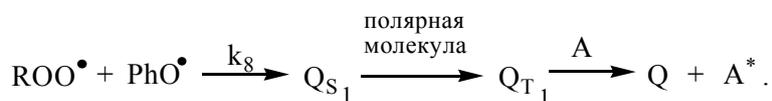


Рис. 1.1.15 – Зависимость I_{\max}/I_0 от содержания бензола в смеси масло:хлорбензол (1:1) в присутствии протокатеховой кислоты ($C=4 \cdot 10^{-4}$ моль·л⁻¹). $[AIBN]=2 \cdot 10^{-2}$ моль·л⁻¹. $[ДБА]=2 \cdot 10^{-3}$ моль·л⁻¹. $T=343K$

Как видно из рис. 1.1.15, с увеличением в масле содержания бензола уменьшается полярность среды и значение I_{\max} падает.

Согласно нашим исследованиям в работе [31] полярная среда способствует повышению энергетических уровней образующегося возбужденного продукта, а также увеличивает вероятность перехода хинона из возбужденного синглетного состояния (Q_{S_1}) в возбужденное триплетное состояние (Q_{T_1}). При этом часть возбужденных триплетных молекул успевает передать энергию возбуждения на активатор (А):



В масле дополнительным эмиттером ХЛ-свечения являются, по-видимому, хиноны в триплетном электронно-возбужденном состоянии, так как свечение в масле эффективнее усиливается хелатом европия (рис. 1.1.14). Этот активатор испускает свет как из синглетного, так и из триплетного состояний, а ДБА излучает свет только из синглетного состояния. Если бы состояние возбужденного продукта было синглетным, то оба активатора возбуждались бы посредством разрешенного синглет-синглетного перехода энергии и их действие было бы примерно одинаковым. Более интенсивное ХЛ-свечение в присутствии хелата европия свидетельствует о существовании триплетных доноров энергии.

В неполярных этилбензоле и кумоле с активатором ХЛ вероятной причиной отсутствия свечения по реакции (1.1.11) является более низкий, чем в масле, уровень энергии возбужденного продукта – недостаточный для возбуждения люминесцентных уровней ДБА и хелата европия. А значит, ХЛ-свечение по реакции 1.1.11 возникает независимо от природы

пероксирадикала и в неполярных углеводородах, однако интенсивность его меньше и свечение не усиливается активаторами ХЛ. Неактивированную хемилюминесценцию при окислении углеводородов можно наблюдать на максимальной чувствительности установки в присутствии тех же фенолов, что и в масле. Было показано [31, 32], что интенсивность ХЛ-свечения, возникающего в масле по реакции 1.1.11, как и в углеводородах, зависит от природы фенола и активности его радикала. Это свечение характерно только для фенолов, способных образовывать хиноны.

Поскольку введение изученных фенолов в окисляющееся масло приводит к росту ХЛ-свечения, то расчет констант скоростей (k_7) реакции взаимодействия этих фенолов с пероксирадикалами масла общепринятым методом [30] невозможен. Для определения k_7 был использован описанный в работах [34, 35] метод расчета констант скоростей, учитывающий возникновение ХЛ-свечения и по реакции 1.1.11. Согласно этому методу интенсивность свечения в присутствии фенола описывается выражением 1.1.12. На основе кинетической схемы ингибированного окисления [13] с учетом стационарной концентрации в системе радикалов $ROO\cdot$ и $PhO\cdot$ можно записать:

$$\begin{aligned} \frac{d[ROO\cdot]}{dt} &= v_i - k_6[ROO\cdot]^2 - k_7[ROO\cdot][PhOH] = 0; \\ \frac{d[PhO\cdot]}{dt} &= k_7[ROO\cdot][PhOH] - k_8[ROO\cdot][PhO\cdot] = 0. \end{aligned}$$

Подставляя значения $[ROO\cdot]$ и $[PhO\cdot]$ в уравнение (1.1.12), получим:

$$\Delta I = (\eta_8 - 2\eta_6) \frac{k_7^2 [PhOH]^2}{k_6} \left[\left(1 + \frac{v_i k_6}{k_7^2 [PhOH]^2} \right)^{1/2} - 1 \right]. \quad (1.1.13)$$

После ряда математических преобразований уравнения (1.1.13) имеем:

$$\Delta I = \frac{\varphi_8 - 2\varphi_6}{2} v_i - \frac{k_6}{2(\varphi_8 - 2\varphi_6) \cdot k_7^2} \cdot \frac{\Delta I^2}{[PhOH]^2}, \quad (1.1.14)$$

где $\Delta I = I_{\max} - I_0$, φ_6 и φ_8 – квантовые выходы ХЛ реакций (1.1.9) и (1.1.11). Для расчета величин $k_7 / \sqrt{k_6}$ фенолов в масле строилась зависимость в координатах ΔI от $[PhOH]$ (рис. 1.1.16), а затем спрямлялась в координатах уравнения (1.1.14).

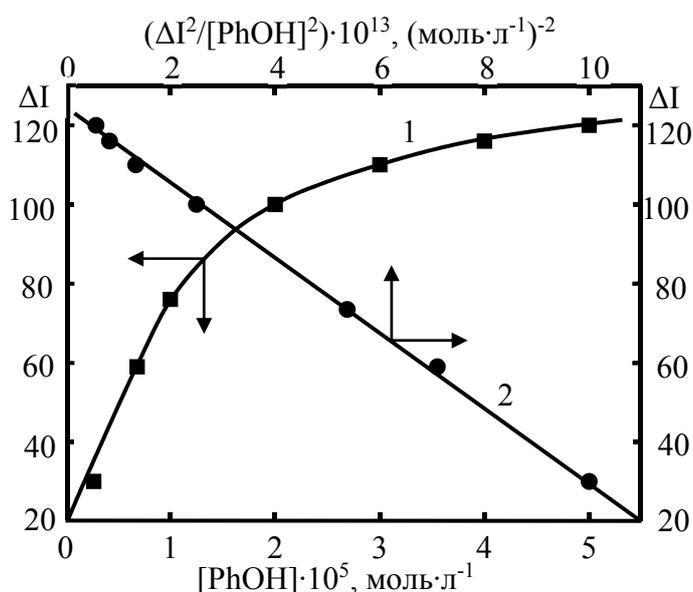


Рис. 1.1.16 – Зависимость ΔI : 1 – от концентрации галловой кислоты; 2 – от $\Delta I^2/[\text{PhOH}]^2$ при инициированном окислении масла в хлорбензоле (1:1). $\nu_i=2.2 \cdot 10^{-6}$ моль · л⁻¹ · с⁻¹. $[\text{ДБА}]=2 \cdot 10^{-3}$ моль · л⁻¹. $T=343\text{K}$

Значение $\eta_6 - 2\eta_8$ находили как отрезок, отсекаемый на оси ординат, а величину $k_7 / \sqrt{k_6}$ из тангенса угла наклона прямой (рис. 1.1.16). В таблице 1.1.9 представлены значения $k_7 / \sqrt{k_6}$, полученные для некоторых фенолов в масле этим методом, которые сравнивались с аналогичными значениями в этилбензоле, рассчитанными по уравнению (1.1.7). Сопоставление этих величин свидетельствует об их симбатном изменении в ряду изученных фенолов и о более низких значениях $k_7 / \sqrt{k_6}$ в масле.

Таблица 1.1.9 – Значения $k_7 / \sqrt{k_6}$, рассчитанные для некоторых фенолов при инициированном (АИБН) окислении этилбензола ($\nu_i=4,9 \cdot 10^{-7}$ моль · л⁻¹ · с⁻¹) и подсолнечного масла ($\nu_i=2,2 \cdot 10^{-6}$ моль · л⁻¹ · с⁻¹). $T=343\text{K}$.

Соединение	$k_7 / \sqrt{k_6}, \frac{\text{л}^{1/2}}{\text{моль}^{1/2} \cdot \text{с}^{1/2}},$	$k_7 / \sqrt{k_6}, \frac{\text{л}^{1/2}}{\text{моль}^{1/2} \cdot \text{с}^{1/2}},$
	масло : хлорбензол (1:1)	ЭТБ
27 – этиловый эфир галловой кислоты	$(9,9 \pm 0,2) \cdot 10^1$	$(1,5 \pm 0,1) \cdot 10^2$
24 – галловая кислота	$(6,9 \pm 0,2) \cdot 10^1$	$(1,30 \pm 0,09) \cdot 10^2$
20 – протокатеховая кислота	$8,0 \pm 0,2$	$(2,0 \pm 0,1) \cdot 10^1$
7 – флороглюцин	$1,10 \pm 0,04$	$2,6 \pm 0,1$

Скорость инициирования (ν_i) подсолнечного масла определяли из выражения (1.1.6) с использованием реперного ингибитора ионола, для которого коэффициент ингибирования $f=2$ [36].

Изучение хемилюминесценции в процессе инициированного окисления подсолнечного масла с активатором свечения и в присутствии природных фенолов позволило установить более выраженный рост ХЛ-свечения в периоде индукции по сравнению с неполярными углеводородами (этилбензол, кумол). Это объясняется влиянием более полярной среды (масла), способной усиливать ХЛ-свечение, возникающее в реакции между феноксильным и пероксильным радикалами. Интенсивность ХЛ-свечения в процессе окисления масла зависит от суммарного влияния всех реакций, по которым свечение возникает и гасится.

Определенные в масле кинетические параметры, характеризующие АОА фенолов, свидетельствуют о высокой активности соединений группы тригидроксибензойных, дигидроксикоричных кислот и флавоноидов (галловая кислота и ее этилового эфира, кофейная кислота, кверцетин), которая проявилась в реакции с гидразильным радикалом в бензоле, и сохранилась по отношению к пероксирадикалам как в этилбензоле, так и в ненасыщенном субстрате (масле), что делает возможным рекомендовать эти соединения и их природные смеси в составе растительных экстрактов для торможения процессов окисления масел и жиров.

Таким образом, сравнительный анализ реакционной способности природных фенолов с азот- и кислородцентрированными радикалами в неполярных средах показал, что модельная реакция радикала DPPH[•] с растительными фенолами разных групп в неполярных средах (бензол, гексан и т.п.) позволяет тестировать эти вещества на наличие антирадикальной активности, проводить идентификацию механизма их действия, устанавливать полуэмпирические зависимости параметров структуры фенолов от их реакционной способности, позволяющие прогнозировать антирадикальное действие природных антиоксидантов в процессах радикально-цепного окисления органических веществ и материалов на их основе без проведения дополнительных экспериментов. Установленное симбатное изменение реакционной способности исследуемых веществ в реакции с гидразильным радикалом и пероксирадикалами ароматического углеводорода (этилбензола) и ненасыщенного органического субстрата окисления (подсолнечное масло) свидетельствует о достаточно точном подборе эффективных антиоксидантов с использованием модели PhOH – DPPH[•] и одинаковом НАТ/РСЕТ механизме действия природных фенолов в неполярных средах, реализация которого определяется энергией гомолитического разрыва наиболее слабой фенольной O–H связи.

Проведение реакций PhOH с DPPH^{*} в бензоле позволяет изучать кинетику процесса, начиная с малых глубин превращения веществ и делает результаты более сопоставимыми с данными по взаимодействию антиоксидантов с перекисными радикалами при торможении радикально-цепного окисления в липидной фазе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Препаративная органическая химия / ред. Н. С. Вульфсон. – М. : ГХИ, 1959. – 889 с.
2. Vermerris, W. Phenolic Compound Biochemistry / W. Vermerris, R. Nicholson. – Dordrecht : Springer, 2006. – 275 с.
3. Барабой, В. А. Растительные фенолы и здоровье человека / В. А. Барабой. – М. : Наука, 1984. – 160 с.
4. Гидроксиацетофеноны – новые модели при изучении электроокисления кверцетина / Баженова Б.Н. [и др.] // Известия вузов. Химия и химическая технология. – 2012. – Т. 55, № 8. – С.43–47.
5. Запрометов, М. Н. Фенольные соединения. Распространение, метаболизм и функции в растениях / М. Н. Запрометов. – М. : Наука, 1993. – 271 с.
6. Москва, В. В. Растворители в органической химии / В. В. Москва // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 4. – С. 44–50.
7. Денисов, Е. Т. Кинетика гомогенных химических реакций : учебное пособие для химических специальностей университетов / Е. Т. Денисов. – М.: Высшая школа, 1978. – 367 с.
8. Reaction of Phenols with the 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Radical. Kinetics and DFT Calculations Applied To Determine ArO–H Bond Dissociation Enthalpies and Reaction Mechanism HAT / M. C. Foti [et al.] // J. Org. Chem. – 2008. – Vol. 73. – P. 9270–9282.
9. Musialik, M. Scavenging of dpph^{*} Radicals by Vitamin E Is Accelerated by Its Partial Ionization: the Role of Sequential Proton Loss Electron Transfer / M. Musialik, G. Litwinienko // Org. Lett. – 2005. – Vol. 7, № 22. P. 4951–4954.
10. Lee, C. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density / C. Lee, W. Yang, R. G. Parr // Phys. Rev. B. – 1988. – Vol. 37. – P. 785–789.
11. Gaussian 09, Revision B.01 / M. J. Frisch [et al.]. – Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2010.

12. Proton-coupled electron transfer / D. R. Weinberg [et al.] // *Chem Rev.* – 2007. – Vol. 107, № 11. – P. 5004–5064.
13. Рогинский, В. А. Фенольные антиоксиданты. Реакционная способность и эффективность / В. А. Рогинский. – М. : Наука, 1988. – 247 с.
14. Денисов, Е.Т. Реакционная способность природных фенолов / Е. Т. Денисов, Т. Г. Денисова // *Успехи химии.* – 2009. – Т. 78, № 11. – С. 1129–1159.
15. Денисов, Е. Т. Ингибирование цепных реакций / Е. Т. Денисов, В. В. Азатян. – Черногоровка : ИПХФ РАН, 1997. – 267с.
16. Stewart, J. J. P. Optimization of parameters for semiempirical methods V: modification of NDDO approximations and application to 70 elements / J. J. P. Stewart // *J. Mol. Model.* – 2007. – Vol. 13. – P. 1173–213.
17. Young, D. Computational chemistry: a practical guide for applying techniques to real world problems / D. Young. – New York : Wiley, 2001. – 408 p.
18. Tomasi, J. Quantum mechanical continuum solvation models / J. Tomasi, B. Mennucci, R. Cammi // *Chem. Rev.* – 2005. – Vol. 105. – P. 2999–3093.
19. UFF, a full periodic table force field for molecular mechanics and molecular dynamics simulations / A. K. Rappe [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* – 1992. – Vol. 114. – P. 10024–10039.
20. Investigation of the radical scavenging potency of hydroxybenzoic acids and their carboxylate anions / Z. Marković [et al.] // *Monatshefte für Chemie–Chemical Monthly.* – 2014. – Vol. 145, Issue 6. – P. 953–962.
21. Pérez-González, A. Dihydroxybenzoic acids as free radical scavengers: mechanisms, kinetics, and trends in activity / A. Pérez-González, A. Galano, J. R. Alvarez-Idaboy // *New J. Chem.* – 2014. – Issue 38. – P. 2639–2652.
22. Acidity of Hydroxyl Groups: An Overlooked Influence on Antiradical Properties of Flavonoids / M. Musialik [et al.] // *J. Org. Chem.* – 2009. – Vol. 74, № 7. – P. 2699–2709.
23. Блажей, А. Фенольные соединения растительного происхождения / А. Блажей, Л. Шутый. – М. : Мир, 1977. – 239 с.
24. Burda, S. Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids / S. Burda, W. Oleszek // *J. Agric. Food Chem.* – 2001. – Vol. 49, № 6. – P. 2774–2779.
25. Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids / D. Amić [et al.] // *Croat. Chem. Acta.* – 2003. – Vol. 76, № 1. – P. 55–61.

26. Влияние строения фенолов на их активность в реакции с пероксирадикалами этилбензола / Н. И. Белая [и др.] // Теор. и exper. химия. – 2004. – Т. 40, № 4. – С. 227–232.

27. Денисов, Е. Т. Константы скорости гомолитических жидкофазных реакций / Е. Т. Денисов. – М. : Наука, 1971. – 711 с.

28. Эмануэль, Н. М. Цепные реакции окисления углеводородов в жидкой фазе / Н. М. Эмануэль, Е. Т. Денисов, З. К. Майзус. – М. : Наука, 1965. – 270 с.

29. Денисов, Е. Т. Химическая кинетика / Е. Т. Денисов, О. М. Саркисов, Т. И. Лихтенштейн. – М. : Химия, 2000. – 565 с.

30. Хемилюминесцентные методы исследования медленных химических процессов / В. Я. Шляпинтох [и др.]. – М. : Наука, 1966. – 300 с.

31. Хемилюминесценция в процессе ингибированного окисления растительного масла / Н. И. Белая [и др.] // Журн. приклад. хим. – 2004. – Т. 77, № 8. – С. 1351–1355.

32. Особенности хемилюминесценции при ингибированном растительными фенолами окислении органических веществ / Н. И. Белая [и др.] // Теор. и exper. химия. – 2003. – Т. 39, № 3. – С. 161–166.

33. Шендрик, А. Н. Новый эмиттер хемилюминесценции в ингибированной гидрохиноном реакции окисления кумола кислородом / А. Н. Шендрик, И. О. Качурин, И. А. Опейда // Теор. и exper. химия. – 1994. – Т. 30, № 2. – С. 103–107.

34. Варданян, Р. Л. Хемилюминесцентный метод измерения активности ингибиторов – ароматических аминов в окисляющемся спирте / Р. Л. Варданян // Кинетика и катализ. – 1974. – Т. 15, № 3. – С. 794–796.

35. Варданян, Р. Л. Хемилюминесценция при окислении в полярных средах в присутствии ароматических аминов / Р. Л. Варданян, В. В. Харитонов, Е. Т. Денисов // Кинетика и катализ. – 1971. – Т. 12, № 4. – С. 903 – 909.

36. Гольденберг, В. И. Исследование механизма хемилюминесценции в процессе автоокисления вазелинового масла при повышенных температурах / В. И. Гольденберг, В. Г. Шмулович // Нефтехимия. – 1979. – Т. 19, № 2. – С. 208–213.

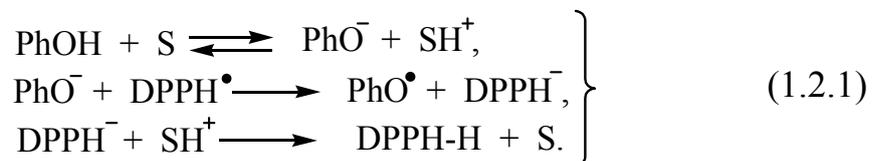
1.2. Реакции в диметилсульфоксиде

1.2.1. Кинетические и стехиометрические параметры реакции. Кинетический эффект растворителя

В отдельную группу стоит отнести полярные апротонные растворители с низкой ионизирующей способностью (диметилсульфоксид (dmsо), диметилформамид, ацетон), которые подавляя депротонизацию фенольных соединений, замедляют их реакцию с DPPH[•], позволяя как и в бензоле изучать кинетику процесса на неглубоких стадиях превращения реагентов, но при высокой диэлектрической проницаемости среды. Это дает возможность сопоставлять экспериментальные данные с результатами взаимодействия фенолов с радикалами в водных средах при низких рН среды (биологические и пищевые системы с пониженной кислотностью).

Проведенные в последнее время исследования показали, что в полярных неионизирующих растворителях кинетика реакции DPPH[•] с PhOH отличается от процессов, протекающих в этаноле, воде или в неполярных средах – бензоле, гексане. По-видимому, это связано с особым влиянием растворителя на механизм протекания реакции. Этот вопрос по-прежнему остается открытым.

Так, в работах К. Ингольда и Г. Литвиненко [1–3] считается, что в полярных слабо- или неионизирующих растворителях (S), таких как диметилсульфоксид, подкисленный этанол и т.п. возможен либо механизм переноса атома водорода НАТ/РСЕТ от PhOH к радикалу DPPH[•] (реакция 1.1.2), либо, для фенолов с низкими значениями рK_a, может реализовываться механизм последовательной потери протона с последующим переносом электрона (Sequential Proton Loss Electron Transfer (SPLET)):



При этом лимитирующей является реакция переноса электрона от образующегося фенолят-иона (PhO⁻).

Позже было показано [4–6], что в указанных средах может реализоваться еще один механизм – последовательный перенос электрона, а затем протона (Electron Transfer –Proton Transfer (ET–PT)):



Такой механизм характерен и для других подобных реакций в полярных апротонных средах – взаимодействие фенолов с неорганическими окислителями [7], восстановление стабильных феноксильных радикалов аминами [8].

Причем считается [9–11], что все вышеперечисленные механизмы (реакции 1.1.2, 1.2.1, 1.2.2) могут реализовываться одновременно с доминированием одного из них в зависимости от кислотности фенолов, природы атакующего радикала, а также полярности среды и ее ионизирующей способности.

Целью данного этапа работы является изучение кинетики и механизма реакции различных групп растительных фенолов (табл. 1.1.1) с радикалом DPPH• в апротонном растворителе – dmsO, установление взаимосвязи между антирадикальной активностью фенолов и их структурой, а также сравнение полученных результатов с литературными данными.

Спектральные исследования проводились как и в бензоле при $T = 293 \pm 2$ К и концентрации реагирующих веществ в диапазоне $10^{-4} - 10^{-5}$ моль·л⁻¹ при $\lambda_{\max} = 520$ нм методом УФ-спектроскопии, растворы фенолов и DPPH• в dmsO смешивались 1:1, затем измерялась их оптическая плотность и с помощью определенного молярного коэффициента экстинкции ($\epsilon = 1,4 \cdot 10^3$ л·моль⁻¹·см⁻¹) рассчитывалась концентрация DPPH• в заданный момент времени. Диметилсульфоксид для приготовления рабочих растворов предварительно деоксигенировали путем барботирования аргоном в течение 15–20 минут.

Изменение концентрации DPPH• во времени показывает (рис. 1.2.1а), что изученные фенолы способны более эффективно дезактивировать радикалы в полярном, чем в неполярном растворителе. Так, например, кумаровые кислоты, не реагирующие с радикалом при $T = 293$ К в бензоле (табл. 1.1.2), проявляют антирадикальные свойства в dmsO.

Как и в бензоле, установлен первый псевдопорядок по фенолу и DPPH•. Полученные кинетические кривые для всех исследуемых групп растительных фенолов спрямляются в координатах реакции 2-го порядка (рисунок 1.2.1б), что подтверждает второй общий порядок реакции, определенный как сумма псевдопорядков по реагентам. При этом изучались только начальные линейные участки кинетических кривых (от 15 до 60 секунд), позволяющие оценить активность PhOH в элементарной реакции с DPPH•.

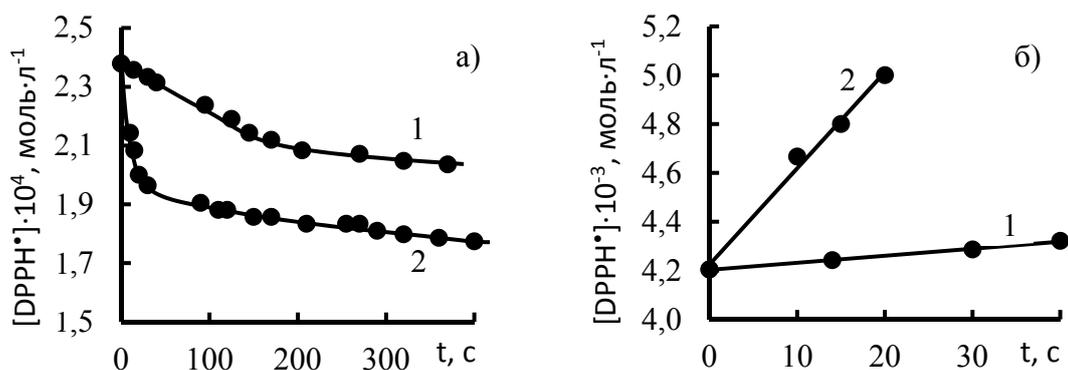


Рис. 1.2.1 – Кинетические кривые расходования DPPH^\bullet в реакции с гидроксикоричными кислотами (а) и их анаморфозы в координатах реакции второго порядка (б): 1 – п-кумаровая кислота ($C = 2,38 \cdot 10^{-4} \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$), 2 – феруловая кислота ($C = 2,38 \cdot 10^{-4} \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$). Растворитель – dmsо, $T = 293 \pm 2 \text{ К}$

По аналогии с реакциями в бензоле, антирадикальная активность (АРА) фенолов характеризовалась величиной константы скорости исследуемой реакции $k_{\text{dmsо}}$ (табл. 1.2.1), рассчитанной по анаморфозам кинетических кривых (рис. 1.2.1б), линейный регрессионный анализ которых проводился в системе Statistica Demo 6.0.

Таблица 1.2.1 – Экспериментальные значения кинетических параметров реакции природных фенолов с радикалом DPPH^\bullet в диметилсульфоксиде

Соединение	$k_{\text{dmsо}}$, $\text{л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ ($T=293\text{К}$)	$\text{KSE},$ $k_{\text{dmsо}} / k_{\text{benz}}$	$\text{DIE},$ $k_{\text{PHOH}} / k_{\text{PHOD}}$
1	2	3	4
Гидроксibenзо́лы			
1 – пирокатехин	$(3,71 \pm 0,14) \cdot 10^2$	10	0,98
2 – резорцин	$2,34 \pm 0,09$	-	-
3 – орцин	$3,4 \pm 0,11$	-	0,96
4 – гидрохинон	$(5,52 \pm 0,15) \cdot 10^2$	10	1,02
5 – метиловый эфир гидрохинона	$(6,22 \pm 0,22) \cdot 10^2$	11	0,98
6 – пирогаллол	$(9,8 \pm 0,4) \cdot 10^2$	15	-
7 – флороглюцин	$1,42 \pm 0,05$	-	1
8 – оксигидрохинон	$(7,3 \pm 0,3) \cdot 10^2$	12	-
Гидроксibenзо́йные кислоты			
<i>Моногидроксibenзо́йные кислоты</i>			
9 – салициловая кислота	$1,42 \pm 0,05$	-	-
10 – 3-метилсалициловая кислота	$1,84 \pm 0,06$	-	-
11 – метиловый эфир 3-метилсалициловой кислоты	$2,21 \pm 0,09$	-	-
12 – 3-гидроксibenзо́йная кислота	$4,22 \pm 0,15$	-	-
13 – 4-гидроксibenзо́йная кислота	$2,7 \pm 0,1$	-	1,03
14 – этиловый эфир 4-гидроксibenзо́йной кислоты	$3,1 \pm 0,1$	-	1,03

1	2	3	4
<i>Дигидроксibenзойные кислоты</i>			
15 – пирокатеховая кислота	$(2,4 \pm 0,1) \cdot 10^2$	8	1
16 – β -резорциловая кислота	$4,32 \pm 0,16$	-	-
17 – метиловый эфир β -резорциловой кислоты	$5,24 \pm 0,15$	-	-
18 – гентизиновая кислота	$(5,80 \pm 0,16) \cdot 10^2$	13	0,96
19 – γ -резорциловая кислота	$1,12 \pm 0,04$	-	-
20 – протокатеховая кислота	$(5,11 \pm 0,15) \cdot 10^2$	10	0,96
21 – α -резорциловая кислота	$3,5 \pm 0,1$	-	-
22 – ванилиновая кислота	$2,52 \pm 0,09$	-	-
<i>Тригидроксibenзойные кислоты</i>			
23 – 3-пирогаллолкарбоновая кислота	$(9,9 \pm 0,4) \cdot 10^2$	19	0,96
24 – галловая кислота	$(8,5 \pm 0,4) \cdot 10^2$	16	0,98
25 – сиреневая кислота	$(7,5 \pm 0,3) \cdot 10^2$	21	-
26 – метиловый эфир галловой кислоты	$(8,9 \pm 0,4) \cdot 10^2$	15	1
27 – этиловый эфир галловой кислоты	$(9,9 \pm 0,4) \cdot 10^2$	16	-
28 – флороглюцинкарбоновая кислота	$4,32 \pm 0,15$	-	-
<i>Гидроксикоричные кислоты</i>			
36 – о-кумаровая кислота	$7,3 \pm 0,3$	-	-
37 – м-кумаровая кислота	$9,2 \pm 0,4$	-	-
38 – п-кумаровая кислота	$8,3 \pm 0,4$	-	1,03
39 – кофейная кислота	$(4,84 \pm 0,15) \cdot 10^2$	8	0,96
40 – феруловая кислота	$(4,03 \pm 0,15) \cdot 10^2$	13	-
41 – синаповая кислота	$(3,15 \pm 0,14) \cdot 10^2$	8	-
<i>Флавоноиды и их гликозиды</i>			
<i>Флаванолы-3 (катехины)</i>			
42 – катехин	$14,8 \pm 0,5$	-	1,02
43 – галлокатехин	$16,3 \pm 0,6$	-	-
<i>Флавонолы</i>			
44 – кемпферол	$54,3 \pm 1,6$	-	-
45 – кверцетин	$(1,32 \pm 0,05) \cdot 10^2$	3	-
46 – изорамнетин	$(1,24 \pm 0,04) \cdot 10^2$	3	-
47 – морин	$(2,45 \pm 0,07) \cdot 10^2$	4	0,96
48 – мирицетин	$(1,41 \pm 0,05) \cdot 10^2$	3	0,98
49 – кверцитрин (3-рамнозид кверцетина)	$(1,24 \pm 0,04) \cdot 10^2$	3	-
50 – рутин (3-глюкорамнозид кверцетина)	$(1,15 \pm 0,04) \cdot 10^2$	3	-

Примечание: - – величины не определялись.

Сравнивая полученные величины k_{dmsO} (табл. 1.2.1) с аналогичными величинами k_{benz} в бензоле (табл. 1.1.2), можно видеть, что реакционная способность фенолов зависит от полярности среды и возрастает с ростом ее диэлектрической проницаемости. При этом ионизирующая способность при переходе от бензола к dmsO увеличивается незначительно, так как оба растворителя являются апротонными, хотя диметилсульфоксид и обладает небольшими протоноакцепторными свойствами.

Поскольку природа фенольных антиоксидантов и радикала не изменялись, то высокие значения констант k_{dmsso} , по-видимому, связаны с кинетическим эффектом растворителя (Kinetic Solvent Effect (KSE)) [12], который определяется как отношение $k_{\text{dmsso}}/k_{\text{benz}}$ (табл. 1.2.1).

Считается [2, 4], что влияние диметилсульфоксида на реакционную способность природных фенолов по отношению к DPPH[•] обусловлено как его полярностью (неспецифической сольватацией), так и донорно-акцепторными взаимодействиями с реагентами (специфической сольватацией), что может приводить либо к снижению реакционной способности антиоксидантов, либо к изменению механизма их антирадикального действия.

В разделе 1.1 было показано, что в бензоле PhOH реагируют с DPPH[•] по механизму переноса атома водорода НАТ/PCET, который реализуется с участием свободных фенольных O–H групп, не участвующих в образовании водородной связи.

Если считать, что механизм действия исследуемых антиоксидантов не меняется, то при переходе к dmsso, способному образовывать водородные связи типа PhOH...S [13], антирадикальная активность природных фенолов должна уменьшаться, но, как показали наши исследования [14], она увеличивается, то есть наблюдается положительный KSE (табл. 1.2.1). Значит, влияние растворителя заключается не в образовании водородных связей с фенольными гидроксигруппами, а в полярности, способной, по-видимому, изменять механизм реакции. Подтвердить или опровергнуть данное предположение можно путем изучения кинетики реакции PhOH с DPPH[•] при постепенном увеличении диэлектрической проницаемости среды в смешанном растворителе с разным соотношением бензола и диметилсульфоксида.

На примере группы гидроксибензолов видно, что при добавке в исследуемую систему диметилсульфоксида наблюдается увеличение реакционной способности фенолов по отношению к DPPH[•] (табл. 1.2.2). Это может быть связано как с влиянием специфической сольватации – образованием водородных связей с участием молекул растворителя [15], так и с неспецифической сольватацией – увеличением диэлектрической проницаемости среды (ϵ).

Установленная линейная зависимость в координатах уравнения Лейдлера-Эйринга [16] показывает (рис. 1.2.2), что скорость исследуемой реакции в бинарной смеси сильно зависит от ϵ растворителя:

Таблица 1.2.2 – Зависимость экспериментальных величин констант скоростей ($k_{dms\text{-}benz}$) реакции гидроксибензолов с радикалом DPPH• от содержания диметилсульфоксида (об.%) в смеси с бензолом при $T = 293 \pm 2$ К

Соединение	$k_{dms\text{-}benz}$, л·моль ⁻¹ ·с ⁻¹			
	0	30	70	100
1 – пирокатехин	36,1±1,4	(1,58±0,12)·10 ²	(3,10±0,18)·10 ²	(3,71±0,14)·10 ²
4 – гидрохинон	52,6±2,1	(1,91±0,12)·10 ²	(4,02±0,18)·10 ²	(5,52±0,15)·10 ²
5 – метиловый эфир гидрохинона	60,3±2,2	(2,51±0,15)·10 ²	(5,4±0,3)·10 ²	(6,22±0,22)·10 ²
6 – пирогаллол	65,2±2,2	(3,56±0,18)·10 ²	(7,9±0,4)·10 ²	(9,8±0,4)·10 ²
8 – оксигидрохинон	60,4±2,2	(3,11±0,18)·10 ²	(6,8±0,3)·10 ²	(7,3±0,3)·10 ²

$$\lg k_{dms\text{-}benz} = \lg k_0 - \frac{2.3}{RT} \left(\frac{\mu_{PhOH}^2}{r_{PhOH}^3} + \frac{\mu_{DPPH\cdot}^2}{r_{DPPH\cdot}^3} - \frac{\mu_{\neq}^2}{r_{\neq}^3} \right) \cdot \frac{(\varepsilon-1)}{(2\varepsilon+1)}, \quad (1.2.3)$$

где $k_{dms\text{-}benz}$ – константа скорости реакции в смеси растворителей; k_0 – константа скорости реакции в газовой фазе с $\varepsilon=1$; ε – диэлектрическая проницаемость смеси растворителей; $\frac{2.3}{RT} \left(\frac{\mu_{PhOH}^2}{r_{PhOH}^3} + \frac{\mu_{DPPH\cdot}^2}{r_{DPPH\cdot}^3} - \frac{\mu_{\neq}^2}{r_{\neq}^3} \right)$ – величина, отражающая зависимость константы скорости реакции от смены растворителя; $\mu_{\neq}, \mu_{PhOH}, \mu_{DPPH\cdot}$ – дипольные моменты, $r_{\neq}, r_{PhOH}, r_{DPPH\cdot}$ – радиусы активного комплекса, фенола и гидразильного радикала соответственно; $(\varepsilon-1)/(2\varepsilon+1)$ – определяет полярность растворителя (функция Кирквуда).

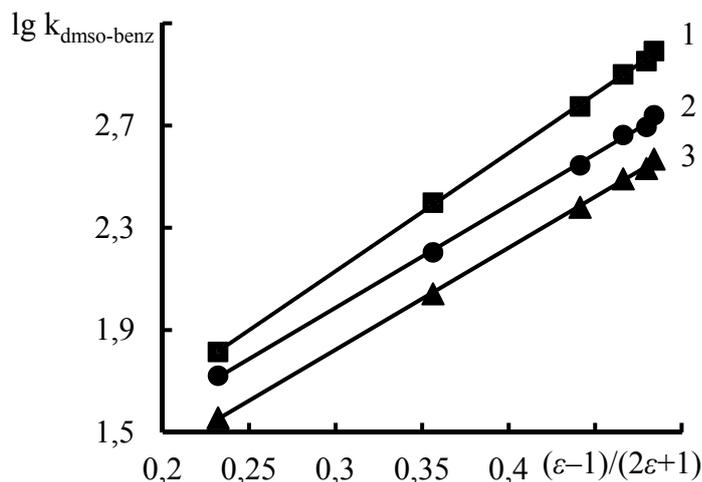


Рис. 1.2.2 – Зависимость в координатах уравнения Лейдлера - Эйринга для реакции радикала DPPH• с гидроксибензолами в смеси бензола с диметилсульфоксидом: 1 – пирогаллол; 2 – гидрохинон; 3 – пирокатехин

С увеличением скорости реакции при переходе от менее полярной к более полярной смеси растворителей наблюдается прямо пропорциональная зависимость и величина углового параметра $\frac{2.3}{RT} \left(\frac{\mu_{PhOH}^2}{r_{PhOH}^3} + \frac{\mu_{DPPH\cdot}^2}{r_{DPPH\cdot}^3} - \frac{\mu_{\neq}^2}{r_{\neq}^3} \right)$ линейной

регрессии (1.2.3) остается положительной (рис. 1.2.2). Это указывает на то, что переходный комплекс реакции является более полярным и легче сольватируется, чем исходные реагенты, что ускоряет протекание реакции.

В связи с этим можно полагать, что в dmsO доминирующее влияние на антирадикальную активность фенолов оказывает не специфическая сольватация, а именно рост диэлектрической проницаемости среды, способной изменять механизм переноса атома водорода НАТ (реакция 1.1.2) на реакцию с лимитирующей стадией переноса электрона, что подтверждается отсутствием ДИЕ (величина $k_{\text{PhOH}}/k_{\text{PhOD}}$ близка к единице) в среде диметилсульфоксида (табл. 1.2.1) в отличие от бензола (табл. 1.1.3).

По какому же механизму может реализовываться перенос электрона? Согласно литературным данным [4–6], в случае апротонного диполярного растворителя (dmsO) взаимодействие гидразильного радикала с представленными фенолами можно представить либо как ET–PT последовательный перенос электрона с образованием в качестве интермедиата катион-радикала фенола, а затем протона (реакция 1.2.2), либо как SPLET механизм последовательной потери протона с последующим переносом электрона от образующегося иона (реакция 1.2.1).

В среде апротонных полярных растворителей вклад механизма SPLET в антирадикальную активность природных фенолов будет незначителен, поскольку величина их pK_{a1} по первой ступени варьируется от 14 до 16 для фенольных групп [13, 17, 18] и от 10 до 11 для карбоксильных групп гидроксibenзойных кислот [18], а значит доля ионизированных форм будет крайне мала.

Идентифицировать эти два механизма можно путем добавок к реакционной смеси в dmsO растворов кислот или буферов с низким pH. Если в исследуемой системе доминирует механизм SPLET, то антирадикальная активность фенолов должна снижаться вследствие подавления процесса диссоциации PhOH и снижения концентрации ионных форм, которые более активны в реакции с DPPH \cdot , чем нейтральные молекулы [2, 5].

Проведение реакции DPPH \cdot с гидроксibenзолами и флавоноидами в dmsO с разным содержанием солянокислого буфера (pH=1,5) не изменяет величин констант скоростей исследуемой реакции, что свидетельствует об отсутствии реакции DPPH \cdot с фенолят-ионами и доминировании механизма ET–PT, а не SPLET. Незначительные изменения в кинетике реакции наблюдаются (рис. 1.2.3) для карбоксилсодержащих фенольных соединений (HOOC–PhOH) – фенолкарбоновых и гидроксикоричных кислот. При

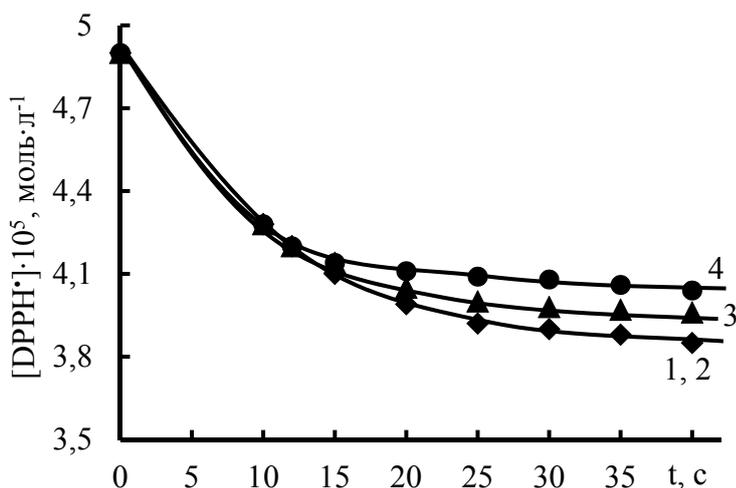
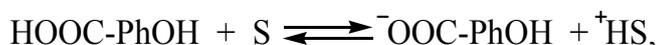


Рис. 1.2.3 – Влияние добавок солянокислого буфера с рН=1,5 на кинетику расщедования DPPH• в реакции с галловой кислотой ($C=4,9 \cdot 10^{-5}$ моль·л⁻¹) в dmsO: 1 – 0 об.%, 2 – 20 об.%; 3 – 30 об.%, 4 – 50 об.%.

снижении рН реакционной смеси на начальном линейном участке скорость реакции остается постоянной, но затем следует некоторое замедление скорости расщедования гидразильного радикала, что может быть связано с уменьшением концентрации карбоксилат-ионов фенольных кислот ($^-OOC-PhOH$), небольшое количество которых присутствует даже в апротонных средах. В этом случае реализуется тот же механизм переноса электрона с последующей потерей протона, но переход электрона, по-видимому, осуществляется не только от молекулы (ET–PT) (реакция 1.2.2), но и от более активного карбоксильного иона кислоты (ET_{ion}–PT):



Таким образом, отсутствие DIE и нечувствительность скорости исследуемой реакции PhOH с DPPH• к изменению рН среды доказывает, что в диметилсульфоксиде происходит перенос электрона от донора на радикал с образованием катион-радикала фенола, связанного водородной связью $PhOH^{\bullet+}...S$, который проявляет намного большие кислотные свойства, чем соответствующая нейтральная частица, а значит потеря протона (стадия PT) будет протекать чрезвычайно быстро по сравнению с лимитирующей стадией ET (реакция 1.2.2).

1.2.2. Влияние потенциала ионизации молекулы фенола

Квантово-химическим дескриптором, связанным с реализацией механизма ET–PT, является энтальпия переноса электрона от антиоксиданта, то есть его потенциал ионизации (PI_{PhOH}). В таблице 1.2.3 представлены

расчетные значения адиабатических потенциалов ионизации молекул природных фенолов в разных фазах:

$$PI_{\text{PhOH}} = H_{\text{PhO}^+\cdot\text{H}}^0 - H_{\text{PhOH}}^0,$$

где $H_{\text{PhO}^+\cdot\text{H}}^0$, H_{PhOH}^0 – стандартные энтальпии (H) катион-радикала и молекулы PhOH соответственно.

Видно, что величины PI_{PhOH} значительно снижаются (приблизительно на 200 кДж·моль⁻¹) при переходе от бензола к более полярному растворителю – диметилсульфоксиду, в то время как прочности наиболее слабых O–H связей молекул фенолов ($D_{\text{O-H}}$) при повышении диэлектрической проницаемости уменьшаются незначительно – на 10–15 кДж·моль⁻¹ (табл. 1.2.3, 1.1.6).

Установленная в бензоле зависимость $\ln k_{\text{benz}}$ от $D_{\text{O-H(benz)}}$ (уравнение 1.1.4) значительно снижается при переходе к dmsо :

$$\ln k_{\text{dmsо}} = (60 \pm 5) - (17,0 \pm 1,5) \cdot 10^{-2} D_{\text{O-H(dmsо)}},$$

$$n = 43; r = 0,866; r^2 = 0,749; F = 123; p < 0,0000; S_{\text{est}} = 1,24. \quad (1.2.4)$$

Коэффициент корреляции r уменьшается с 0,97 (уравнение 1.1.4) до 0,866 (уравнение 1.2.4), а часть результатов не входит в границы доверительного интервала (рис. 1.2.4).

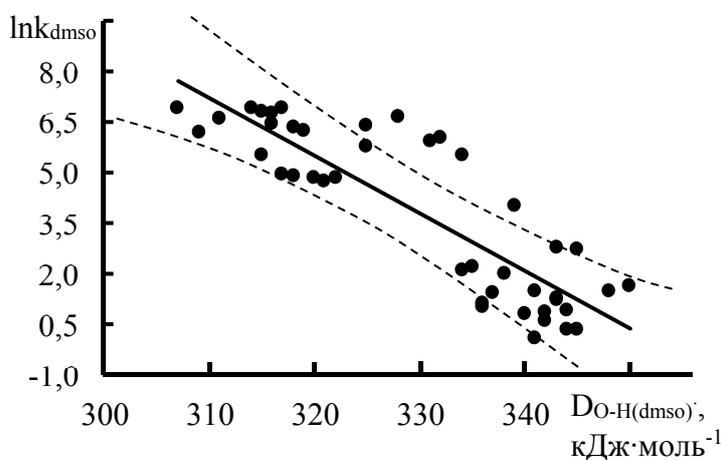


Рис. 1.2.4 – Однофакторная линейная регрессионная зависимость $\ln k_{\text{dmsо}}$ от $D_{\text{O-H(dmsо)}}$

При этом наблюдается (уравнение 1.2.5) более тесная зависимость реакционной способности фенольных соединений ($\ln k_{\text{dmsо}}$) от $PI_{\text{dmsо}}$:

$$\ln k_{\text{dmsо}} = (85 \pm 3) - (14,4 \pm 0,5) \cdot 10^{-2} PI_{\text{dmsо}},$$

$$n = 43; r = 0,971; r^2 = 0,943; F = 685; p < 0,0000; S_{\text{est}} = 0,59. \quad (1.2.5)$$

С ростом потенциала ионизации молекул PhOH их реакционная способность закономерно падает (рис. 1.2.5), что может быть обусловлено, с точки зрения доминирования механизма ET–PT (реакция 1.2.2) в диметилсульфоксиде, замедлением переноса электрона с фенола на радикал.

Таблица 1.2.3 – Расчетные величины потенциалов ионизации (P_{PhOH}) и наименьших прочностей O–H ($D_{\text{O-H}}$) связей молекул природных фенолов в разных фазах. B3LYP/6-311++G(d,p), модель PCM/UFF

Соединение	Положение O–H группы	$P_{\text{PhOH(gas)}}$ кДж·моль ⁻¹	$P_{\text{PhOH(benz)}}$ кДж·моль ⁻¹	$P_{\text{PhOH(dmsO)}}$ кДж·моль ⁻¹	$D_{\text{O-H(dmsO)}}$ кДж·моль ⁻¹
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>
Гидроксibenзолы					
1 – пирокатехин	1	769	659	558	331
2 – резорцин	1	779	669	588	342
3 – орцин	1	768	659	584	343
4 – гидрохинон	1	746	636	556	318
5 – метиловый эфир гидрохинона	1	725	662	547	316
6 – пирогаллол	1	737	655	538	307
7 – флороглюцин	1	778	670	591	345
8 – оксигидрохинон	1	726	620	543	311
Гидроксibenзойные кислоты					
<i>Моногидроксibenзойные кислоты</i>					
9 – салициловая кислота	2	780	670	589	344
10 – 3-метилсалициловая кислота	2	778	668	587	342
11 – метиловый эфир 3-метилсалициловой кислоты	2	776	666	585	340
12 – 3-гидроксibenзойная кислота	3	771	661	580	337
13 – 4-гидроксibenзойная кислота	4	770	660	579	336
14 – этиловый эфир 4-гидроксibenзойной кислоты	4	768	658	577	336
<i>Дигидроксibenзойные кислоты</i>					
15 – пирокатеховая кислота	3	784	635	558	334
16 – β-резорциловая кислота	4	787	656	575	348
17 – метиловый эфир β-резорциловой кислоты	4	790	654	573	350
18 – гентизиновая кислота	5	763	619	543	325
19 – γ-резорциловая кислота	2	808	671	590	341
20 – протокатеховая кислота	3	796	627	551	319
21 – α-резорциловая кислота	3	799	664	583	343
22 – ванилиновая кислота	4	774	663	582	344

Окончание таблицы 1.2.3

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>
<i>Тригидроксibenзойные кислоты</i>					
23 – 3-пирогаллолкарбоновая кислота	3	733	614	538	317
24 – галловая кислота	3	740	621	545	316
25 – сиреневая кислота	4	736	617	541	328
26 – метиловый эфир галловой кислоты	3	737	618	542	315
27 – этиловый эфир галловой кислоты	3	735	616	540	314
28 – флороглюцинкарбоновая кислота	4	780	660	579	341
<i>Гидроксикоричные кислоты</i>					
36 – о-кумаровая кислота	2	777	657	576	338
37 – м-кумаровая кислота	3	775	655	574	335
38 – п-кумаровая кислота	4	774	654	573	334
39 – кофейная кислота	3	748	631	555	309
40 – феруловая кислота	4	747	630	554	332
41 – синаповая кислота	4	752	635	559	325
<i>Флавоноиды и их гликозиды</i>					
<i>Флаванолы-3 (катехины)</i>					
42 – катехин	3'	767	644	568	345
43 – галлокатехин	3'	764	641	565	343
<i>Флавонолы</i>					
44 – кемпферол	4'	760	637	561	339
45 – кверцетин	3'	751	635	559	318
46 – изорамнетин	4'	752	636	560	320
47 – морин	4'	743	627	551	315
48 – мирицетин	3'	749	633	557	317
49 – кверцитрин (3-рамнозид кверцетина)	3'	748	632	556	322
50 – рутин (3-глюкорамнозид кверцетина)	3'	746	630	554	321

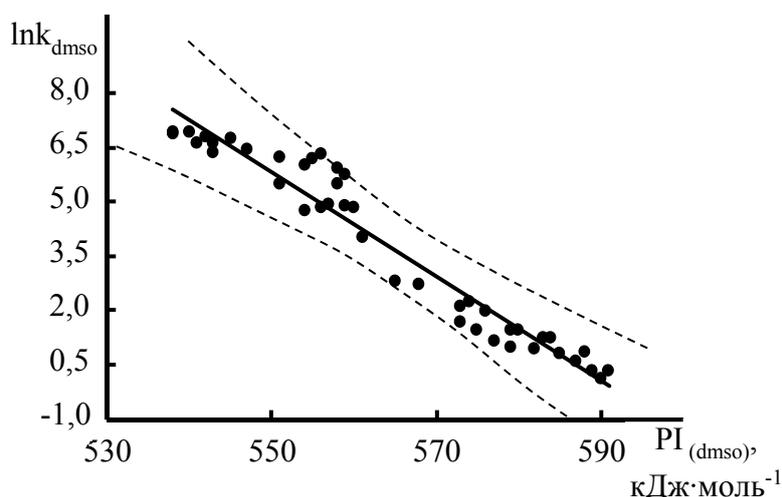


Рис. 1.2.5 – Однофакторная линейная регрессионная зависимость $\ln k_{\text{dms0}}$ от PI_{dms0}

Анализ взаимосвязи «структура – реакционная способность» растительных фенолов в диметилсульфоксиде показал (табл. 1.2.1, 1.2.3), что наиболее высокими величинами k_{dms0} обладают гидроксибензолы, антирадикальная активность которых, как и в случае с бензолом, закономерно увеличивается с ростом числа ОН-групп в ряду мета- < пара- < орто-гидроксибензолов.

При переходе к фенолкарбоновым кислотам видно, что моногидроксибензойные кислоты характеризуются высокими PI_{dms0} и, следовательно, менее склонны к процессам переноса электрона, что подтверждается их низкой антирадикальной активностью [19]. Рост реакционной способности закономерно наблюдается у ди- и тригидроксибензойных кислот.

Величина k гидроксикоричных кислот выше, а PI_{dms0} ниже, чем у соответствующих фенолкарбоновых кислот за счет большей удаленности электроноакцепторной карбоксильной группы $-\text{COOH}$ от бензольного кольца посредством винильного мостика. Исключение составляет синаповая кислота, которая менее активна в реакции с радикалом, чем сиреневая кислота, что может быть обусловлено влиянием стерического фактора. Реакционная способность гидроксикоричных кислот снижается с уменьшением количества ОН-групп в молекуле. Так, все кумаровые кислоты проявили крайне низкую антирадикальную активность. Однако, моногидроксибензойные, равно как и гидроксикоричные кислоты, в диметилсульфоксиде при $T=293\text{K}$ заметно реагируют с DPPH^\bullet по сравнению с бензолом, где они вообще не реагируют (табл. 1.1.2). Это связано прежде всего с потенциалом ионизации молекулы антиоксиданта, величина которого значительно уменьшается при переходе к полярным средам (табл. 1.2.3), что способствует протеканию механизма ET-PT.

Менее эффективной группой антиоксидантов зарекомендовали себя флавоноиды. Их молекулы в dmsO имеют потенциалы ионизации большие, чем у гидроксикоричных кислот, а значит, соединения **42–50** будут медленнее отдавать электрон в реакции с радикалом DPPH• по механизму ET–PT.

Сравнивая АРА исследуемых веществ в реакции с гидразильным радикалом в апротонных растворителях можно констатировать тот факт, что при переходе от бензола к диметилсульфоксиду механизм ET–PT начинает доминировать на НАТ/РСЕТ, приводя к ускорению процесса ($k_{\text{dmsO}} / k_{\text{benz}}$) в случае гидроксибензолов в 10–15 раз, для фенольных кислот почти в 20 раз (табл. 1.2.1). Этот факт можно объяснить, если считать, что для гидроксibenзойных и фенолкарбоновых кислот с низкими pK_{a1} , помимо ET–PT возможно, как указывалось в разделе 1.2.1, параллельное протекание более быстрого механизма переноса электрона от карбоксильных ионов (ET_{ion}–PT).

Детальное определение механизма уже известных реакций дезактивации DPPH• природными антиоксидантами даст возможность управлять ходом процесса, его направлением, получить сведения по оптимизации условий проведения реакции, а затем аппроксимировать полученные результаты на органические субстраты (масла, жиры, липиды), водные и водно-органические биологические системы с низкими рН, где максимально подавлены процессы диссоциации фенольных соединений.

1.2.3. Продукты превращения природных фенолов в реакции с DPPH•

Антирадикальные свойства фенолов зависят не только от способности их молекул реагировать с радикалами, но и от активности образующихся из них продуктов. Первичными продуктами превращения фенольных антиоксидантов являются феноксильные радикалы (феноксилы) PhO•, вторичными – хиноны, димерные соединения, хинолидные перекиси и аддукты различной структуры. При этом их состав и строение во многом зависят от соотношения концентраций активных и феноксильных радикалов, природы активного радикала, структуры феноксила, полярности среды и наличия кислорода в системе.

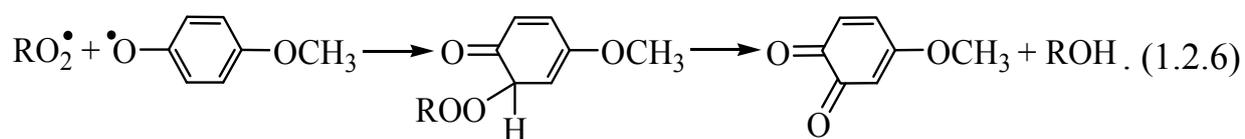
Анализ литературных данных позволил выделить несколько основных путей превращения феноксильных радикалов.

Реакции диспропорционирования феноксильных радикалов с активными радикалами.
В условиях ингибированного фенолами окисления органических веществ (RH) радикалы PhO•, образующиеся по реакции $RO\cdot_2 + PhOH \rightarrow PhO\cdot + ROOH$,

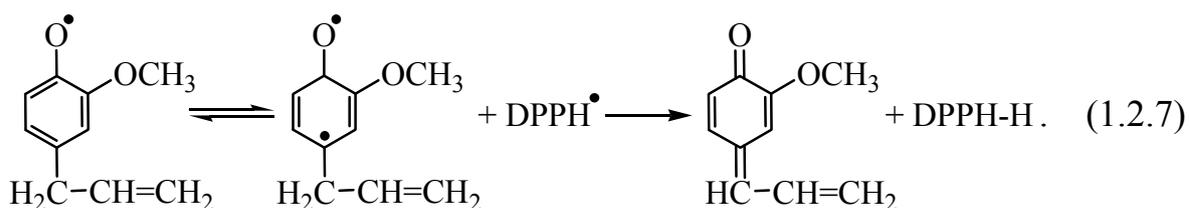
которую обозначают как (8) [20], затем реагируют с пероксильными радикалами $RO\cdot_2$. От того, как быстро протекает эта реакция, зависит квазистационарная концентрация $PhO\cdot$. Если радикалы $PhO\cdot$ участвуют в продолжении цепи по реакциям с RH и образующейся гидроперекисью $ROOH$, то от скорости реакции $PhO\cdot$ с $RO\cdot_2$ зависит скорость ингибированного окисления RH .

Реакция (8) протекает быстро, значения констант скорости реакции k_8 в зависимости от заместителя варьируются в диапазоне 10^8 – 10^9 л·моль⁻¹·с⁻¹, с феноксилами, имеющими электроположительные заместители, реакция протекает быстрее. Однако в общем значения k_8 изменяются в весьма узких пределах и слабо зависят от природы как феноксила, так и активного радикала. Поэтому при кинетических оценках можно без большой ошибки принимать для константы скорости взаимодействия феноксилов любого строения с любыми активными радикалами значение $3 \cdot 10^8$ л·моль⁻¹·с⁻¹ [21].

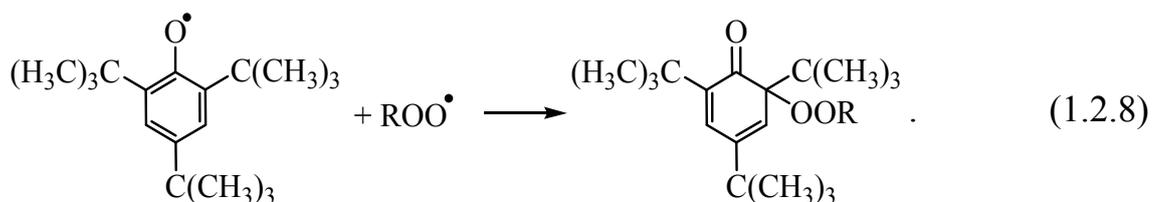
Продукты этой реакции обстоятельно не изучены, но для незамещенных и оксизамещенных феноксилов можно полагать, что происходит присоединение $RO\cdot_2$ к бензольному кольцу в орто- и пара-положения к феноксильной группе (1.2.6) с последующим образованием спирта и хинона [1]:



Подобный механизм действия (1.2.7) предложен [22, 23] и в случае реакции природных фенолов (на примере эвгенола) в реакции с $DPPH\cdot$.

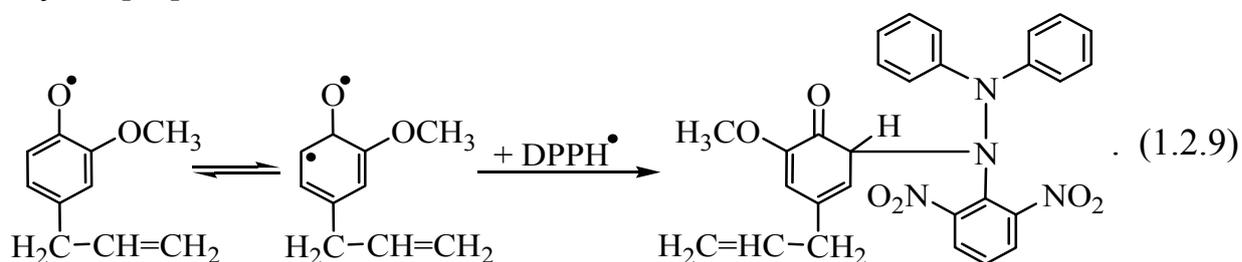


Реакции рекомбинации феноксилов с активными радикалами. Феноксильные радикалы, замещенные в 2,4,6-положении, рекомбинируют очень медленно и в условиях окисления RH реагируют исключительно с $RO\cdot_2$. В результате этой реакции образуются несимметричные хинолидные перекиси. При умеренных температурах ($T < 350K$) эти перекиси устойчивы, при более высоких – распадаются с образованием свободных радикалов. Пероксильные радикалы присоединяются к таким феноксильным радикалам как в пара-, так и орто-положении [20].



Константа скорости реакции (1.2.8) снижается при замене электронодонорных заместителей на электроноакцепторные, что указывает на связь между скоростью рекомбинации PhO^\bullet и RO_2^\bullet и электронной плотностью в пара- и орто-положениях бензольного кольца PhO^\bullet .

Для реакций природных фенолов с DPPH^\bullet при условии избытка гидразильного радикала предполагается, что один из возможных путей рекомбинации феноксила с DPPH^\bullet также приводит к образованию стабильного аддукта [24]:

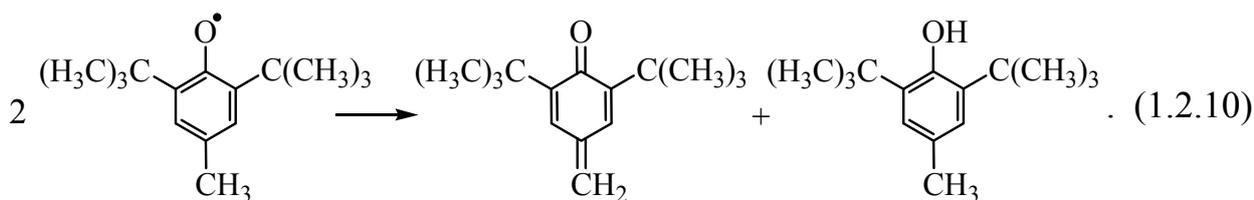


Однако сведений о подобном механизме крайне мало. По-видимому, протекание реакции (1.2.9) маловероятно по стерическим соображениям.

Реакции диспропорционирования феноксилов. Образующиеся из фенолов феноксильные радикалы погибают как по реакции (1.2.6, 1.2.8) с пероксильными радикалами, так и по реакции друг с другом $2\text{PhO}^\bullet \rightarrow$ продукты, которую обозначают как (9) [20, 21]. В зависимости от соотношения $[\text{RO}_2^\bullet]/[\text{PhO}^\bullet]$ и структуры феноксила может преобладать тот или иной путь. Механизм взаимодействия PhO^\bullet зависит от их строения.

Если феноксильные радикалы замещены в 2,4,6-положении, то основной путь их необратимой бимолекулярной гибели – диспропорционирование. Эффективное диспропорционирование становится возможным при наличии в феноксиле слабосвязанных атомов н-алкильных ($-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ и т.д.) и оксизаместителей ($-\text{OH}$). При отсутствии таких “активных” заместителей диспропорционирование не происходит и соответствующие феноксилы стабильны.

Конечными продуктами диспропорционирования 2,4,6-триалкилированных феноксилов являются метиленхинон и исходный фенол, например [21]:



Детальный механизм процесса (1.2.10) не вполне ясен. В литературе рассматривается два варианта [21].

Вариант 1. Образование димера D – полностью обратимый процесс. Продукты образуются непосредственно при взаимодействии двух радикалов. Принципиальная кинетическая схема имеет вид:

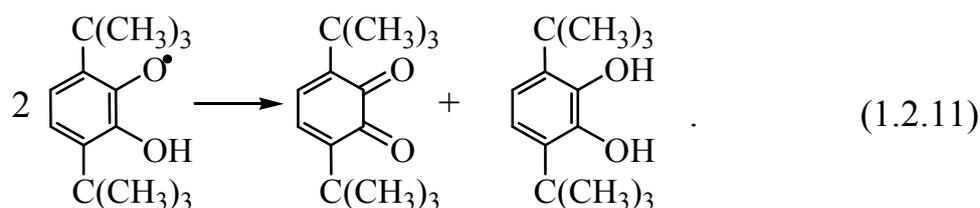


Вариант 2. Продукты диспропорционирования образуются в результате согласованного распада димера:



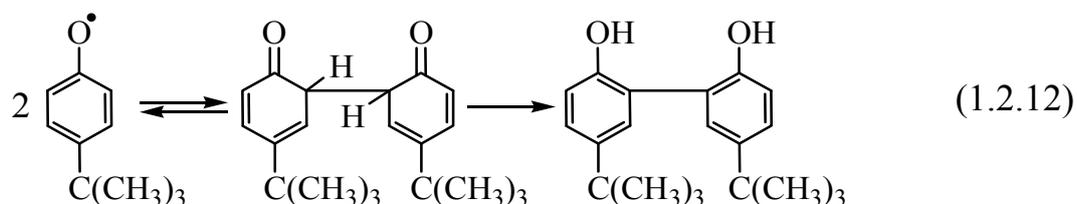
Выбор между этими двумя механизмами сделать достаточно сложно, так как кинетические закономерности суммарной реакции одинаковы для обеих схем. Предпочтительным представляется первый механизм, так как в этом случае можно ожидать низкую энергию активации и быстрое протекание реакции в отличие от диспропорционирования через распад димера.

Диспропорционирование гидроксизамещенных феноксилов также приводит к образованию хиноидных соединений – хинонов и исходного фенола:

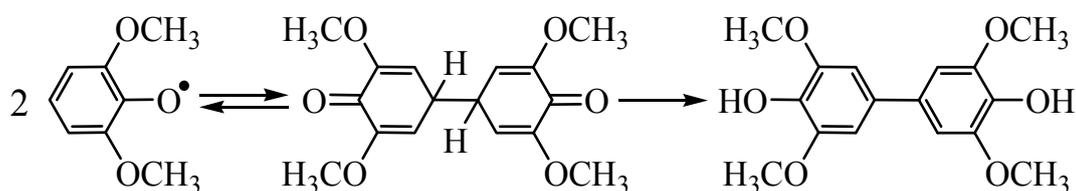


Для тех гидроксифенольных радикалов, у которых хотя бы одно из активных положений 2,4 или 6 не замещено, с процессом диспропорционирования (1.2.11) может в принципе конкурировать необратимая рекомбинация (1.2.12) [21].

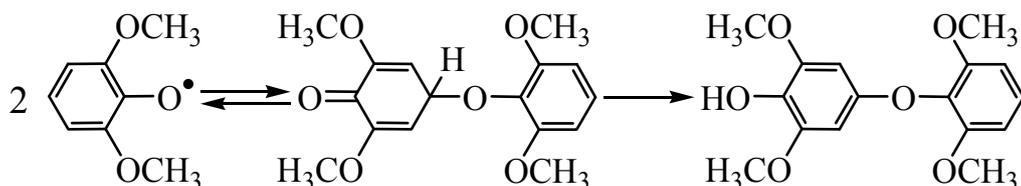
Реакции рекомбинации феноксилов. Если феноксильный радикал имеет свободное орто- или пара- положение, то рекомбинация протекает в две стадии – сначала образуется кетодимер, который затем перегруппировывается в бис-фенол:



Превращение кетодимера в бис-фенол ускоряется в углеводородном растворителе кислотами. Если равновесие сдвинуто вправо и лимитируется стадией енолизации, то реакция протекает по первому порядку. Полярность растворителя влияет на способ рекомбинации диорто-замещенных феноксильных радикалов. В полярных растворителях (диметилформамид, карбоновые кислоты) происходит С–С-рекомбинация [20]:

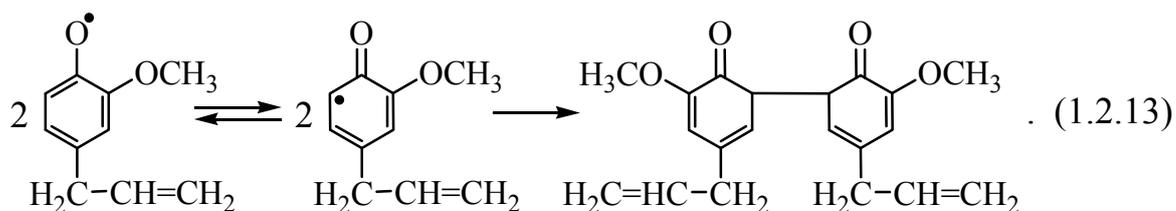


В неполярном бензоле идет О–С-рекомбинация:



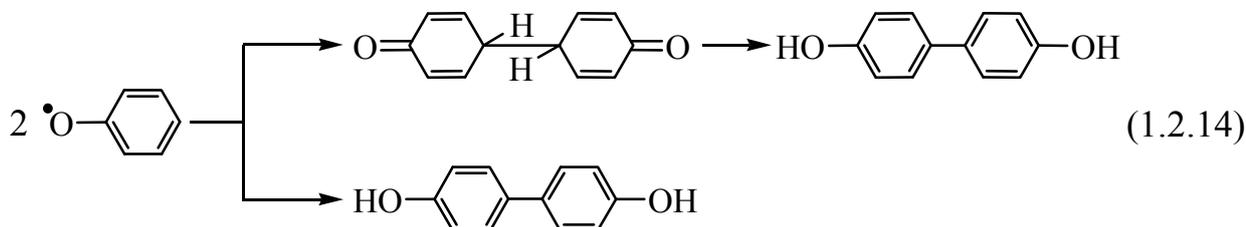
В случае незамещенного феноксила следует ожидать преимущественно образования о,п- и о,о-СС-димеров. Это хорошо согласуется с экспериментом [21].

Для объяснения пролонгированной антирадикальной активности различных природных фенольных соединений (таких как эвгенол, цингерон и другие) в реакции с DPPH• предполагается [25], что происходит димеризация (1.2.13) между двумя феноксильными радикалами со свободными пара- и орто-положениями:

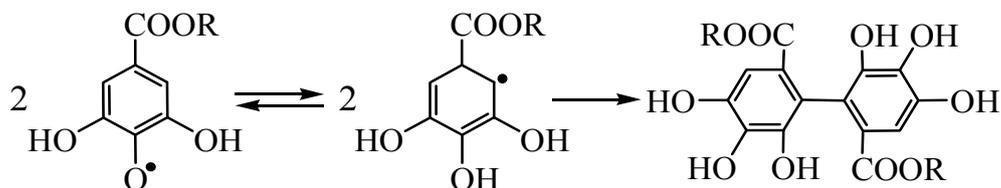


После димеризации две гидроксильные группы могут снова взаимодействовать с радикалом.

Реакции димеризации характерны особенно для незамещенных и монозамещенных феноксилов (фенола, пирокатехина, гидрохинона, пирогаллола и других гидроксibenзолов), образующихся как в реакции со свободными радикалами [26], так и при фотолизе безкислородных водных растворов фенолов [27].



В реакции DPPH• с эфирами галловой кислоты также были выделены и идентифицированы димерные соединения как вторичные продукты превращения природных фенолов. Предложен следующий механизм образования димеров из радикалов алкилгаллатов [28]:



Реакционная способность и токсичность образующихся вторичных продуктов превращения природных фенолов во многом определяет их биологическую активность [29] и возможность применения в качестве биологически активных добавок и пищевых антиоксидантов.

Целью данного этапа работы является идентификация вторичных продуктов превращения различных групп растительных фенольных соединений (табл. 1.1.1) в реакции с гидразильным радикалом в деоксигенированном апротонном растворителе при $T=293\pm 2$ К.

Реакция PhOH с DPPH• проводилась при $T=293\pm 2$ К в диметилсульфоксиде (подраздел 1.2.1), из которого предварительно удаляли O_2 путем барботирования аргоном в течение 15–20 минут, что позволило исключить возможные реакции фенолов и продуктов их превращения с участием кислорода.

По кривым расходования радикала DPPH• во времени видно (рис. 1.2.1а), что реакция протекает в две стадии: начальный (первый) резко убывающий линейный участок соответствует элементарной стадии взаимодействия фенола с DPPH• (реакция 1.2.2) с образованием феноксильного радикала, а затем следует второй участок – медленное расходование радикала, по-

видимому, обусловленное участием в реакции малоактивных вторичных продуктов превращения PhOH.

На этих линейных участках по их тангенсу угла наклона были определены скорости исследуемой реакции. На примере группы ди- и тригидроксибензолов (соединения **1–8**) видно (табл. 1.2.4), что на первом участке, где в реакцию с DPPH[•] вступает непосредственно гидроксибензол, скорость составляет приблизительно $v_0=10^{-6}-10^{-9}$ моль·л⁻¹·с⁻¹, а на участке медленного расходования радикала, где, как мы предполагаем, действует продукт превращения фенола, скорость снижается на 1–2 порядка ($v_1=10^{-7}-10^{-10}$ моль·л⁻¹·с⁻¹). Аналогичные результаты получаются для всех изученных групп растительных фенолов, кроме сиреневой и синаповой кислот (соединения **25**, **41**), где реакция на втором участке полностью останавливается.

Таблица 1.2.4 – Экспериментальные величины скоростей реакции ди- и тригидроксибензолов с DPPH[•] на начальном (v_0) и конечном (v_1) линейном участке кинетических кривых. [PhOH]=[DPPH[•]]= $5 \cdot 10^{-5}$ моль·л⁻¹. Растворитель – dmsO, T=293±2 К.

Соединение	v_0 , моль·л ⁻¹ ·с ⁻¹	v_1 , моль·л ⁻¹ ·с ⁻¹
1 – пирокатехин	$(9,3 \pm 0,4) \cdot 10^{-7}$	$(2,58 \pm 0,11) \cdot 10^{-8}$
2 – резорцин	$(5,91 \pm 0,21) \cdot 10^{-9}$	$(4,24 \pm 0,15) \cdot 10^{-10}$
3 – орцин	$(8,5 \pm 0,4) \cdot 10^{-9}$	$(7,2 \pm 0,3) \cdot 10^{-10}$
4 – гидрохинон	$(1,45 \pm 0,05) \cdot 10^{-6}$	$(7,3 \pm 0,3) \cdot 10^{-8}$
5 – метиловый эфир гидрохинона	$(1,62 \pm 0,05) \cdot 10^{-6}$	$(8,1 \pm 0,4) \cdot 10^{-8}$
6 – пирогаллол	$(2,54 \pm 0,11) \cdot 10^{-6}$	$(1,26 \pm 0,05) \cdot 10^{-7}$
7 – флороглюцин	$(3,57 \pm 0,12) \cdot 10^{-9}$	$(1,82 \pm 0,06) \cdot 10^{-10}$
8 – оксигидрохинон	$(1,89 \pm 0,06) \cdot 10^{-6}$	$(6,21 \pm 0,22) \cdot 10^{-8}$

Подтвердить влияние на кинетику исследуемого процесса продуктов окисления PhOH можно также путем установления стехиометрических параметров реакций на разных участках кинетических кривых.

По методу Вант-Гоффа [30] по начальным скоростям v_0 было определено (рис. 1.2.6а), что исследуемая реакция имеет первый частный порядок как по PhOH (n_{PhOH}), так и по DPPH[•] ($n_{\text{DPPH}^{\bullet}}$).

$$v_0 = k' [\text{DPPH}^{\bullet}]_0^{n_{\text{DPPH}^{\bullet}}} \cdot [\text{PhOH}]_0^{n_{\text{PhOH}}},$$

если $[\text{DPPH}^{\bullet}] \gg [\text{PhOH}]$, то

$$k' [\text{DPPH}^{\bullet}]_0^{n_{\text{DPPH}^{\bullet}}} = k,$$

$$v_0 = k [\text{PhOH}]_0^{n_{\text{PhOH}}},$$

$$\lg v_0 = \lg k + n_{\text{PhOH}} \cdot \lg[\text{PhOH}]_0.$$

Из зависимости $\lg v_0$ от $\lg[\text{PhOH}]_0$ (рис. 1.2.6б) по угловому параметру полученной линейной регрессии получаем $\text{tg}\alpha = b_1 = n_{\text{PhOH}}$.

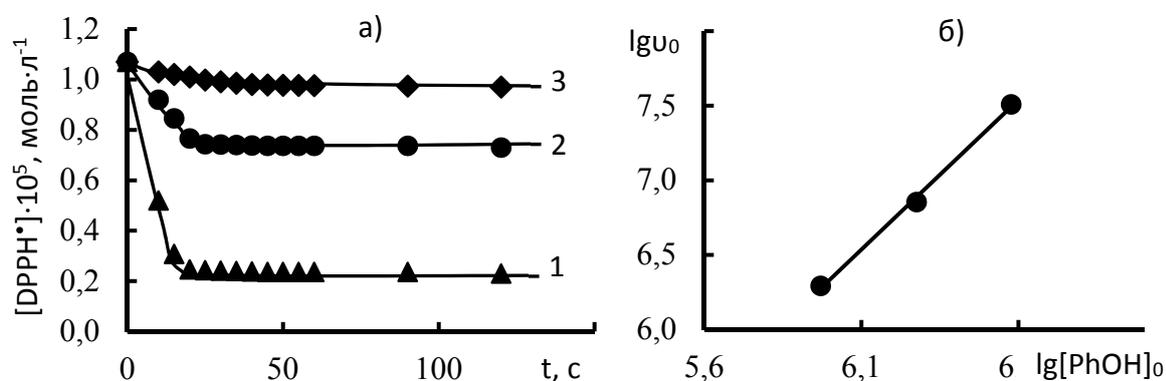


Рис. 1.2.6 – Определение псевдопорядка реакции по веществу методом Вант-Гоффа по начальным скоростям реакции (б), рассчитанным из кинетических кривых расщедования DPPH• во времени в dmsо при T=293±2 К (а). Начальная концентрация пирогаллола [PhOH]₀: 1 – 2,07·10⁻⁶; 2 – 1,07·10⁻⁶; 3 – 0,53·10⁻⁶ моль·л⁻¹.

Тогда общий порядок реакции n_{v_0} как сумма частных порядков по веществам составит два (табл. 1.2.5), что подтверждено соответствующей линеаризацией кинетических кривых (рис. 1.2.1а) в координатах уравнения реакции 2-го порядка для всех групп изученных соединений (рис. 1.2.1б). Значения n_{v_0} , определенные в начальный момент времени, характеризуют первую элементарную стадию (1.2.2) реакции взаимодействия гидроксибензолов с гидразильным радикалом.

Таблица 1.2.5 – Кинетические и стехиометрические параметры реакции взаимодействия PhOH и DPPH• в dmsо при T=293±2 К.

Соединение	$n_{\text{DPPH}\bullet}$	n_{PhOH}	n_{v_0}	$n_{\tau_{1/2}}$
1 – пирокатехин	1,01	1,00	2, 01	2,92
2 – резорцин	0,98	0,99	1,97	2,75
3 – орцин	0,97	1,00	1,97	3,22
4 – гидрохинон	1,00	1,02	2,02	3,15
5 – метиловый эфир гидрохинона	1,01	0,98	1,99	3,82
6 – пирогаллол	1,08	1,00	2,08	3,71
7 – флороглюцин	0,97	0,98	1,95	2,84
8 – оксигидрохинон	1,03	1,02	2,05	3,53

На конечном участке кинетических кривых общий порядок $n_{\tau_{1/2}}$ определялся [30] по величине периода полупревращения DPPH^{\bullet} (рис. 1.2.7а).

Если $[\text{DPPH}^{\bullet}]_0 = [\text{PhOH}] = C_0$, то для реакции n -го порядка

$$\tau_{1/2} = \frac{2^{n-1} - 1}{k(n-1)} \frac{1}{C_0^{n-1}}.$$

Прологарифмируем это выражение, тогда

$$\lg \tau_{1/2} = \lg \frac{2^{n-1} - 1}{k(n-1)} - (n-1) \lg C_0.$$

Из зависимости $\lg \tau_{1/2}$ от C_0 (рис. 1.2.7б) по угловому параметру регрессии получаем $\text{tg} \alpha = b_1 = -(n-1)$, $n = b_1 + 1$.

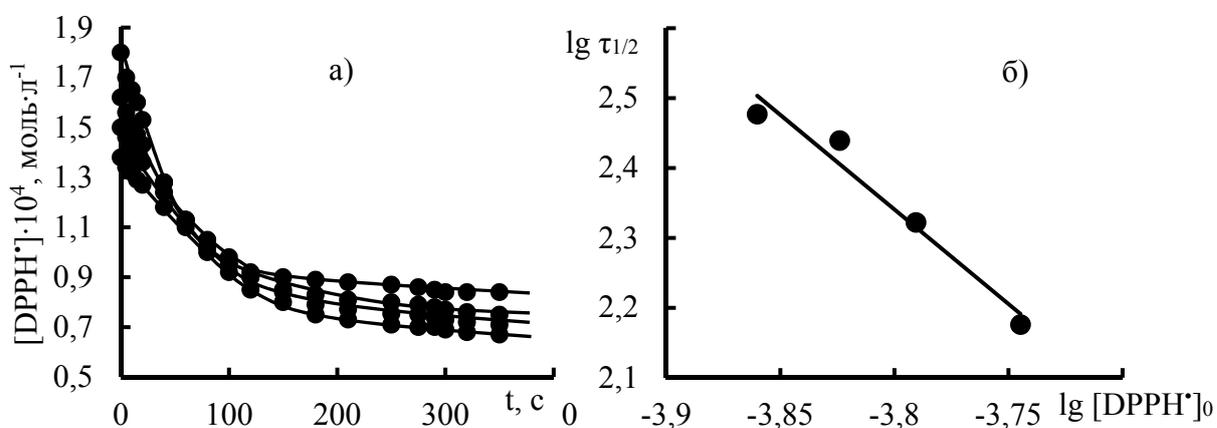
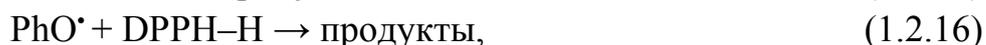


Рис. 1.2.7 – Определение общего порядка реакции (б) по периоду полупревращения DPPH^{\bullet} ($\tau_{1/2}$), рассчитанного из кинетических кривых расходования радикала в присутствии пирогаллола (а). Растворитель – dmso . $T = 293 \pm 2$ К. Соотношение $[\text{DPPH}^{\bullet}]_0 : [\text{PhOH}]_0 = 1:1$.

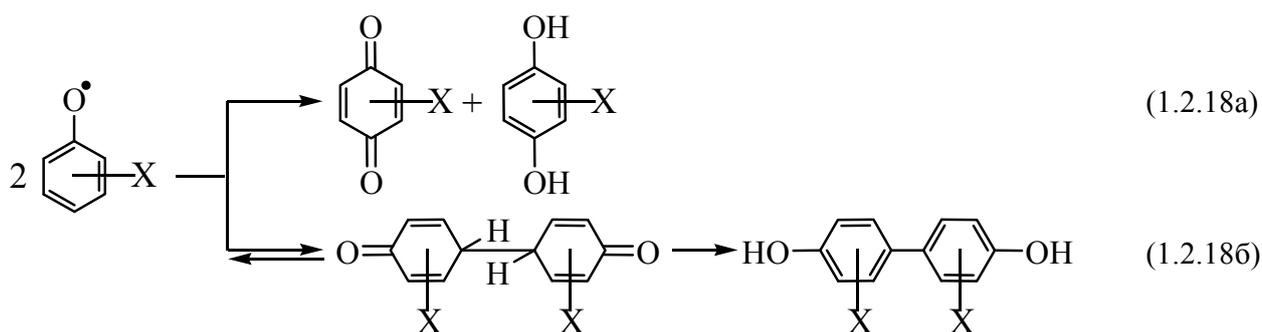
Полученные значения $n_{\tau_{1/2}}$ явно превышают величины n_{ν_0} и изменяются приблизительно от 3 до 4 (табл. 1.2.5), что указывает на участие в реакции с радикалом не только PhOH , но и продуктов его превращения.

В каких реакциях возможно их образование? В исследуемой системе это процессы с участием феноксильных радикалов:



При этом реакция с кислородом (1.2.15) исключается, так как предварительно растворитель деоксигенируется путем барботирования Ar. Реакция (1.2.16) с продуктом восстановления радикала – дифенилпикрилгидразином протекать не будет, поскольку это достаточно устойчивое соединение, не обладающее антирадикальными свойствами. Остается два конкурирующих процесса (1.2.17) и (1.2.18), где доминировать, вероятнее всего, будет реакция (1.2.18) взаимодействия феноксильных радикалов PhO^\bullet . Это обусловлено тем, что, во-первых, феноксилы природных неэкранированных фенолов более активны, чем радикал DPPH^\bullet , имеющий пространственные затруднения, во-вторых, для упрощения процесса идентификации продуктов превращения PhO^\bullet опыты проводили при большом избытке фенола, а значит $[\text{DPPH}^\bullet] \ll [\text{PhO}^\bullet]$.

В исследуемой системе реакция между феноксилами (1.2.18) является наиболее вероятным путем образования хинонов как продуктов обратимого окисления фенолов по реакции диспропорционирования (1.2.18a) и димерных соединений – продуктов необратимого окисления PhOH по реакции рекомбинации (1.2.18б):



При этом надо иметь ввиду, что для гидроксифеноксильных радикалов, у которых хотя бы одно из активных положений 2, 4 или 6 не замещено, с процессом диспропорционирования (1.2.18a) будет конкурировать необратимая рекомбинация (1.2.18б) [21]. Если же PhO^\bullet имеют О–Н группы в м-положении или не содержат алкильных и гидроксизаменителей со слабо связанным атомом Н во 2 и 4 положении, то тогда рекомбинация (1.2.18б) является единственным путем образования стабильных продуктов превращения PhO^\bullet .

Идентификация указанных димерных соединений и хинонов проводилась методами ИК-Фурье (Bruker Tensor 27) и ЯМР-спектроскопии (Bruker Avance-II-400).

На ИК-спектре радикала DPPH^\bullet видны (рис. 1.2.8 в) выраженные характерные пики при 3090 и 1600–1580 см^{-1} . Анализ ИК-Фурье-спектров

исследуемых групп индивидуальных фенолов – гидроксibenзолов, флавоноидов, фенолкарбонных, гидроксикоричных кислот и их смесей с DPPH• (1.2.8–1.2.11) вначале проводили в области валентных колебаний функциональных фенольных O–H и кетонных C=O групп. Установлено, что в области от 1600 до 1900 см⁻¹ на спектрах всех исследуемых смесей фенолов с радикалом новые пики, характерные группе C=O хинонов, не появляются. В тоже время широкая полоса от 3650–3590 см⁻¹, принадлежащая валентным колебания фенольных групп на спектрах индивидуальных фенолов (рис. 1.2.8–1.2.11 а), смещается в область меньших частот 3550–3450 см⁻¹ для смесей с радикалом (рис. 1.2.8–1.2.11 б), что характерно для димерных фенольных соединений [30]. Идентифицировав группу O–H в области функциональных частот, подтверждали ее существование соответствующими деформационными колебаниями при 1410–1310 см⁻¹. Причем, деформационные колебания фенольных групп, в отличие от валентных, не чувствительны к наличию димерных и полимерных фенолов.

Далее проводились аналогичные исследования методом ¹³C ЯМР- и ¹H ЯМР-спектроскопии при условии избытка PhOH в реакционной смеси.

Для этого вначале получали прогнозируемые (расчетные) ¹³C ЯМР-спектры о- или п-хинонов, образующихся из соответствующих фенолов, в программе Marvin 16.1.11 (табл. 1.2.6). Видно, что пики, характерные для C=O, должны лежать в интервале химических сдвигов от 179 до 200 м.д., что соответствует и литературным данным [30, 31]. Однако при сравнении полученных результатов с экспериментальными ¹³C ЯМР-спектрами индивидуальных фенолов и их смесей с радикалом (рис. 1.2.12–1.2.14 а, б) оказалось, что новых пиков после реакции в этой области не наблюдается. Исключение составляют спектры гидрохинона (рис. 1.2.1а), где после реакции с радикалом (1.2.15в) появляется новый сигнал – синглет при 187,9 м.д., соответствующий C=O группе п-бензохинона (1.2.15б). В ряде работ [32, 33] также указывается на наличие пиков C=O групп хинонов в спектрах смесей некоторых природных фенолов с DPPH•. Таким образом, для природных фенольных соединений дальнейшее превращение феноксилов может осуществляться как по реакции димеризации, так и с образованием хиноидных структур путем диспропорционирования.

Иная картина наблюдается в случае ¹H ЯМР-спектров. На всех исследуемых спектрах реакционных смесей присутствует сигнал в области 10,59–11,04 м.д., характеризующий группу N–H продукта превращения DPPH• – дифенилпикрилгидразина. Для группы наиболее простых природных

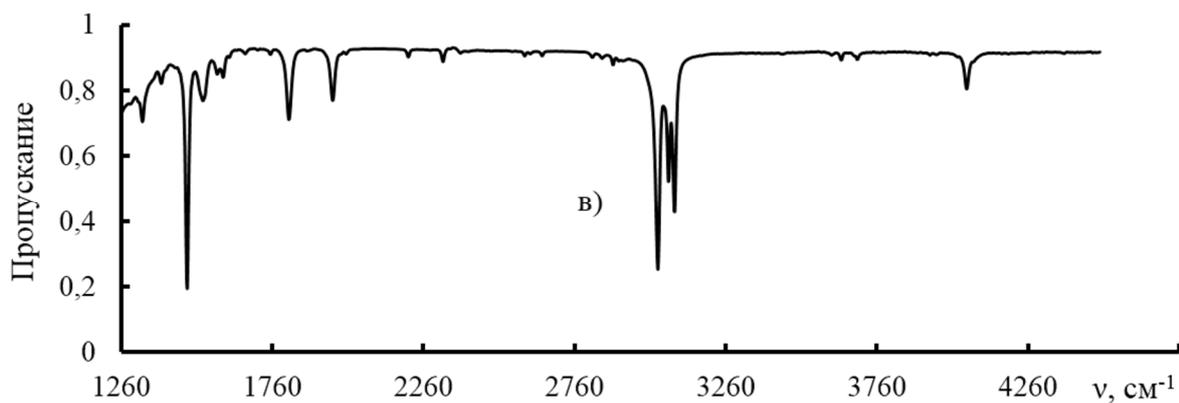
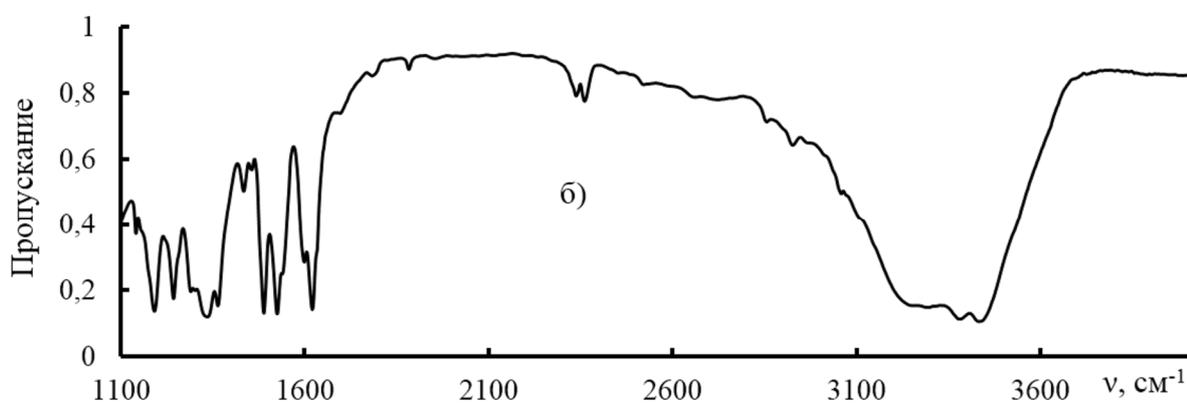
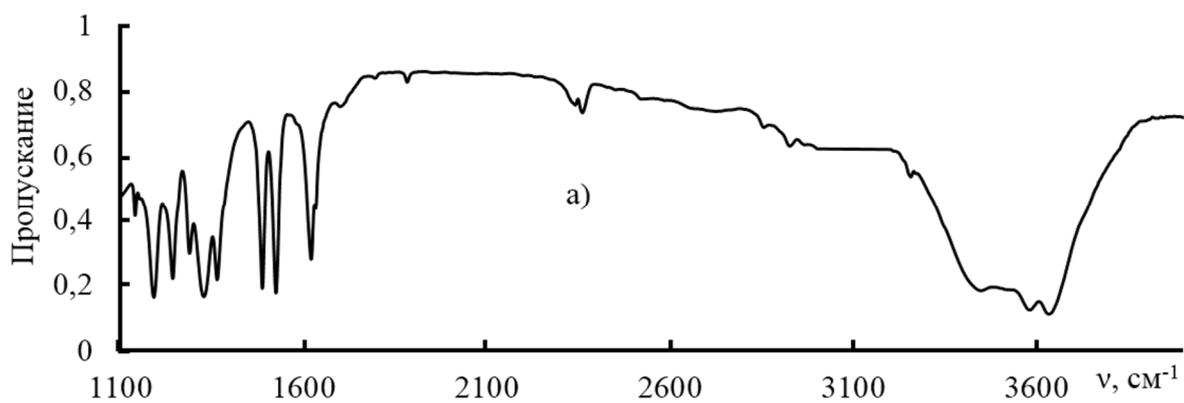


Рисунок 1.2.8 – ИК-Фурье-спектры DPPH* ($C=0,05$ моль·л⁻¹) (в), пирогаллола ($C=0,05$ моль·л⁻¹) (а) и их смеси (1:1) (б). Растворитель – бензол:ацетон (5:1). Таблетки КВг. $T=293\pm 2$ К

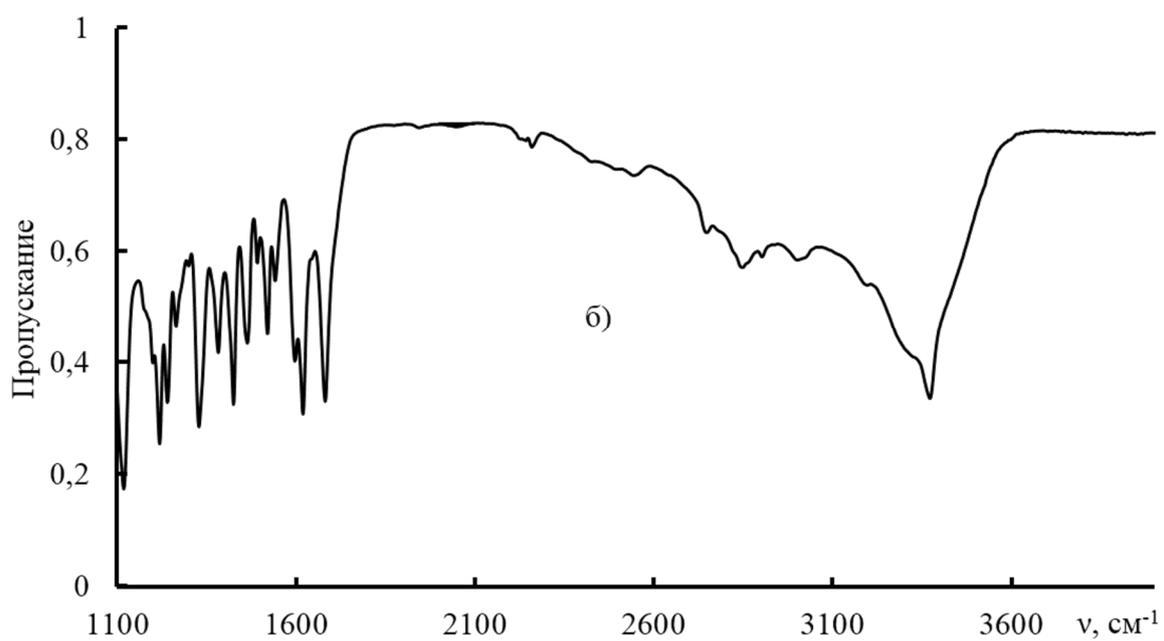
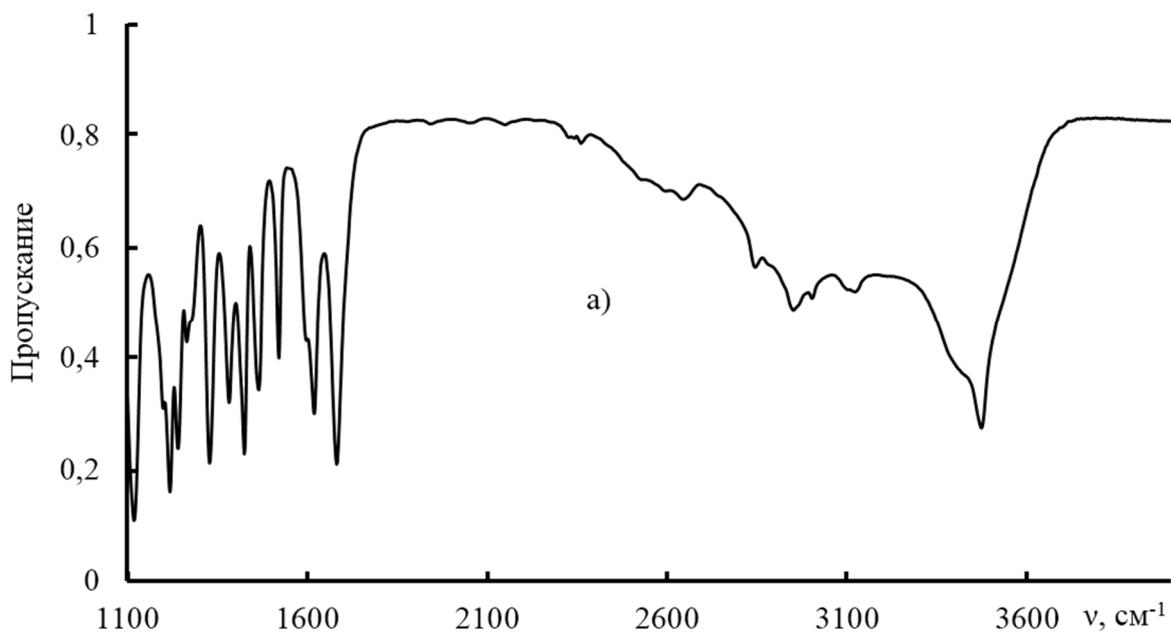


Рисунок 1.2.9 – ИК-Фурье-спектры сиреневой кислоты ($C=0,05$ моль·л⁻¹) (а) и ее смеси с DPPH• ($C=0,05$ моль·л⁻¹) (1:1) (б). Растворитель – бензол:ацетон (5:1). Таблетки KBr. $T=293\pm 2$ К

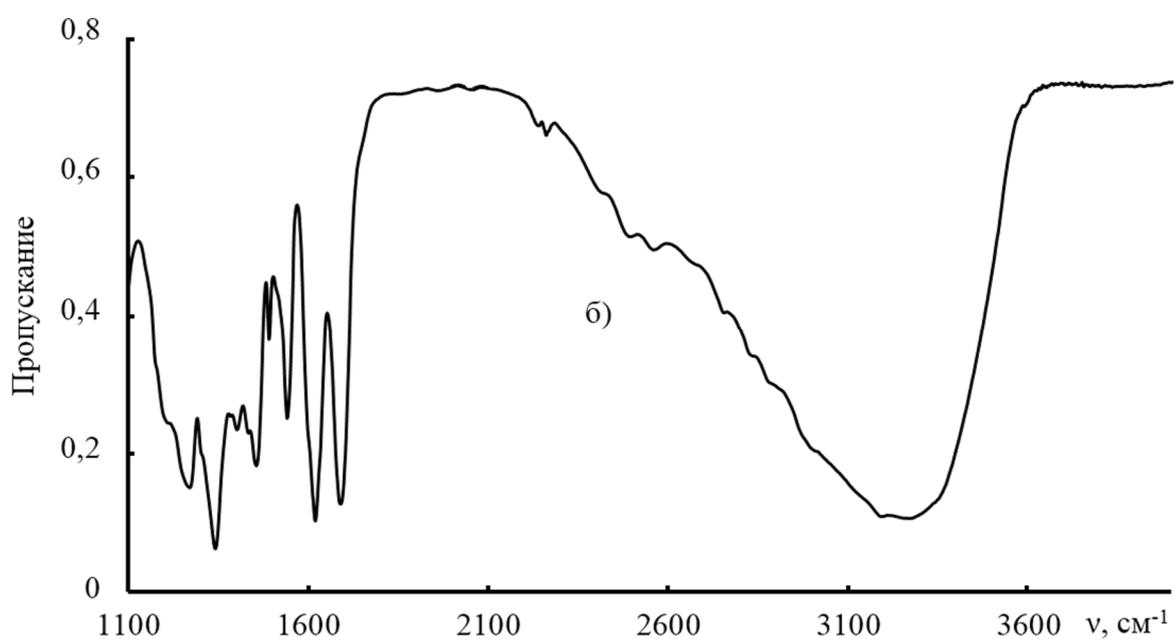
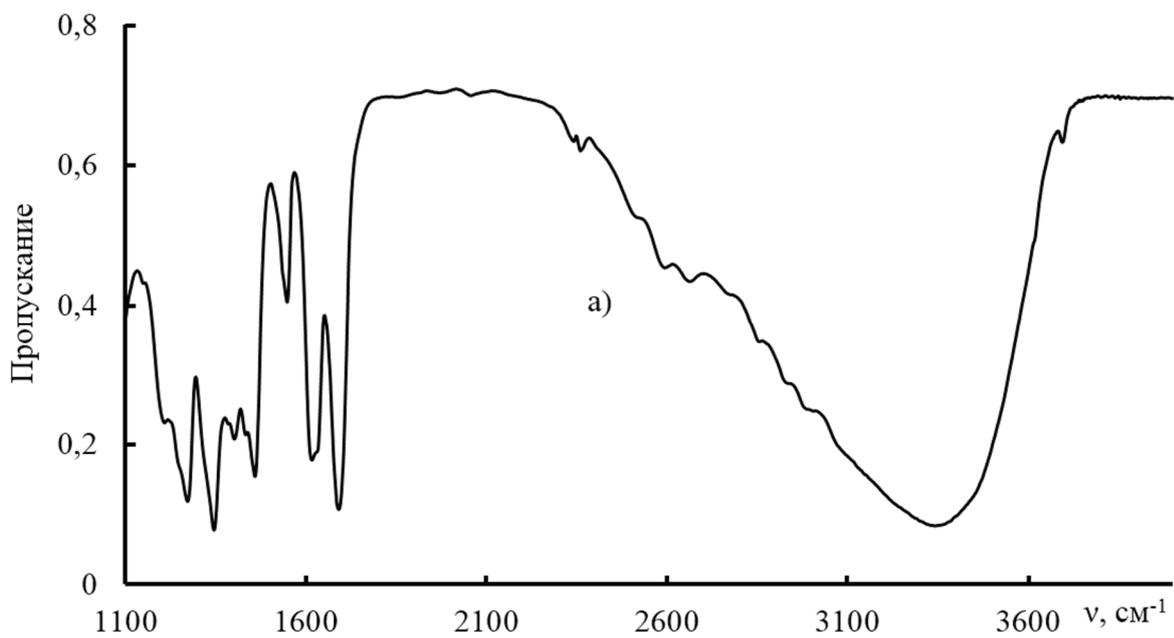


Рисунок 1.2.10 – ИК-Фурье-спектры кверцетина ($C=0,05$ моль·л⁻¹) (а) и его смеси с DPPH* ($C=0,05$ моль·л⁻¹) (1:1) (б). Растворитель – бензол:ацетон (5:1). Таблетки KBr. $T=293\pm 2$ К

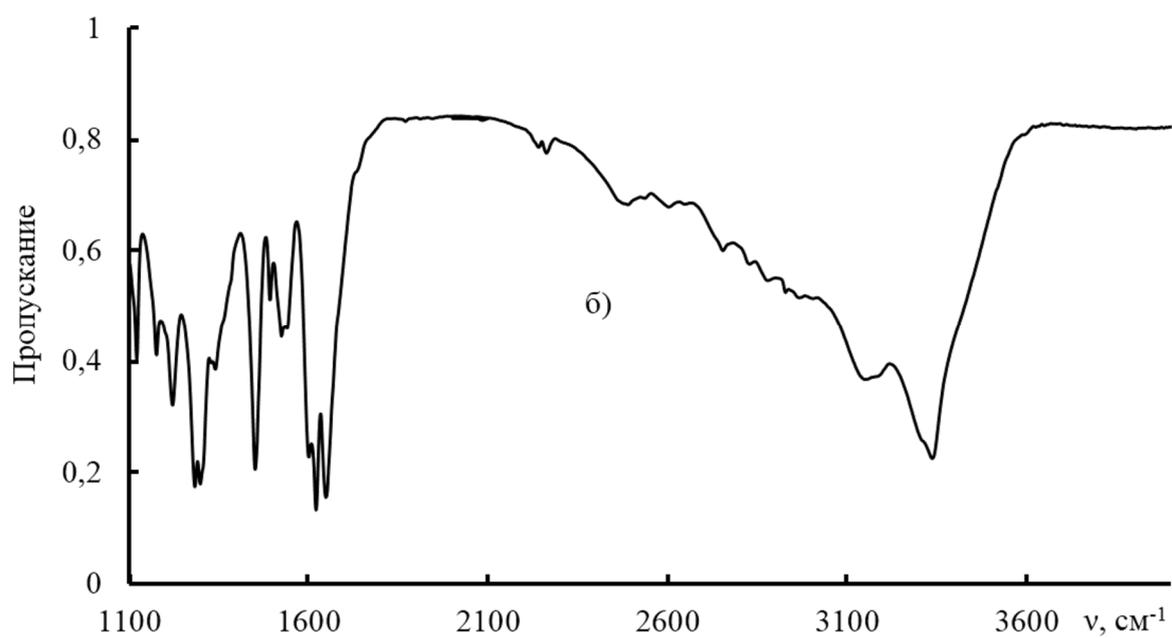
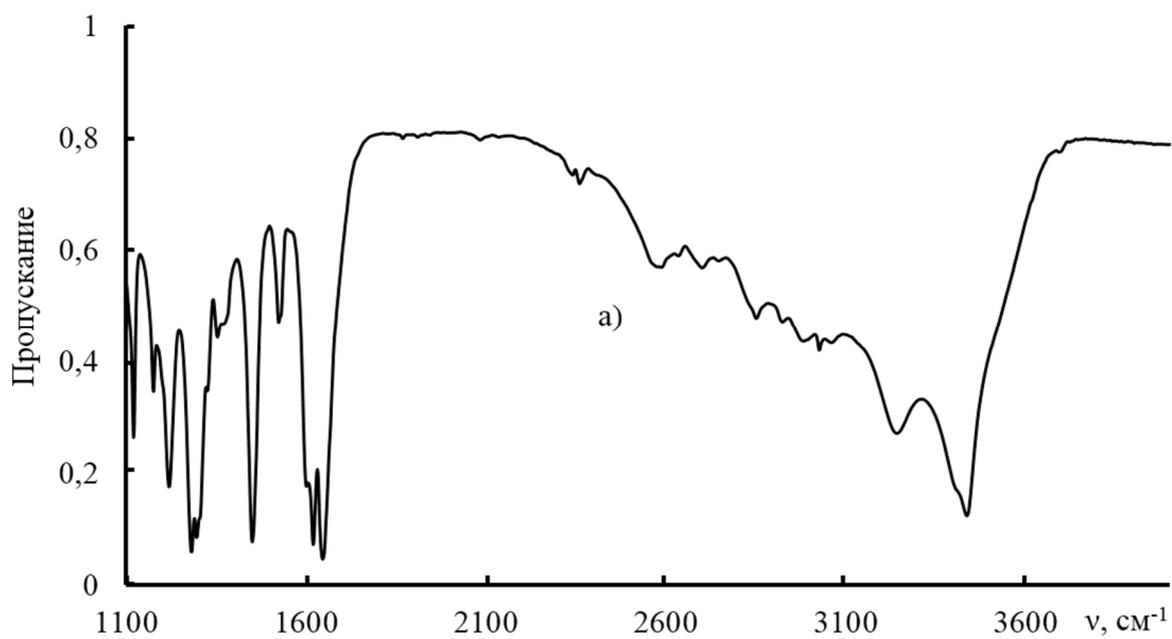
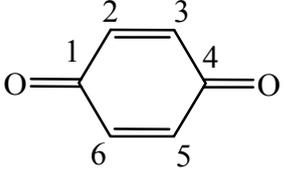
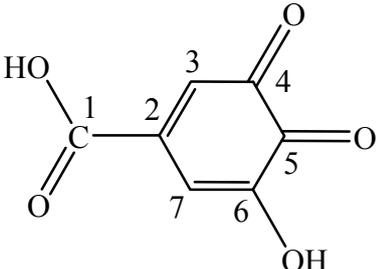
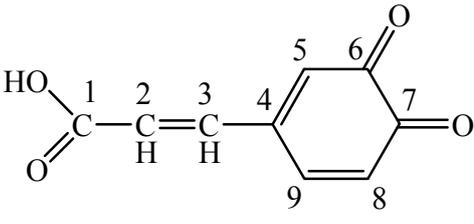
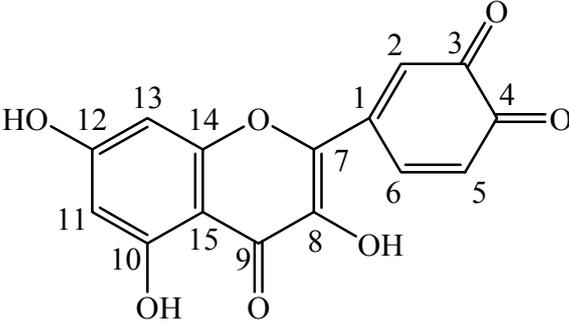


Рисунок 1.2.11 – ИК-Фурье-спектры кофейной кислоты ($C=0,05$ моль·л⁻¹) (а) и ее смеси с DPPH• ($C=0,05$ моль·л⁻¹) (1:1) (б). Растворитель – бензол:ацетон (5:1). Таблетки KBr. $T=293\pm 2$ К

Таблица 1.2.6 – Химические сдвиги ^{13}C (δ_{C}) в хинонах, образующихся из фенолов группы гидроксibenзолов, флавоноидов, гидроксibenзойных и гидроксикоричных кислот. Расчет проведен в программе Marvin 6.1.11 (растворитель – dms o -d $_6$)

Соединение	Группа	δ_{C} , м.д.
	1 >C=O 2 –CH= 3 –CH= 4 >C=O 5 –CH= 6 –CH=	187,10 136,42 136,42 187,10 136,42 136,42
	1 –COOH 2 >C= 3 –CH= 4 >C=O 5 >C=O 6 (OH)>C= 7 –CH=	170,40 145,57 136,79 180,63 176,69 158,57 113,79
	1 –COOH 2 –CH= 3 –CH= 4 >C= 5 –CH= 6 >C=O 7 >C=O 8 –CH= 9 –CH=	167,10 124,90 139,33 147,28 133,04 180,52 179,23 129,54 140,91
	1 >C= 2 –CH= 3 >C=O 4 >C=O 5 –CH= 6 –CH= 7 >C= 8 (OH)>C= 9 >C=O 10 (OH)>C= 11 –CH= 12 (OH)>C= 13 –CH= 14 (O)>C= 15 >C=	150,74 136,38 180,52 179,23 129,54 131,29 155,30 140,51 176,50 161,85 99,18 165,11 94,67 156,37 105,30

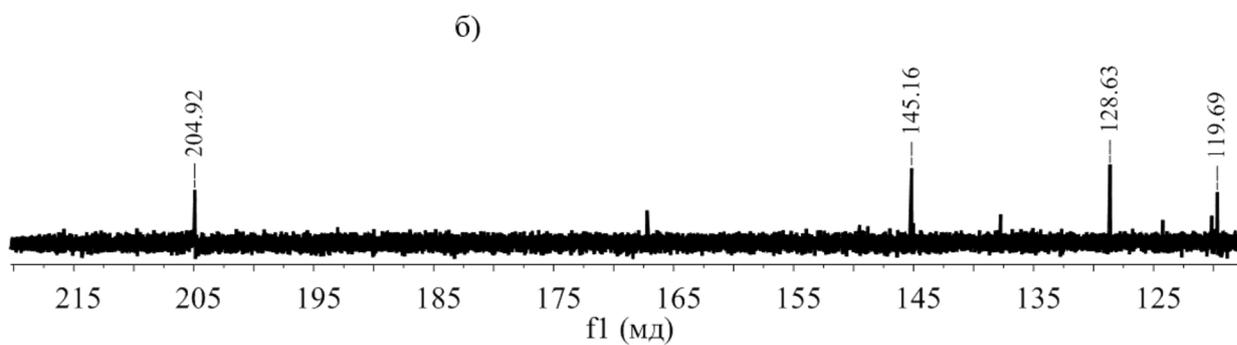
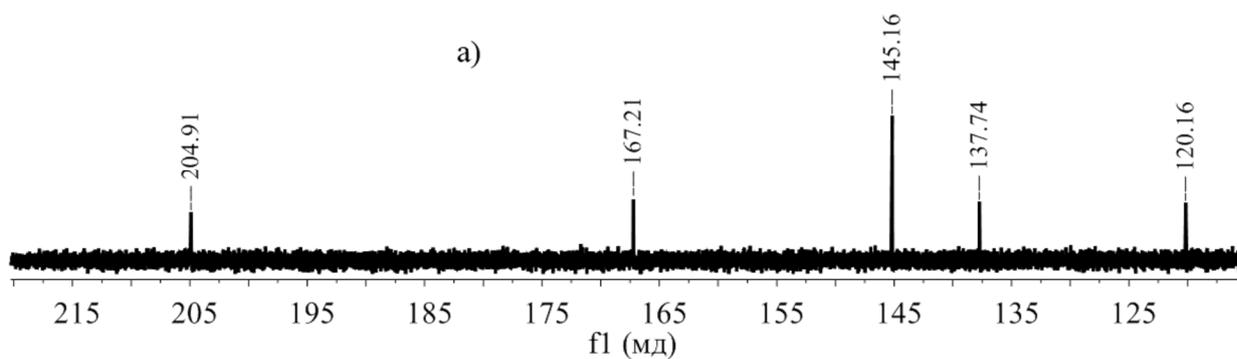


Рисунок 1.2.12 – ^{13}C ЯМР-спектры: а) галловой кислоты ($C=0,22$ моль·л $^{-1}$); б) смеси галловой кислоты ($C=0,11$ моль·л $^{-1}$) с DPPH ($C=0,025$ моль·л $^{-1}$) через 3 минуты после реакции ($T=293\pm 2$ К, dms o -d $_6$)

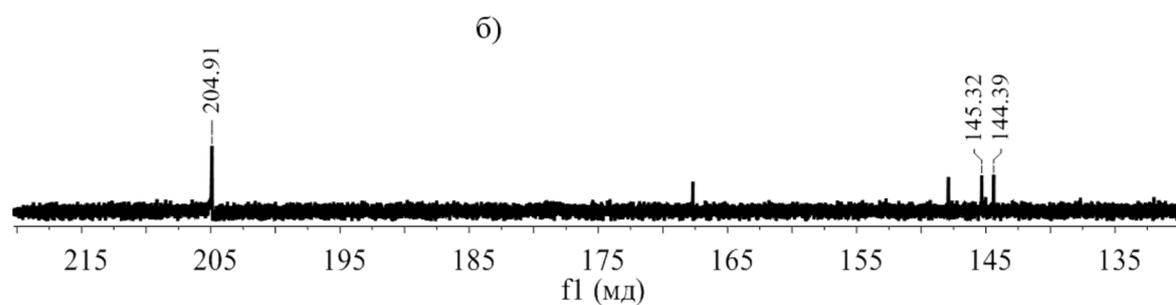
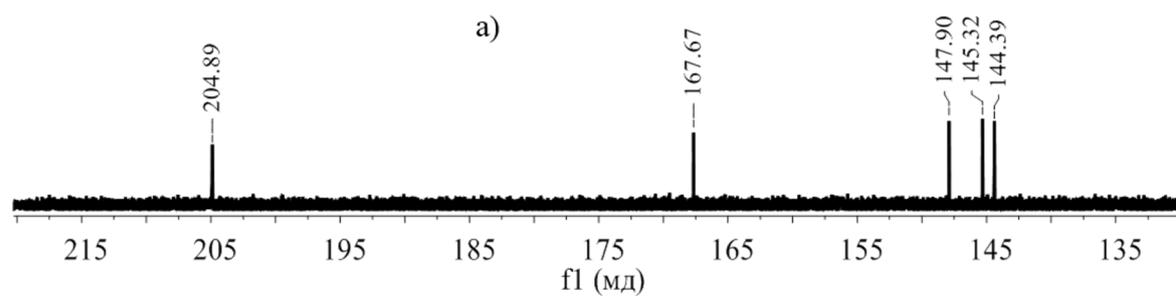


Рисунок 1.2.13 – ^{13}C ЯМР-спектры: а) кофейной кислоты ($C=0,22$ моль·л $^{-1}$); б) смеси кофейной кислоты ($C=0,11$ моль·л $^{-1}$) с DPPH* ($C=0,025$ моль·л $^{-1}$) через 3 минуты после реакции ($T=293\pm 2$ К, dms o -d $_6$)

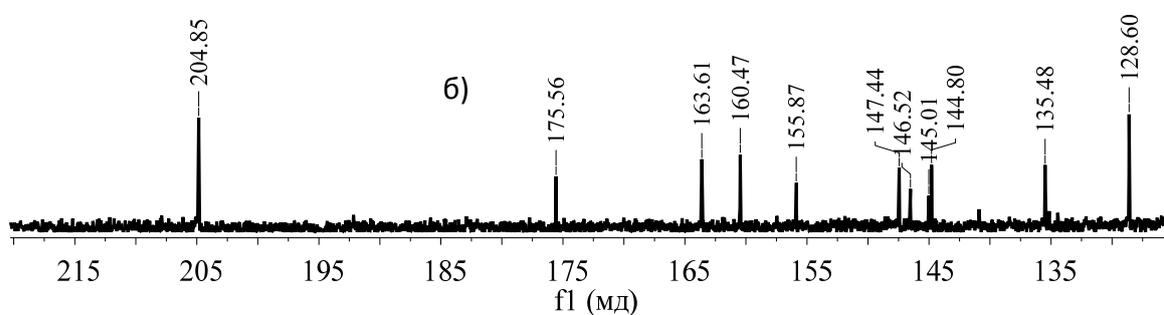
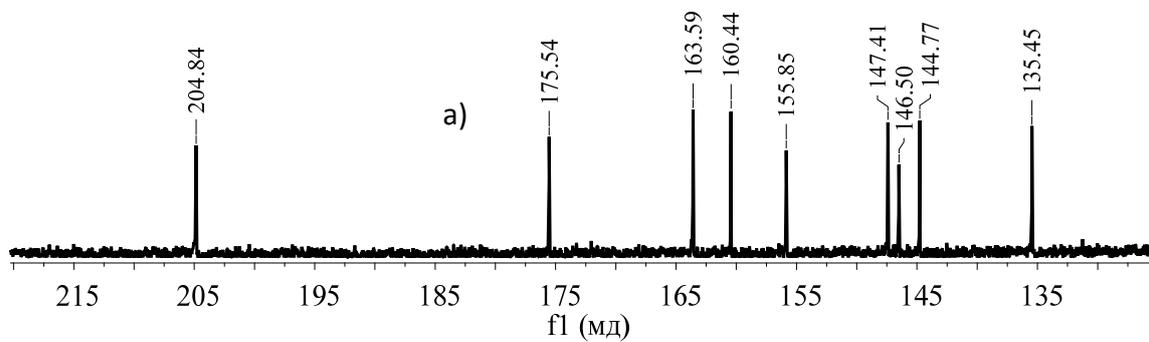


Рисунок 1.2.14 – ^{13}C ЯМР-спектры: а – кверцетина ($C=0,22$ моль·л $^{-1}$); б – смеси кверцетина ($C=0,11$ моль·л $^{-1}$) с DPPH $^{\bullet}$ ($C=0,025$ моль·л $^{-1}$) через 3 минуты после реакции ($T=293\pm 2$ К, dms o -d $_6$)

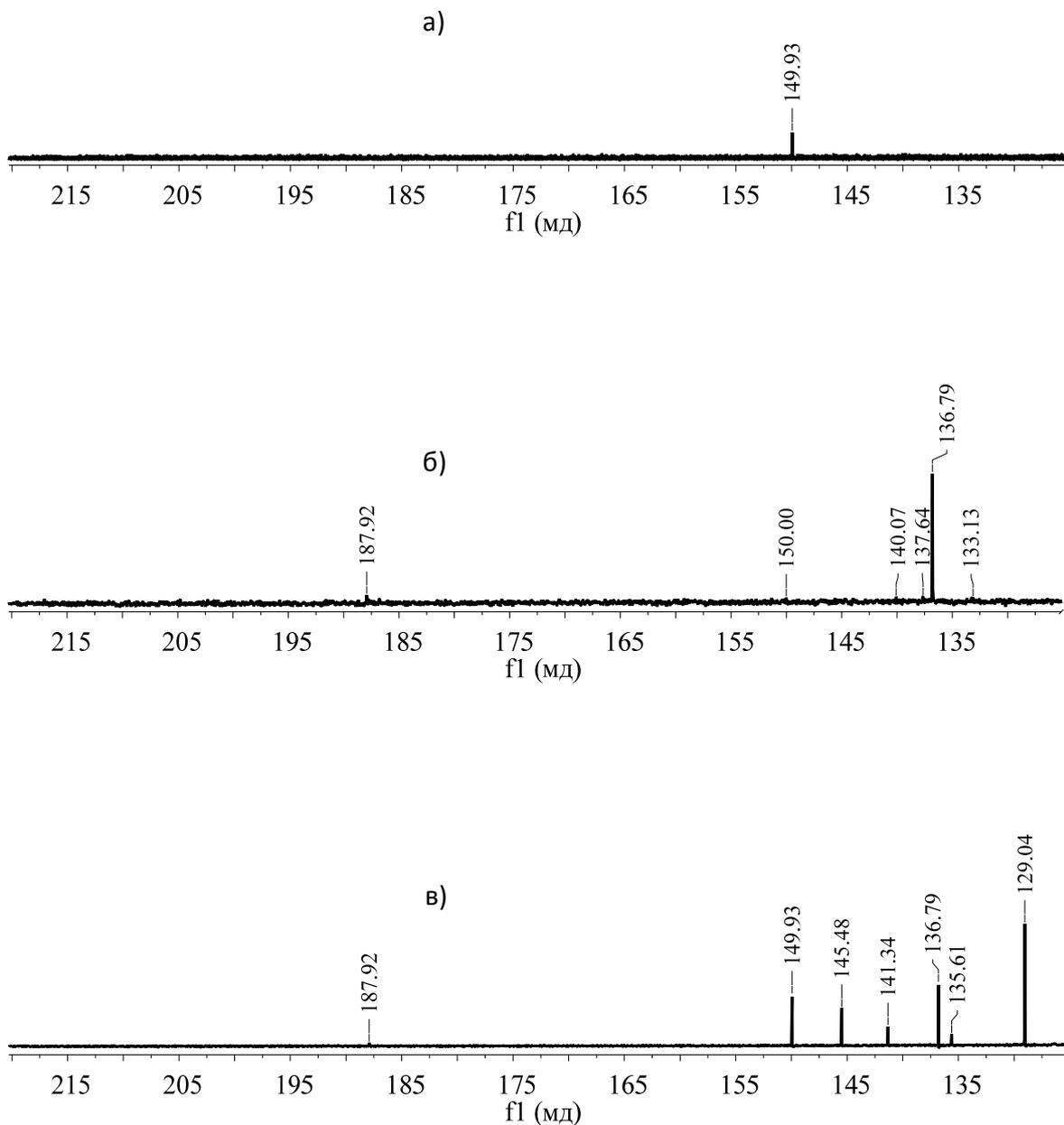


Рисунок 1.2.15 – ^{13}C ЯМР-спектры: а – гидрохинона ($C=0,22$ моль·л $^{-1}$); б – п-бензохинон ($C=0,22$ моль·л $^{-1}$); в – смеси гидрохинона ($C=0,11$ моль·л $^{-1}$) с DPPH $^{\bullet}$ ($C=0,025$ моль·л $^{-1}$) через 3 минуты после реакции ($T=293\pm 2$ К, dms o -d $_6$)

фенолов – гидроксibenзолов после реакции с DPPH[•] характерно появление двух дополнительных сигналов (8,88 и 8,17–8,19 м.д.) относительно химического сдвига протона О–Н группы гидрохинона при 8,61 м.д. (рис. 1.2.16 а, б). Эти сигналы могут относиться к продуктам превращения гидрохинона – фенольным димерам. Причем в области большего химического сдвига наблюдается пик (8,88 м.д.) соответствующий О–Н группам с внутримолекулярными водородными связями, в орто-положении к которым, по-видимому, идет процесс димеризации; пики (8,17–8,19 м.д.), характерные свободным группам О–Н фенолов, находятся в области меньших химических сдвигов протона [31].

Это подтверждается расчетными спектрами индивидуальных фенолов и соответствующих им димеров (прогноз проводился только для о,о-СС-димеров, которые, согласно литературным данным [20, 21], являются наиболее вероятными структурами). Видно (табл. 1.2.7), что на прогнозируемых ¹H ЯМР-спектрах фенольных димеров, как и в эксперименте, появляются пики, относящиеся к О–Н группам, в орто-положении к которым идет димеризация, и смещенные в область больших химических сдвигов; остальные фенольные группы дают сигнал при меньших значениях δ (в м.д.), чем гидроксигруппы в исходном феноле.

Аналогичные закономерности наблюдаются для соединений группы фенолкарбонных (рис. 1.2.17), гидроксикоричных (рис. 1.2.18) кислот и флавоноидов (рис. 1.2.19).

Исключение составляют ¹H ЯМР-спектры смесей сиреневой и синаповой кислот с радикалом, где после реакции не наблюдается появления новых полос, характерных фенольным группам. Причина может заключаться в том, что в реакции с DPPH[•] из соединений **25** и **41** образуются 2,4,6-замещенные феноксила, которые димеризуются, но без последующей енолизации до фенольного димера или диспропорционирования до хинона (метилехинона). Такие феноксила образуют неактивные в отношении DPPH[•] кетодимеры, с которыми они могут продолжительное время существовать в равновесии [35, 36]. Это предположение подтверждается, как было указано выше, отсутствием реакции сиреневой и синаповой кислот с гидразильным радикалом на конечных участках кинетических кривых.

Таким образом, для природных неэкранированных фенолов с незамещенным 2, 4 или 6 положением в бензольном кольце из двух конкурирующих механизмов (1.2.18а) и (1.2.18б) доминирующим является процесс рекомбинации феноксилов (1.2.18б) с образованием димерных

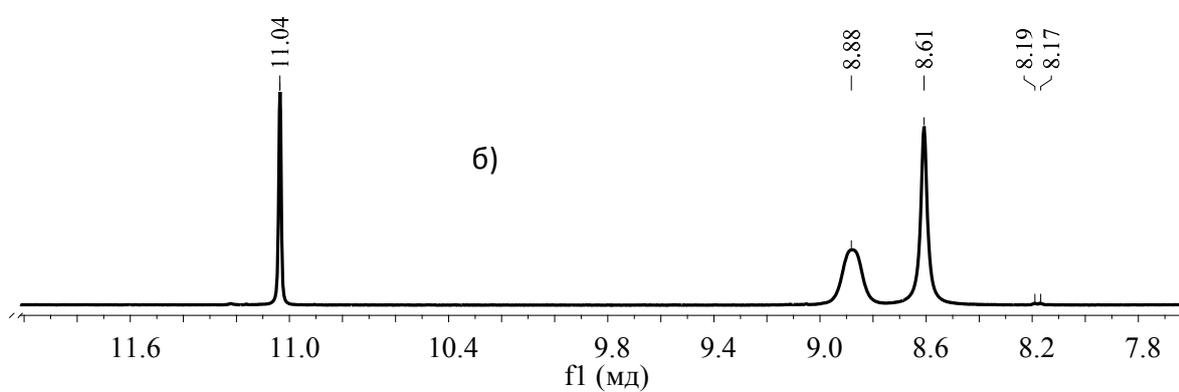
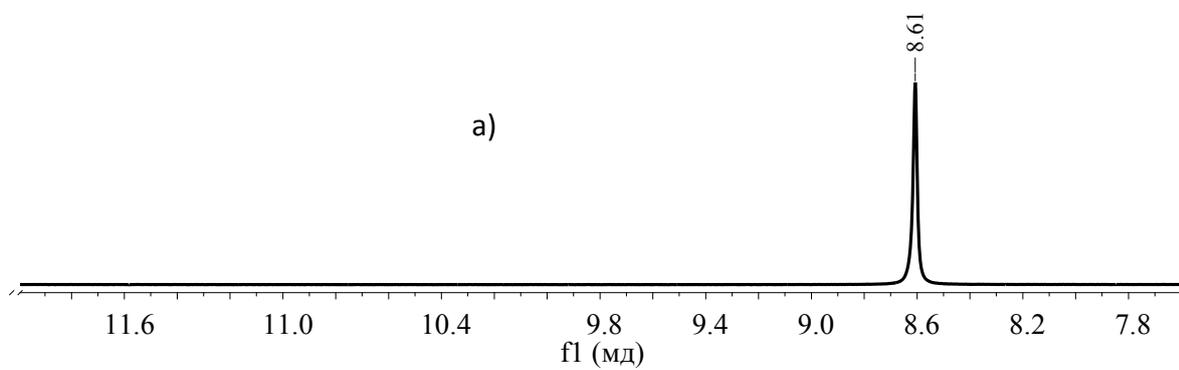
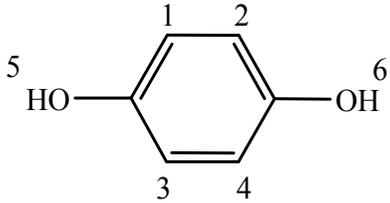
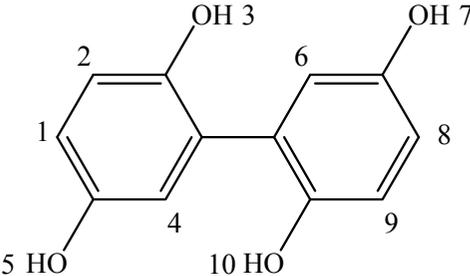
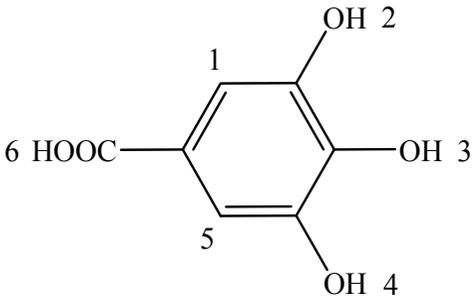
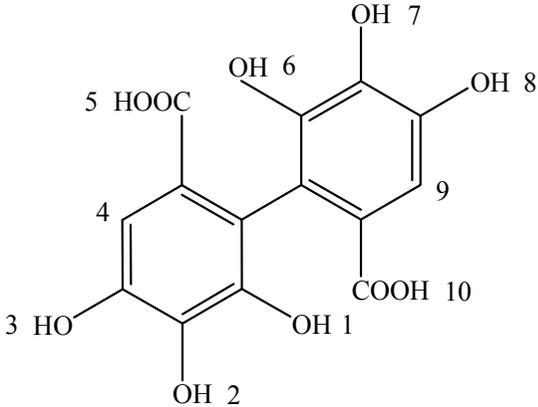
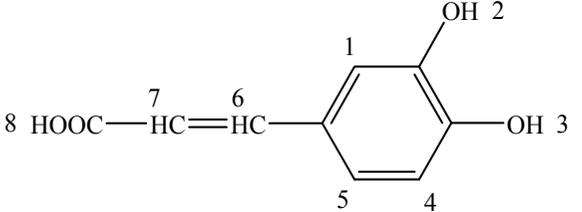
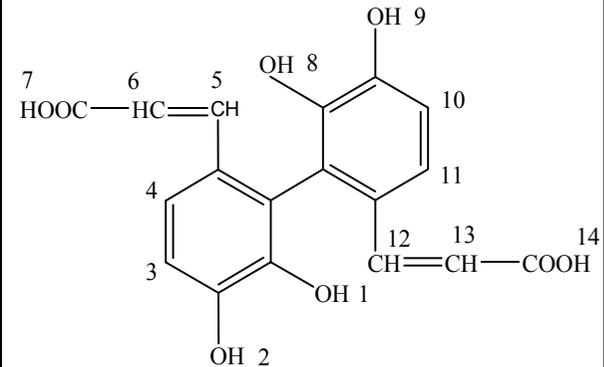
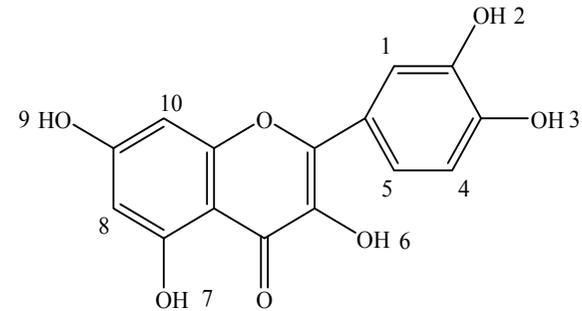
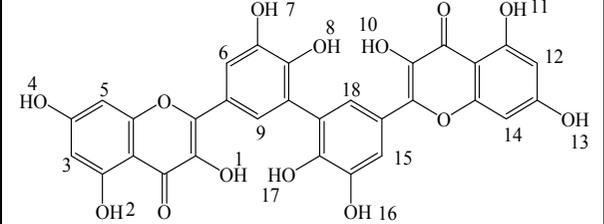


Рисунок 1.2.16 – ^1H ЯМР-спектры: а) гидрохинона ($C=0,22$ моль·л $^{-1}$); б) смеси гидрохинона ($C=0,11$ моль·л $^{-1}$) с DPPH $^{\bullet}$ ($C=0,025$ моль·л $^{-1}$) через 3 минуты после реакции ($T=293\pm 2$ К, dmsO- d_6)

Таблица 1.2.7 – Химические сдвиги протонов (δ_H) в фенолах и соответствующих о,о-СС-димерах группы гидроксibenзолов, флавоноидов, гидроксibenзойных и гидроксикоричных кислот. Расчет проведен в программе Marvin 6.1.11 (растворитель – dms o -d $_6$)

Фенол	Группа	δ_H , м.д.	Димер	Группа	δ_H , м.д.
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>
	1 –CH= 2 –CH= 3 –CH= 4 –CH= 5 –OH 6 –OH	6,71 6,71 6,71 6,71 8,12 8,12		1 –CH= 2 –CH= 3 –OH 4 –CH= 5 –OH 6 –CH= 7 –OH 8 –CH= 9 –CH= 10 –OH	6,64 7,01 10,07 6,94 7,08 6,94 7,08 6,64 7,01 10,07
	1 –CH= 2 –OH 3 –OH 4 –OH 5 –CH= 6 –COOH	7,09 5,02 5,02 5,02 7,09 11,70		1 –OH 2 –OH 3 –OH 4 –CH= 5 –COOH 6 –OH 7 –OH 8 –OH 9 –CH= 10 –COOH	10,72 7,07 5,02 6,83 12,93 10,72 7,07 5,02 6,83 12,93

1	2	3	4	5	6
	1 -CH= 2 -OH 3 -OH 4 -CH= 5 -CH= 6 -CH= 7 -CH= 8 -COOH	6,99 8,65 8,32 6,78 6,96 7,57 6,75 12,46		1 -OH 2 -OH 3 -CH= 4 -CH= 5 -CH= 6 -CH= 7 -COOH 8 -OH 9 -OH 10 -CH= 11 -CH= 12 -CH= 13 -CH= 14 -COOH	10,72 7,67 6,82 6,75 7,84 6,43 12,46 10,72 7,67 6,82 6,75 7,84 6,43 12,46
	1 -CH= 2 -OH 3 -OH 4 -CH= 5 -CH= 6 -OH 7 -OH 8 -CH= 9 -OH 10 -CH=	7,57 9,70 8,32 6,90 7,67 12,54 10,90 6,22 11,82 6,41		1 -OH 2 -OH 3 -CH= 4 -OH 5 -CH= 6 -CH= 7 -OH 8 -OH 9 -CH= 10 -OH 11 -OH 12 -CH= 13 -OH 14 -CH= 15 -CH= 16 -OH 17 -OH 18 -CH=	12,54 10,90 6,22 11,82 6,41 7,57 7,67 10,72 8,06 12,54 10,90 6,22 11,82 6,41 8,06 10,72 7,67 7,57

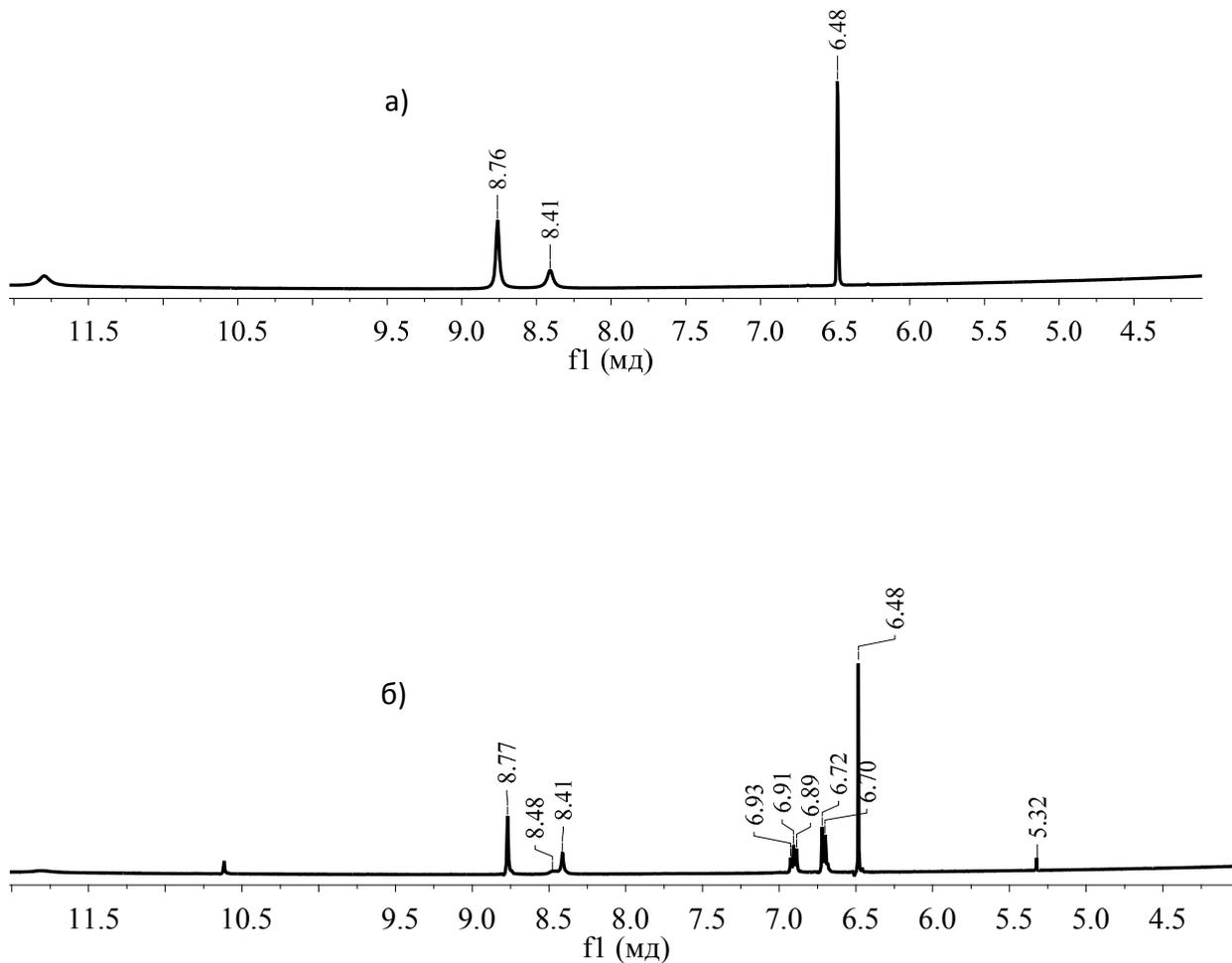


Рисунок 1.2.17 – ^1H ЯМР-спектры: а) галловой кислоты ($C=0,22$ моль·л $^{-1}$); б) смеси галловой кислоты ($C=0,11$ моль·л $^{-1}$) с DPPH $^{\cdot}$ ($C=0,025$ моль·л $^{-1}$) через 3 минуты после реакции ($T=293\pm 2$ К, dmsd-d $_6$)

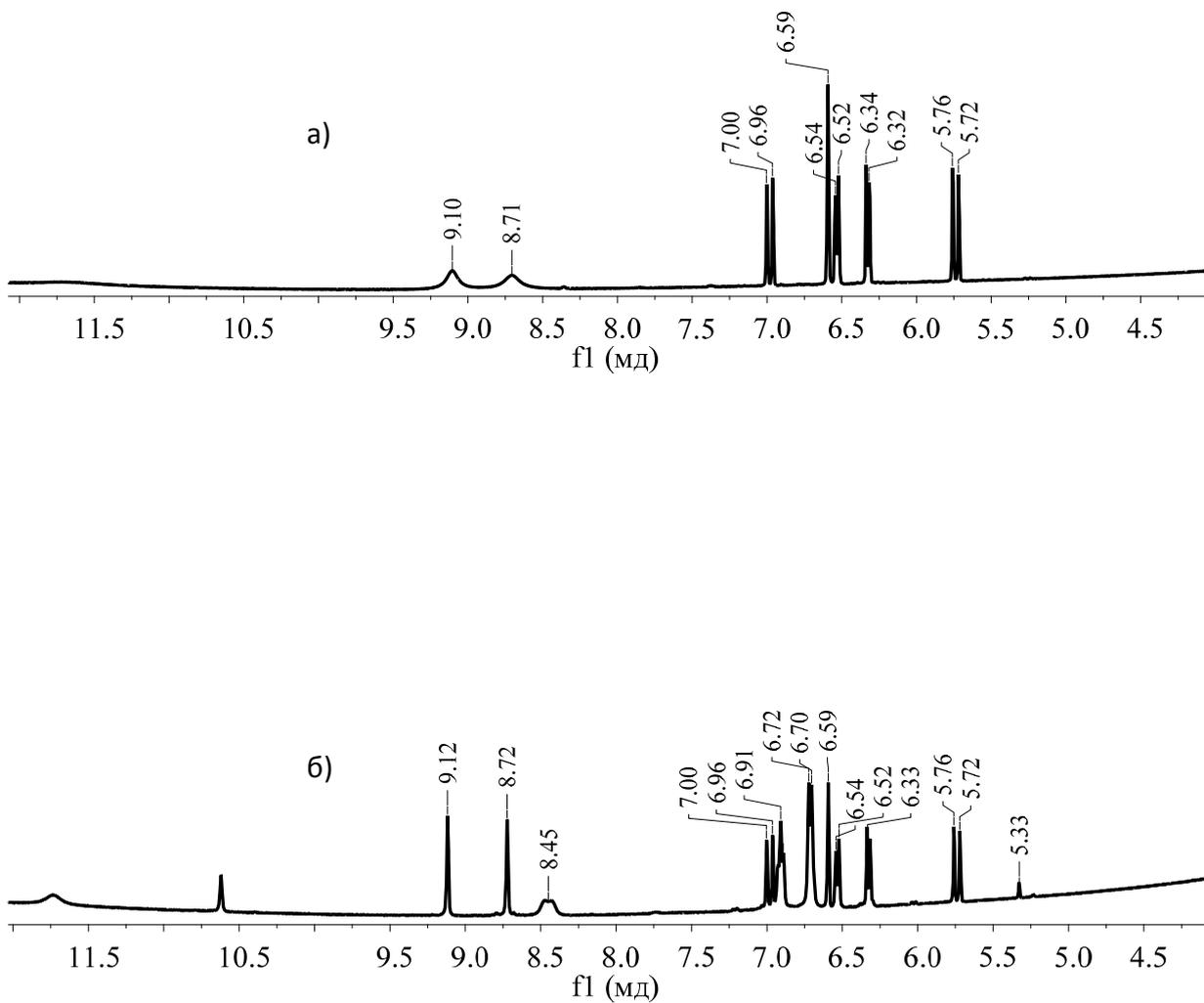


Рисунок 1.2.18 – ^1H ЯМР-спектры: а – кофейной кислоты ($C=0,22$ моль·л $^{-1}$); б – смеси кофейной кислоты ($C=0,11$ моль·л $^{-1}$) с DPPH• ($C=0,025$ моль·л $^{-1}$) через 3 минуты после реакции ($T=293\pm 2$ К, dms o -d $_6$)

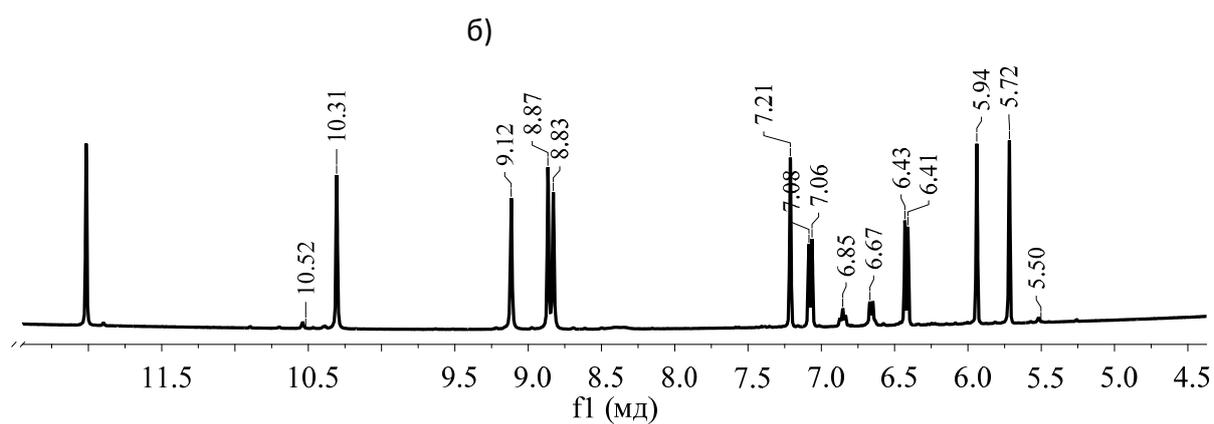
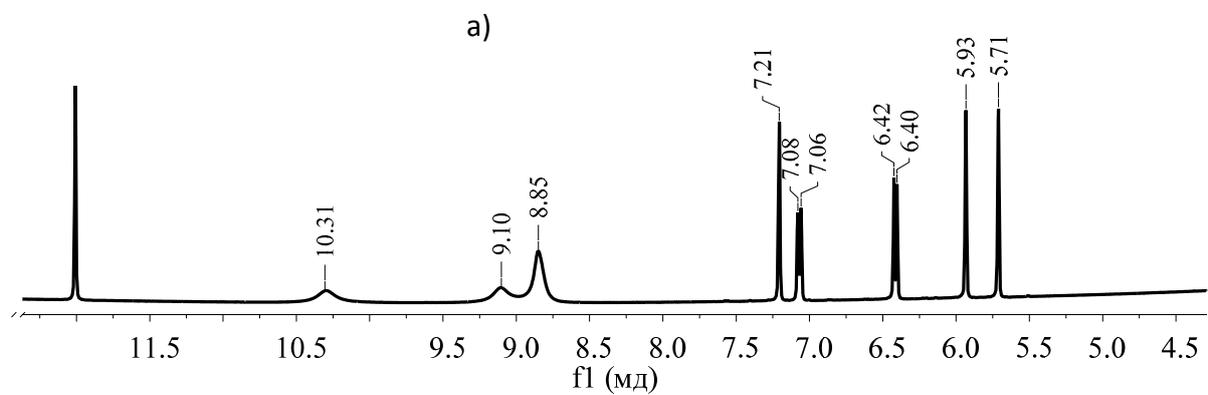


Рисунок 1.2.19 – ^1H ЯМР-спектры: а) кверцетина ($C=0,22$ моль·л $^{-1}$); б) смеси кверцетина ($C=0,11$ моль·л $^{-1}$) с DPPH \cdot ($C=0,025$ моль·л $^{-1}$) через 3 минуты после реакции ($T=293\pm 2$ К, dms0-d $_6$)

фенольных соединений. Именно поэтому в реакции PhOH с DPPH[•] наблюдаются участки кинетических кривых (рис. 1.2.1а) с медленным расходом радикала. Значительное накопление хинонов как вторичных продуктов окисления маловероятно, поскольку в этом случае расхождение DPPH[•] не было бы вообще. Образующиеся в реакции рекомбинации димерные фенолы проявляют более низкую АРА, чем исходный PhOH, а значит медленно дезактивируют DPPH[•], обеспечивая пролонгированное действие исходного антиоксиданта и усиливая его общую антиоксидантную активность в реакциях радикального окисления.

Как образуются указанные димеры и какова их возможная структура? Согласно литературным данным [20, 21] реакция рекомбинации феноксильных радикалов, не содержащих заместителей в орто- или пара-положениях, происходит в две стадии: первая стадия – обратимая, идет с образованием кетодимера, затем, если атом С в ароматическом кольце, по которому прошла димеризация, не замещен, то возможна быстрая енолизация (диенон-фенольная перегруппировка) кетодимера с образованием димерного фенольного соединения (реакция 1.2.18б).

Возможность протекания такого процесса была показана путем расчета термодинамических параметров реакции димеризации феноксильных радикалов некоторых дигидроксибензолов квантово-химическим неэмпирическим методом DFT B3LYP в базисном наборе 6-311++g(d,p) в программе Gaussian 09. Проведена оптимизация геометрии и рассчитаны термодинамические характеристики молекул, их радикалов, кетодимеров и димеров в газовой фазе при T=298 К.

$$\left. \begin{aligned} \Delta_r H_{\text{keto}}^0 &= H_{\text{keto}}^0 - 2H_{\text{PhO}^\bullet}^0, \\ \Delta_r H_{\text{dimer}}^0 &= H_{\text{dimer}}^0 - H_{\text{keto}}^0, \\ \Delta_r H^0 &= \Delta_r H_{\text{keto}}^0 + \Delta_r H_{\text{dimer}}^0 = H_{\text{dimer}}^0 - 2H_{\text{PhO}^\bullet}^0, \\ \Delta_r G_{\text{keto}}^0 &= G_{\text{keto}}^0 - 2G_{\text{PhO}^\bullet}^0, \\ \Delta_r G_{\text{dimer}}^0 &= G_{\text{dimer}}^0 - G_{\text{keto}}^0, \\ \Delta_r G^0 &= \Delta_r G_{\text{keto}}^0 + \Delta_r G_{\text{dimer}}^0 = G_{\text{dimer}}^0 - 2G_{\text{PhO}^\bullet}^0, \end{aligned} \right\} \quad (1.2.19)$$

где $\Delta_r H_{\text{keto}}^0$ ($\Delta_r G_{\text{keto}}^0$) – изменение стандартной энтальпии (свободной энергии Гиббса) реакции образования кетодимера из феноксильных радикалов; H_{keto}^0 (G_{keto}^0) – стандартная энтальпия (свободная энергия Гиббса) кетодимера; $H_{\text{PhO}^\bullet}^0$ ($G_{\text{PhO}^\bullet}^0$) – стандартная энтальпия (свободная энергия Гиббса) феноксильного радикала; $\Delta_r H_{\text{dimer}}^0$ ($\Delta_r G_{\text{dimer}}^0$) – изменение стандартной энтальпии (свободной энергии Гиббса) реакции образования фенольного

димера из кетодимера; $H_{\text{dimer}}^0(G_{\text{dimer}}^0)$ – стандартная энтальпия (свободная энергия Гиббса) фенольного димера; $\Delta_r H^0(\Delta_r G^0)$ – изменение суммарной стандартной энтальпии (свободной энергии Гиббса) реакции образования фенольного димера из феноксильных радикалов.

По величинам термодинамических параметров в соответствии с уравнениями 1.2.19 была оценена возможность димеризации орто- или пара-незамещенных феноксилов по положениям 2, 4 и 6 ароматического кольца, а также с участием атома О. На примере пирокатехина показано, что первичная рекомбинация PhO^\bullet может приводить к образованию разных по структуре изомерных кетодимеров (рис. 1.2.20).

Расчет термодинамических параметров реакции показал (табл. 1.2.8), что стадия первичной рекомбинации феноксилов ($\Delta_r H_{\text{keto}}^0, \Delta_r G_{\text{keto}}^0$) является термодинамически невыгодной, поскольку кетодимеры нестабильны и могут находиться в равновесии со своими радикалами [34]. Их стабилизация происходит в результате енолизации, что и характеризуется величинами $\Delta_r H_{\text{dimer}}^0 < 0$ и $\Delta_r G_{\text{dimer}}^0 < 0$. Анализ суммарных величин $\Delta_r H^0$ и $\Delta_r G^0$ исследуемой реакции позволил установить, что наиболее выгодны о,о-СС– и о,п-СС–димеры. Фенольные димеры такой структуры следует ожидать в качестве вероятных стабильных вторичных продуктов превращения природных орто- или пара-незамещенных фенолов в реакции с DPFH^\bullet .

Очевидно, что указанные закономерности не будут выполняться для 2,4,6-замещенных феноксилов сиреневой и синаповой кислот. На основе анализа литературных данных [34, 35] можно предположить, что димеризация будет происходить с образованием С–О-связи по атому С в пара- или орто положении 2,4,6-замещенного феноксила с образованием структуры «голова к хвосту» (рис. 1.2.21 а, б) или с образованием С–С-связи в пара-положении по типу «хвост к хвосту» (рис. 1.2.21 в)

Принятие того или иного механизма как наиболее вероятного пути превращения природных 2,4,6-замещенных феноксилов безусловно требует дополнительных исследований.

Что касается димеров со связью О–О, то их образование термодинамически неблагоприятно и сопровождается большими положительными величинами энтальпии и энергии Гиббса реакции (табл. 1.2.8), что свидетельствует об их крайней неустойчивости.

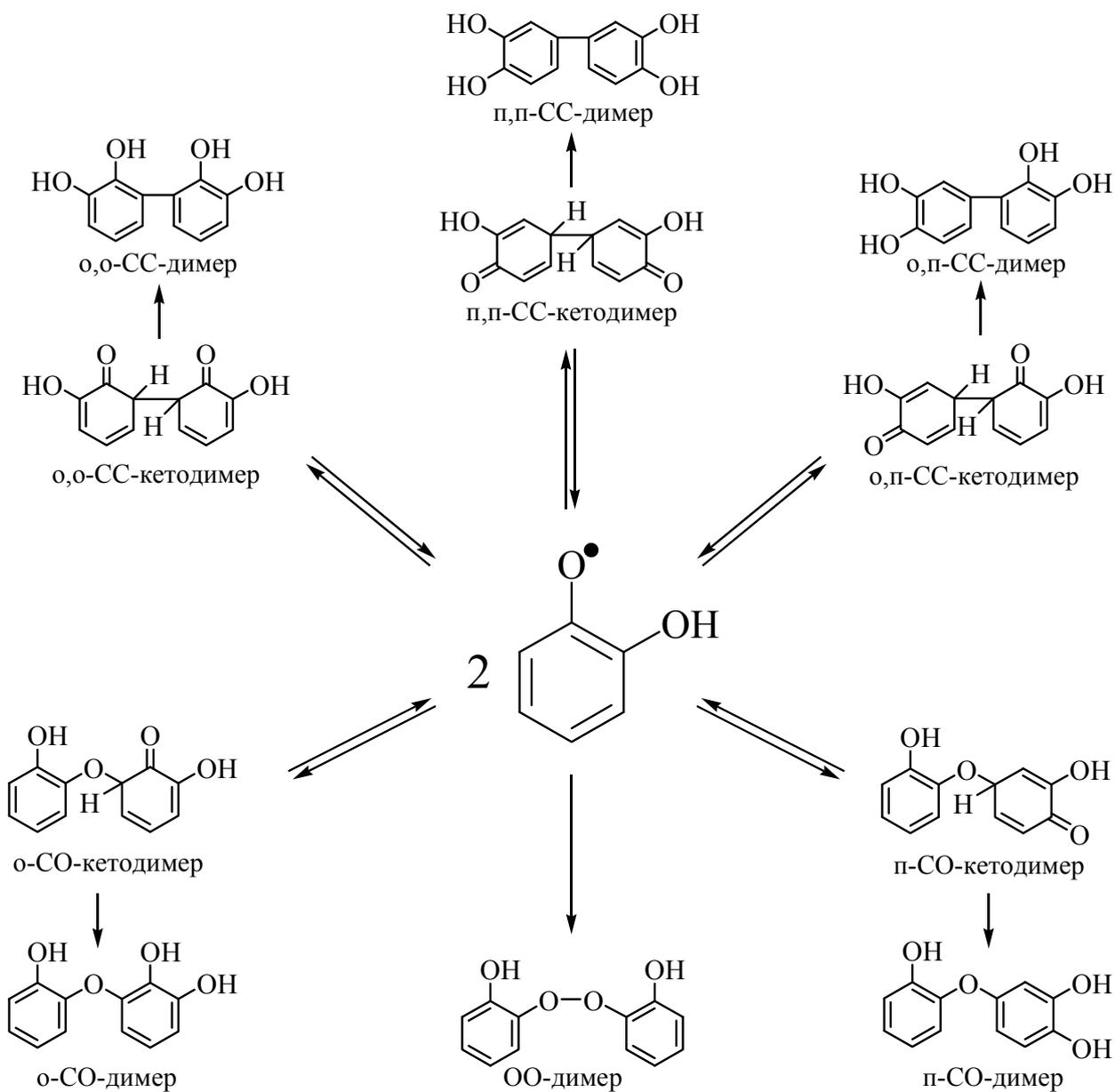


Рис. 1.2.20 – Схема образования возможных изомерных кетодимеров и фенольных димеров при димеризации феноксилов пирокатехина

Таблица 1.2.8 – Термодинамические параметры реакции (1.2.18б) образования фенольных димеров из феноксилов дигидроксибензолов, рассчитанные методом DFT B3LYP/6+311++G(d,p). Газовая фаза. T=298K

Соединение	Димер	$\Delta_r H_{\text{keto}}^0$, кДж·моль ⁻¹	$\Delta_r H_{\text{dimer}}^0$, кДж·моль ⁻¹	$\Delta_r H^0$, кДж·моль ⁻¹	$\Delta_r G_{\text{keto}}^0$, кДж·моль ⁻¹	$\Delta_r G_{\text{dimer}}^0$, кДж·моль ⁻¹	$\Delta_r G^0$, кДж·моль ⁻¹
1 – пирокатехин	o,o-CC–	-9	-149	-157	46	-148	-102
	п,п-CC–	-12	-135	-147	43	-137	-94
	o,п-CC–	-12	-137	-149	42	-137	-95
	п-CO–	-20	-83	-102	33	-86	-53
	o-CO–	-24	-81	-105	30	-76	-45
	OO–	-	-	139	-	-	171
2 – резорцин	o,o-C(2)C(2)–	-6	-144	-150	54	-149	-95
	o,o-C(6)C(6)–	-8	-145	-153	51	-150	-99
	п,п-CC–	-4	-127	-131	49	-127	-76
	o,п-CC–	-6	-129	-135	45	-123	-78
	o-C(2)O–	-0,8	-95	-96	49	-92	-42
	o-C(6)O–	-2	-101	-103	46	-96	-50
	п-CO–	-24	-78	-103	28	-79	-51
	OO–	-	-	142	-	-	194
4 – гидрохинон	o,o-CC–	40	-170	-131	90	-164	-74
	o-CO–	13	-106	-93	60	-109	-48
	OO–	-	-	150	-	-	-209

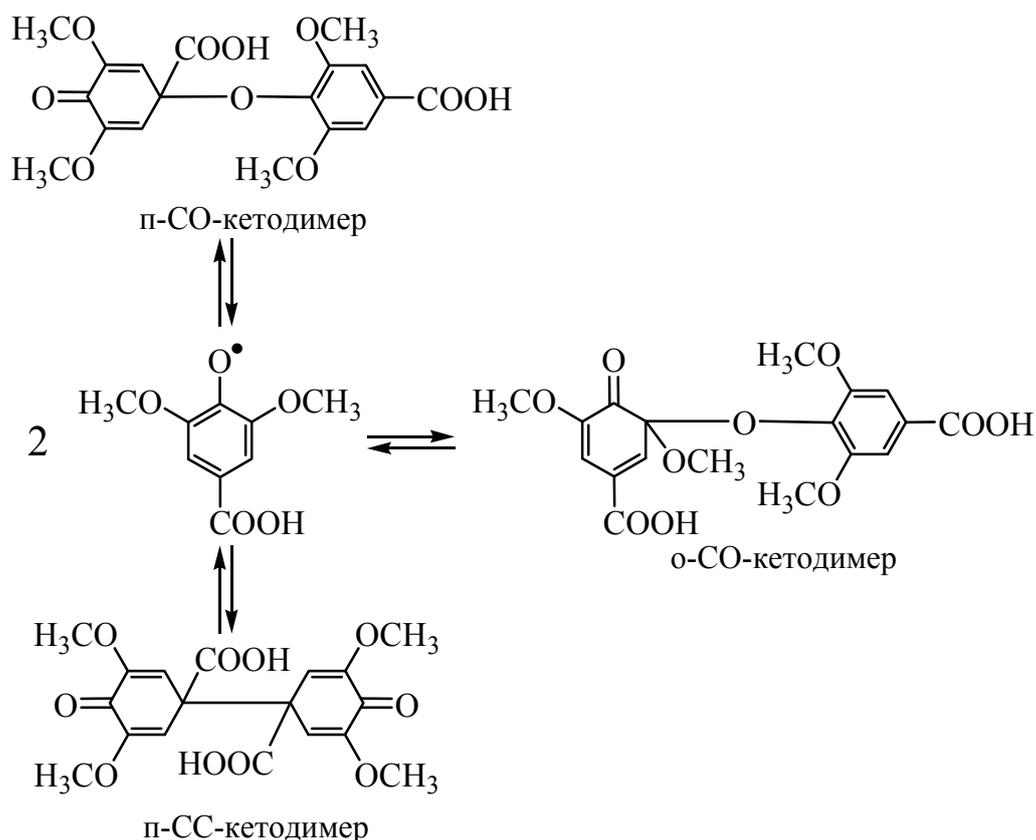


Рис. 1.2.21 – Схема образования возможных кетодимеров при димеризации феноксилов сиреневой кислоты

Таким образом, изучение путей гибели феноксилов PhO^\bullet природных гидроксibenзолов позволило установить набор продуктов превращения фенольных соединений, принимающих участие в дальнейших окислительных реакциях. Это во многом будет определять эффективность фенолов как антиоксидантов и их токсичность как биологически активных веществ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Litwinienko, G. Abnormal Solvent Effects on Hydrogen Atom Abstraction. 3. Novel Kinetics in Sequential Proton Loss Electron Transfer Chemistry / G. Litwinienko, K. U. Ingold // *J. Org. Chem.* – 2004. – Vol. 69, № 18. – P. 5888–5896.

2. Musialik, M. Scavenging of dpph^\bullet Radicals by Vitamin E Is Accelerated by Its Partial Ionization: the Role of Sequential Proton Loss Electron Transfer / M. Musialik, G. Litwinienko // *Org. Lett.* – 2005. – Vol. 7, № 22. – P. 4951–4954.

3. Acidity of hydroxyl groups: an overlooked influence on antiradical properties of flavonoids / M. Musialik [et al.] // *J. Org. Chem.* – 2009. – Vol. 74, № 7. – P. 2699–2709.

4. Litwinienko, G. Solvent Effects on the Rates and Mechanisms of Reaction of Phenols with Free Radicals / G. Litwinienko, K. U. Ingold // *Acc. Chem. Res.* – 2007. – Vol. 40, № 3. – P. 222–230.
5. Волков, В.А. Физико-химические закономерности взаимодействия 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила с антиоксидантами растительного происхождения : автореф. дис. ... канд. хим. Наук / Волков Владимир Анатольевич ; Тверской государственный университет. – Тверь, 2010. – 20 с.
6. A Facile Electrochemical Analysis to Determine Antioxidant Activity of Flavonoids against DPPH Radical / A. Safeer [et al.] // *J. Electrochem. Soc.* – 2012. – Vol. 159, Issue 5, P. 103–109.
7. Катион-радикалы – первичные продукты окисления фенолов / В. Д. Походенко [и др.] // *ДАН СССР.* – 1973. – Т. 210, № 3. – С.640–643.
8. Хижный, В. А. Влияние среды на кинетику одноэлектронного восстановления феноксильных радикалов аминами / В. А. Хижный, В. А. Самарский, В. Д. Походенко // *ЖОХ.* – 1975. – Т. 46, Вып. 8. – С. 1853–1859.
9. Free Radical Scavenging by Natural Polyphenols: Atom versus Electron Transfer / Meo F. D. [et al.] // *J. Phys. Chem. A.* – 2013. – Vol. 117, № 10. – P. 2082–2092.
10. Kinetic solvent effects on the reaction between flavonoid naringenin and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical in different aqueous solutions of ethanol: An experimental and theoretical study / Jabbari M. [et al.] // *Journal of Molecular Liquids.* – 2014. – Vol. 196. – P. 381–391.
11. On the radical scavenging activity of isoflavones: thermodynamics of O–H bond cleavage / Lengyel J. [et al.] // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2013. – Vol. 15. – P. 10895–10903.
12. Kinetic Solvent Effects on Hydroxylic Hydrogen Atom Abstractions Are Independent of the Nature of the Abstracting Radical. Two Extreme Tests Using Vitamin E and Phenol / L. Valgimigli [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* – 1995. – Vol. 117, № 40. – P. 9966–9971.
13. Боголицин, К. Г. Кислотно-основные свойства родственных лигнину фенолов в системе вода-апротонный растворитель / К. Г. Боголицин, Н. С. Горбова, Д. С. Косякова // *Журнал физической химии.* – 2003. – Т. 77, № 4. – С. 667–671.
14. Влияние полярности среды на механизм реакции гидроксibenзолов с гидразильным радикалом в апротонных растворителях / Н. И. Белая [и др.] // *Журнал общей химии.* – 2017. – Т. 87, Вып. 4. – С.556–564.

15. Рыжманов, Ю. М. Изучение методом э.п.р. межмолекулярных взаимодействий в растворах свободных радикалов / Ю. М. Рыжманов, А. А. Егорова // ДАН СССР. – 1970. – Т. 191, № 1. – С. 148–150.
16. Денисов, Е. Т. Кинетика гомогенных химических реакций / Е. Т. Денисов. – М. : Высшая школа, 1978. – 366 с.
17. Зевацкий, Ю. Э. Расчеты констант диссоциации карбоновых кислот эмпирическим и квантовохимическим DFT методами / Ю. Э. Зевацкий, Д. В. Самойлов, Н. С. Панина // ЖОХ. – 2009. – Т. 79, Вып. 5. – С. 772–780.
18. Roy, K. Predictive QSPR modeling of the acidic dissociation constant (pK_a) of phenols in different solvents / K. Roy, P. L. A. Popelier / J. Phys. Org. Chem. – 2009. – Vol. 22. – P. 186–196.
19. Природные фенольные соединения в реакции с азотцентрированным радикалом в апротонном растворителе / Н. И. Белая [и др.] // Журнал прикладной химии. – 2015. – Т. 88, Вып. 7. – С. 1087–1094.
20. Денисов, Е. Т. Ингибирование цепных реакций / Е. Т. Денисов, В. В. Азатян. – Черноголовка : ИПХФ РАН, 1997. – 267с.
21. Рогинский, В. А. Фенольные антиоксиданты. Реакционная способность и эффективность / В. А. Рогинский. – М. : Наука, 1988. – 247 с.
22. Shahidi, F. Phenolic antioxidants / F. Shahidi, P. K. Janitha, P. D. Wanasundara // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. – 1992.- Vol. 32. – P. 67–103.
23. Brand-Williams, W. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity / W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, C. Berset // Lebensm.-Wiss. u.-Technol. – 1995. – Vol. 28. – P. 25–30.
24. Kurechi, T. Studies on the antioxidants. XIII Hydrogen donation capability of antioxidants to 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl / T. Kurechi, K. Kikugawa, T. Kato // Chemical Pharmaceutical Bulletin. – 1980. – Vol. 28. – P. 2089–2093.
25. Cuvelier, M. E. Use of a new test for determining comparative antioxidative activity of BHA, BHT, tocopherols and extracts from rosemary and sage / M. E. Cuvelier, C. Berset, H. Richard // Sciences des Aliments. – 1990. – Vol. 10. – P. 797–806.
26. Tikhonov, I. The Chain-Breaking Antioxidant Activity of Phenolic Compounds with Different Numbers of O–H Groups as Determined During the Oxidation of Styrene / I. Tikhonov, V. Roginky, E. Pliss // International Journal of Chemical Kinetics. – 2008. – Vol. 41, № 2. – P. 92–100.

27. Mamedov, K. F. Radiolysis and photolysis of water solutions of phenol / K. F. Mamedov // *European Researcher*. – 2014. – Vol.78, № 7–1. – P. 1216–1236.
28. Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids. Radical-scavenging effects of tannins and related polyphenols on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical / T. Yoshida [et al.] // *Chem. Pharm. Bull.* – 1989. – Vol. 37, № 7. – P. 1919–1921.
29. Запрометов, М. Н. Фенольные соединения. Распространение, метаболизм и функции в растениях / М. Н. Запрометов. – М. : Наука, 1993. – 271 с.
30. Казицына, Л. А. Применение УФ-, ИК-, ЯМР- и масс-спектропии в органической химии / Л. А. Казицына, Н. Б. Куплетская. – М. : МГУ, 1979. – 230 с.
31. Жунке, А. Ядерный магнитный резонанс в органической химии / А. Жунке. – М. : Мир, 1974. – 175 с.
32. Effects of structure on radical-scavenging abilities and antioxidative activities of tea polyphenols: NMR analytical approach using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals / Y. Sawai [et al.] / *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2005. – Vol. 53. – P. 3598–3604.
33. Saito, S. Effects of electron-withdrawing substituents on DPPH radical scavenging reactions of protocatechuic acid and its analogues in alcoholic solvents / S. Saito, J. Kawabata / *Tetrahedron*. – 2005. – Vol. 61. – P. 8101–8108.
34. Mahoney, L. R. A Mechanistic Study of the Dimerization of Phenoxy Radicals / L. R. Mahoney, S. A. Weiner / *J. Amer. Chem. Soc.* – 1972.–Vol. 94, № 4. – P. 585–590.
35. Худяков, И. В. Обратимая рекомбинация радикалов / И. В. Худяков, П. П. Левин, В. А. Кузьмин / *Успехи химии*. – 1980. – Т.XLIX, Вып. 10. – С. 1990–2031.

Глава 2

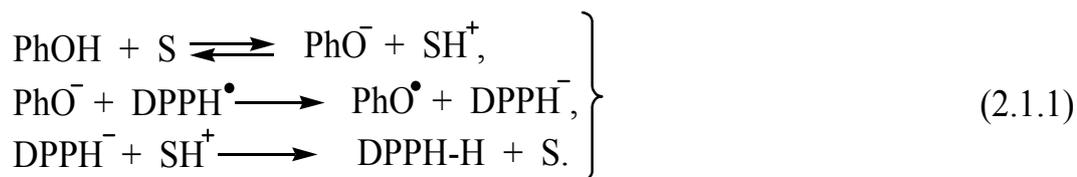
Реакции PhOH с DPPH[•] в протонных средах

2.1. Реакции в этаноле

2.1.1. Кинетические, стехиометрические и активационные параметры реакции. Роль специфической сольватации

Реакция фенольных антиоксидантов с DPPH[•] изучается как правило в спиртах, что связано с хорошей растворимостью в них как гидразильного радикала, так и большинства фенолов. Однако в последние годы особую актуальность приобретают смешанные растворители (S) на водной основе, имитирующие физиологические жидкости организма. Поскольку DPPH[•] является искусственным модельным радикалом, то исследование кинетики и механизма реакций фенолов с его участием в протонных средах позволяет моделировать биологические системы и, в определенной степени, аппроксимировать полученные результаты на объекты природного происхождения.

На примере синтетических пространственно-экранированных фенолов было показано [1–3], что в протонных ионизирующих растворителях (этанол, метанол) доминирующим является механизм последовательной потери протона с последующим переносом электрона (Sequential Proton Loss Electron Transfer (SPLET)):



Лимитирующая стадия – реакция переноса электрона от образующегося фенолят-иона (PhO⁻).

Аналогичный механизм характерен и для некоторых групп природных фенолов, таких как гидроксикоричные кислоты, флавоноиды, токоферолы [4–6]. Доказательством SPLET является зависимость кинетики реакции PhOH с DPPH[•] от pH среды (в отличие от НАТ/РСЕТ или ЕТ–РТ (см. раздел 1.2)). При подкислении этанола или метанола скорость реакции резко падает [7, 4], что связано со снижением степени диссоциации фенолов и уменьшением концентрации активных ионных форм антиоксидантов.

Механизм SPLET является более быстрым по сравнению с ET-PT и NAT/PCET, которые реализуются преимущественно в не- или слабоионизирующих растворителях (бензол, 1,4-диоксан, гексан, диметилсульфоксид). Например, для группы флавоноидов отношение констант скоростей реакции в метаноле и 1,4-диоксане составляет от 40 до 15000 раз [5]. Это свидетельствует о том, что механизм SPLET с участием ионов во много раз эффективнее NAT/PCET, где в реакцию с гидразильным радикалом вступают менее активные молекулярные формы фенолов.

Подобной разницы между константами скоростей PhOH с DPPH[•] в неионизирующих растворителях с разной полярностью не наблюдается. Константы в диметилсульфоксиде превышают таковые в бензоле не более чем в 10–20 раз (табл. 1.2.1). Таким образом, по-видимому, более сильное ускоряющее влияние на кинетику реакции оказывает не полярность, а ионизирующая способность среды, приводящая к появлению быстрого механизма SPLET.

Целью данного этапа работы является исследование влияния ионизирующих свойств амфипротонных растворителей на реакционную способность разных групп природных фенолов (соединения **1–28**, **36–50** (табл. 1.1.1)) и механизм их действия в реакции с радикалом DPPH[•].

Ионизирующая способность среды изучалась вначале в этаноле (ethanol), а затем реакция проводилась в смесях воды (water) с диметилсульфоксидом (dmsо) в разных соотношениях. Склонность данных растворителей к выраженному донорно-акцепторному взаимодействию с растворенным веществом позволит активизировать процессы диссоциации фенольных соединений и рассматривать участие в реакции с радикалом не только их молекулярные формы, но и образующиеся ионы.

При взаимодействии природных фенолов с гидразильным радикалом в этаноле стехиометрия реакции сохраняется – второй общий порядок реакции и первый по каждому из реагентов, но при этом наблюдается резкий рост констант скоростей реакции (табл. 2.1.1).

Видно, что в спирте при 293К все изученные соединения проявляют антирадикальную активность. Причем, в отличие от бензола и диметилсульфоксида, наибольшее количество соединений активных в реакции с DPPH[•] принадлежат к группе фенольных кислот (**18**, **20**, **23–27**, **39–41**). Слабо реагируют с радикалом все моногидроксибензойные кислоты (**9–14**), а также флаваны (**42**, **43**).

Таблица 2.1.1 – Экспериментальные значения кинетических и активационных параметров реакции природных фенолов с радикалом DPPH• в этаноле

Соединение	k_{et} , л·моль ⁻¹ ·с ⁻¹ (T=293K)	E_a , кДж·моль ⁻¹	A л·моль ⁻¹ ·с ⁻¹	ΔH^\ddagger , кДж·моль ⁻¹	ΔS^\ddagger , Дж·моль ⁻¹ ·К ⁻¹	ΔG^\ddagger_{293} , кДж·моль ⁻¹
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>
Гидроксibenзолы						
1 – пирокатехин	$(5,55 \pm 0,26) \cdot 10^2$	10,1±0,5	$(3,37 \pm 0,21) \cdot 10^4$	7,5±0,5	-166±7	56
2 – резорцин	5,85±0,27	27±2	$(3,81 \pm 0,21) \cdot 10^5$	25±2	-146±5	67
3 – орцин	10,2±0,5	26±2	$(4,40 \pm 0,24) \cdot 10^5$	24±2	-145±5	66
4 – гидрохинон	$(1,65 \pm 0,04) \cdot 10^3$	–	–	–	–	–
5 – метиловый эфир гидрохинона	$(2,48 \pm 0,14) \cdot 10^3$	–	–	–	–	–
6 – пирогаллол	$(1,47 \pm 0,03) \cdot 10^3$	–	–	–	–	–
7 – флороглюцин	3,92±0,21	28,5±2	$(5,40 \pm 0,26) \cdot 10^5$	26±2	-143±5	68
8 – оксигидрохинон	$(2,19 \pm 0,14) \cdot 10^3$	–	–	–	–	–
Гидроксibenзойные кислоты						
<i>Моногидроксibenзойные кислоты</i>						
9 – салициловая кислота	22,5±1,5	25±2	$(6,02 \pm 0,28) \cdot 10^5$	23±2	-142±5	64
10 – 3-метилсалициловая кислота	27±1,6	24,5±2	$(6,30 \pm 0,27) \cdot 10^5$	22±2	-142±5	64
11 – метиловый эфир 3-метилсалициловой кислоты	33,1±1,9	23±2	$(4,16 \pm 0,25) \cdot 10^5$	21±2	-146±5	63
12 – 3-гидроксibenзойная кислота	84±4	20±2	$(3,09 \pm 0,21) \cdot 10^5$	18±2	-148±5	61
13 – 4-гидроксibenзойная кислота	54±3	21,5±2	$(3,68 \pm 0,21) \cdot 10^5$	19±2	-146±5	62
14 – этиловый эфир 4-гидроксibenзойной кислоты	62±3	21±2	$(3,44 \pm 0,21) \cdot 10^5$	19±2	-147±5	62
<i>Дигидроксibenзойные кислоты</i>						
15 – пирокатеховая кислота	$(9,6 \pm 0,3) \cdot 10^2$	9±0,5	$(3,86 \pm 0,21) \cdot 10^4$	6,6±0,5	-165±7	55
16 – β-резорциловая кислота	17,2±1,2	22,7±2	$(1,92 \pm 0,04) \cdot 10^5$	20±2	-152±6	65
17 – метиловый эфир β-резорциловой кислоты	20,8±1,2	22±2	$(1,74 \pm 0,04) \cdot 10^5$	20±2	-153±6	64
18 – гентизиновая кислота	$(2,32 \pm 0,14) \cdot 10^3$	–	–	–	–	–
19 – γ-резорциловая кислота	4,43±0,25	29,5±2	$(7,99 \pm 0,4) \cdot 10^5$	27±2	-140±5	68
20 – протокатеховая кислота	$(2,04 \pm 0,14) \cdot 10^3$	–	–	–	–	–

Продолжение таблицы 2.1.1

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>
21 – α-резорциловая кислота	14,1±1,1	25±2	(4,01±0,25)·10 ⁵	23±2	-146±5	65
22 – ванилиновая кислота	10,3±0,5	25±2	(2,86±0,15)·10 ⁵	23±2	-149±6	66
<i>Тригидроксibenзойные кислоты</i>						
23 – 3-пирогаллолкарбоновая кислота	(2,96±0,15)·10 ³	–	–	–	–	–
24 – галловая кислота	(2,53±0,14)·10 ³	–	–	–	–	–
25 – сиреневая кислота	(1,49±0,03)·10 ³	–	–	–	–	–
26 – метиловый эфир галловой кислоты	(2,66±0,14)·10 ³	–	–	–	–	–
27 – этиловый эфир галловой кислоты	(2,97±0,15)·10 ³	–	–	–	–	–
28 – флороглюцинкарбоновая кислота	12,9±1,1	24±2	(2,45±0,15)·10 ⁵	22±2	-150±6	65
<i>Гидроксикоричные кислоты</i>						
36 – о-кумаровая кислота	(1,83±0,04)·10 ²	16±1	(1,30±0,03)·10 ⁵	14±1	-155±6	59
37 – м-кумаровая кислота	(2,32±0,14)·10 ²	15±1	(1,09±0,03)·10 ⁵	13±1	-157±6	58
38 – п-кумаровая кислота	(2,08±0,13)·10 ²	16,5±1	(1,81±0,04)·10 ⁵	14±1	-152±6	59
39 – кофейная кислота	(2,42±0,14)·10 ³	–	–	–	–	–
40 – феруловая кислота	(2,02±0,13)·10 ³	–	–	–	–	–
41 – синаповая кислота	(1,58±0,03)·10 ³	–	–	–	–	–
<i>Флавоноиды и их гликозиды</i>						
<i>Флаванолы-3 (катехины)</i>						
42 – катехин	59±3	19±2	(1,44±0,03)·10 ⁵	17±2	-154±6	62
43 – галлокатехин	65±3	19,5±2	(1,95±0,04)·10 ⁵	17±2	-152±6	62
<i>Флавонолы</i>						
44 – кемпферол	(3,26±0,21)·10 ²	14±1	(1,02±0,03)·10 ⁵	12±1	-157±6	58
45 – кверцетин	(7,9±0,3)·10 ²	8,8±0,5	(2,93±0,15)·10 ⁴	6,4±0,5	-168±7	55
46 – изорамнетин	(7,6±0,3)·10 ²	9±0,5	(2,94±0,15)·10 ⁴	6,6±0,5	-168±7	56
47 – морин	(1,47±0,03)·10 ³	–	–	–	–	–
48 – мирицетин	(8,4±0,4)·10 ²	8,5±0,5	(2,75±0,15)·10 ⁴	6,1±0,5	-168±7	55
49 – кверцитрин (3-рамнозид кверцетина)	(7,4±0,3)·10 ²	9,5±0,5	(3,67±0,21)·10 ⁴	7,1±0,5	-166±7	56
50 – рутин (3-глюкорамнозид кверцетина)	(6,9±0,3)·10 ²	10±0,5	(4,18±0,25)·10 ⁴	7,6±0,5	-165±7	56

Примечание: – – величины не определялись.

Определение констант скоростей реакции DPPH[•] с фенолами при разных температурах (288–298 К) позволило провести анализ термодинамических параметров активации реакции PhOH с DPPH[•] в этаноле и сравнить с таковыми в бензоле. Причем надежно были определены активационные параметры для фенольных соединений с умеренной антирадикальной активностью, когда начальную кинетику реакции с радикалом можно было зафиксировать в приемлемом временном интервале.

Как видно из таблицы 2.1.1 энтропия активации ΔS^\ddagger имеет отрицательные значения, характерные для бимолекулярных реакций. Однако, по сравнению с реакцией в бензоле (табл. 1.1.2), значение ΔS^\ddagger в этаноле больше, что приводит к росту скорости реакции; величины же свободной энергии Гиббса активации ΔG^\ddagger_{298} , энергии активации E_a и энтальпии ΔH^\ddagger наоборот меньше. Для фенолов с высокой реакционной способностью эти параметры закономерно еще больше снижаются.

Подобно реакции в бензоле в ряду исследуемых фенольных соединений наблюдается симбатное изменение значений E_a и предэкспоненциальных множителей A в уравнении Аррениуса, то есть компенсационный эффект (рис.2.1.1а), характерный для процессов, которые различаются лишь структурой одного из реагентов.

$$\ln A = (9,15 \pm 0,17) + (1,52 \pm 0,09) \cdot 10^{-4} E_a,$$

$$n = 28; \tilde{r} = 0,960; \tilde{r}^2 = 0,921; F = 302; p < 0,0000; S_{est} = 0,3.$$

В результате компенсационного эффекта значения представленных констант скорости близки, поскольку их изменения вследствие изменений E_a частично компенсируются соответствующими изменениями величины A . Аналогичная зависимость (рис. 2.1.1б) наблюдается между энтальпией и энтропией активации:

$$\Delta H^\ddagger = (12,8 \pm 0,6) \cdot 10^4 + (730 \pm 40) \Delta S^\ddagger,$$

$$n = 28; \tilde{r} = 0,960; \tilde{r}^2 = 0,921; F = 302; p < 0,0000; S_{est} = 1952. \quad (2.1.2)$$

Изокинетическая температура, при которой все реакции данной серии будут характеризоваться одинаковыми скоростями, определяется по угловому параметру полученной линейной регрессии (2.1.2) и соответствует 730 К.

Сравнивая полученные значения k_{et} (табл. 2.1.1) с аналогичными величинами k_{dmsO} в диметилсульфоксиде (табл. 1.2.1) можно видеть, что при переходе от апротонного к протонному растворителю реакционная способность фенолов зависит не столько от полярности среды (оба растворителя полярны, хотя диэлектрическая проницаемость снижается при

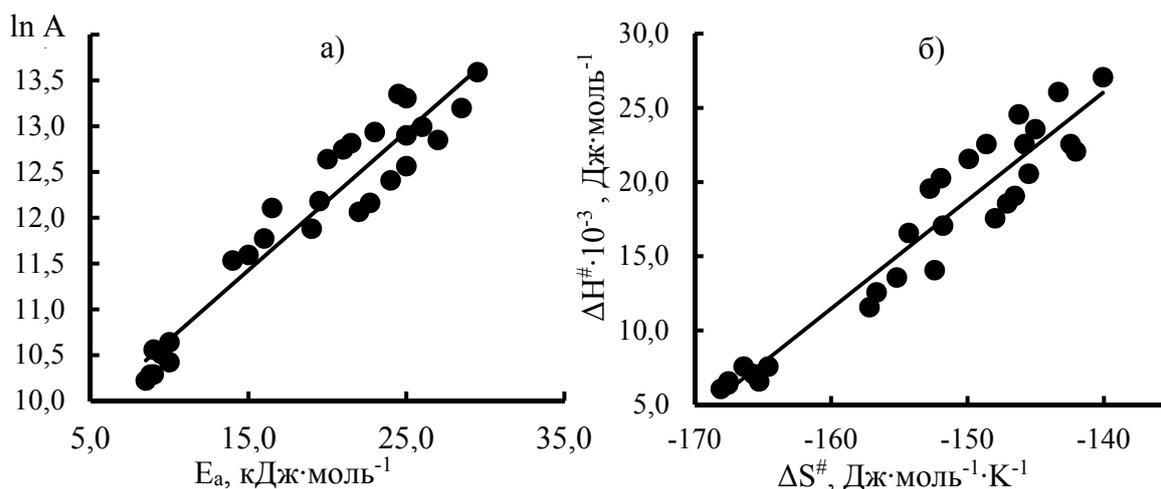


Рис. 2.1.1 – Определение компенсационного эффекта по зависимости логарифма предэкспоненциального множителя ($\ln A$) от энергии активации (E_a) (а) и энтальпии активации (ΔH^\ddagger) от энтропии активации (ΔS^\ddagger) (б) реакции DPPH \cdot с фенолами. Растворитель – этанол

переходе от dmsо к ethanol), сколько от ее ионизирующей способности, которая обусловлена выраженным донорно-акцепторным взаимодействием (образованием водородной связи) этанола с PhOH, приводящим к усилению процессов диссоциации фенольных соединений и увеличению концентрации активных ионных форм антиоксидантов. А поскольку природа фенольных соединений и радикала не изменялись, то рост констант k_{ethanol} связан с кинетическим эффектом растворителя (KSE), приводящим к изменению механизма антирадикального действия фенолов за счет специфической сольватации.

Подтвердить или опровергнуть данное предположение можно качественно путем изучения кинетики реакции PhOH с DPPH \cdot при постепенном увеличении ионизирующей способности среды в смешанном растворителе с разным соотношением этанола и диметилсульфоксида.

Видно (рис. 2.1.2), что при добавке в исследуемую систему диметилсульфоксида наблюдается уменьшение реакционной способности фенолов по отношению к DPPH \cdot . Установленная нелинейная зависимость в координатах уравнения Лейдлера-Эйринга (1.2.3) показывает, что скорость исследуемой реакции в бинарной смеси зависит не только от диэлектрической проницаемости среды, но и от специфической сольватации – образования водородных связей между реагентами и молекулами растворителя [8, 9].

В отличие от смесей бензол–диметилсульфоксид (рис. 1.2.2), в данном случае с увеличением константы скорости реакции при переходе от менее полярной к более полярной смеси этанол–диметилсульфоксид наблюдается

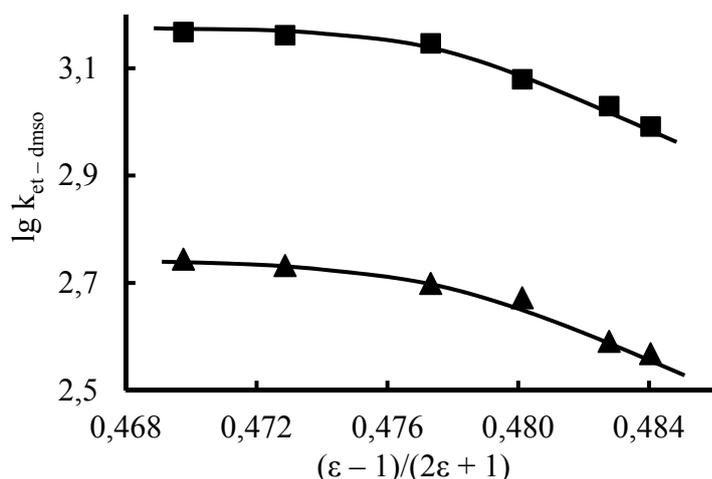


Рис. 2.1.2 – Зависимость в координатах уравнения Лейдлера-Эйринга для реакции радикала DPPH[•] с гидроксибензолами в смеси этанола с диметилсульфоксидом: 1 – пирогаллол; 2 – пирокатехин

обратно пропорциональная нелинейная зависимость (рис. 2.1.2). Отклонение от линейности указывает на влияние специфической сольватации. В связи с этим можно полагать, что в этаноле как в полярном ионизирующем растворителе наравне с механизмом ET-PT появляется конкурирующий механизм SPLET.

Определить, какой из этих двух параллельных механизмов является доминирующим и определяет скорость реакции в целом можно путем добавки к реакционной смеси в этаноле буферного раствора с низким рН.

Установлено (рис. 2.1.3), что при проведении реакции DPPH[•] с исследуемыми фенолами в этаноле с солянокислым буфером (рН=1,5) скорость исследуемой реакции резко уменьшается, достигая уровня как в диметилсульфоксиде вследствие подавления процесса диссоциации PhOH и снижения концентрации ионных форм, более активных в реакции с гидразильным радикалом, чем нейтральные молекулы.

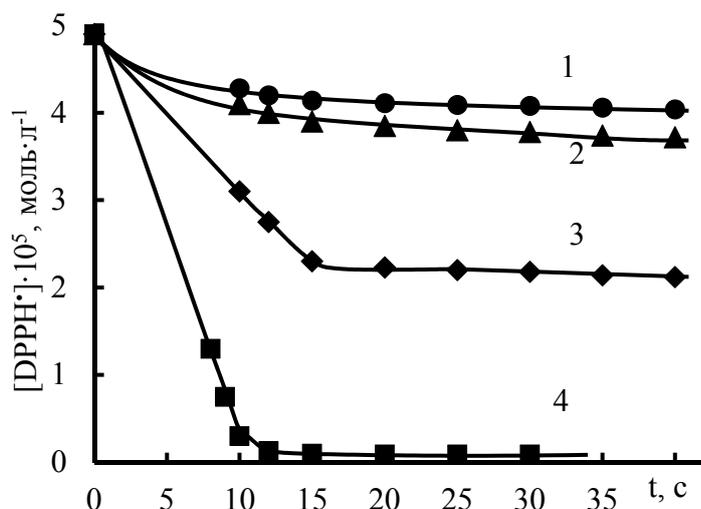
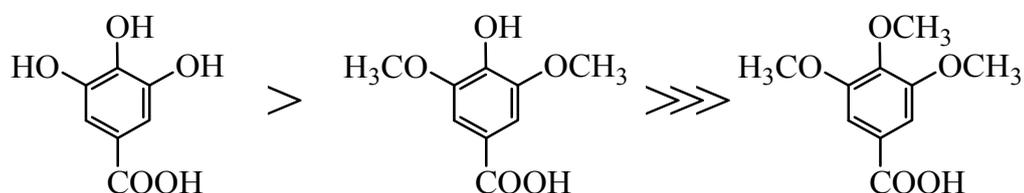


Рис. 2.1.3 – Влияние добавок солянокислого буфера с рН=1,5 на кинетику расходования DPPH[•] в реакции с галловой кислотой ($C=4,9 \cdot 10^{-5}$ моль · л⁻¹) в этаноле: 1 – 60 об.%; 2 – 50 об.%; 3 – 20 об.%; 4 – 0 об.%. $T=293 \pm 2$ К

Причем дальнейшее понижение рН среды не приводит к снижению скорости реакции до уровня скорости в бензоле, где реализуется механизм (НАТ/РСЕТ) переноса атома водорода от молекулы фенола к гидразильному радикалу (раздел 1.1).

Логично, что для карбоксилсодержащих фенольных соединений (9–28, 36–41) диссоциация приводит к появлению не только фенолят-, но и карбоксилат-ионов. Какова их роль в процессе дезактивации радикала DPPH'?

В отличие от О–Н группы, карбоксильная группа в молекуле фенола не является реакционным центром, что было доказано в опытах с галловой кислотой и ее производными: чем меньше гидроксигрупп в молекуле кислоты, тем ниже ее антирадикальная активность (таблица 2.1.1, соединения 24 и 25), а полное их замещение на метоксигруппы, как в случае вератровой кислоты, приводит к полной потере реакционной способности вещества:



Роль образующихся при диссоциации кислот карбоксилат-ионов может, по-видимому, заключаться в активации механизма ET–PT, когда перенос электрона будет осуществляться не от молекулы, а от более активного карбоксильного иона (ET_{ион}–PT), что подтверждается многократным усилением антирадикальной активности фенольных кислот при переходе от бензола к более полярным средам по сравнению с менее кислыми собственно фенольными соединениями типа флавоноидов и гидроксibenзолов.

Таким образом, зависимость скорости исследуемой реакции PhOH с DPPH' от рН среды подтверждает, что в этаноле доминирует механизм (SPLET) последовательной потери протона с последующей лимитирующей стадией переноса электрона от образующегося фенолят-иона (2.1.1).

2.1.2 Влияние потенциала ионизации фенолят-иона

Квантово-химическим дескриптором, связанным с реализацией механизма SPLET, является потенциал ионизации фенолят-иона, который непосредственно участвует в лимитирующей стадии реакции (2.1.1). Концентрация такого фенолят-иона в реакционной смеси должна быть максимальна по сравнению с другими ионными формами, а значит он должен

образовываться либо по I ступени (PhO^- для собственно фенольных соединений – гидроксибензолы, гидроксиацетофеноны, флавоноиды), либо по II ступени диссоциации (PhO^{2-} для карбоксилсодержащих фенолов – гидроксибензойные и гидроксикоричные кислоты).

Поиск указанного фенолята осуществлялся следующим образом: вначале методом QSPR (Quantitative Structure – Property Relationship, количественная взаимосвязь структура – свойство) в программном пакете Marvin 16.1.11 [11] были рассчитаны pK_a изученных веществ (водная среда, $T=298\text{ K}$), по величинам которых определяли группы О–Н, диссоциирующие по I или II ступени, а затем методом B3LYP/6-311++G(d,p) рассчитывались значения адиабатических потенциалов ионизации образующихся ионов в среде этанола.

$$PI_{\text{PhO}^-(\text{et})} = H_{\text{PhO}^\bullet}^0 - H_{\text{PhO}^-}^0, \quad (2.1.3)$$

где $H_{\text{PhO}^\bullet}^0$, $H_{\text{PhO}^-}^0$ – стандартные энтальпии (H) феноксильного радикала и соответствующего фенолят-иона.

$$PI_{\text{PhO}^{2-}(\text{et})} = H_{\text{PhO}^{\bullet-}}^0 - H_{\text{PhO}^{2-}}^0, \quad (2.1.4)$$

где $H_{\text{PhO}^{\bullet-}}^0$, $H_{\text{PhO}^{2-}}^0$ – стандартные энтальпии (H) феноксильного радикала и соответствующего фенолят-иона фенольной кислоты.

Видно, что величины потенциалов ионизации молекул повышаются (приблизительно на 3–40 кДж·моль⁻¹) при переходе от диметилсульфоксида (табл. 1.2.3) к менее полярному растворителю – этанолу (табл. 2.1.2).

Таблица 2.1.2 – Расчетные величины потенциалов ионизации молекул природных фенолов ($PI_{\text{PhOH}(\text{et})}$) и соответствующих фенолят-ионов ($PI_{\text{PhO}^{-(2-)}(\text{et})}$), образующихся по I или II ступени диссоциации. B3LYP/6-311++G(d,p), среда – этанол, модель PCM/UFF

Соединение	Положение О–Н группы*	$PI_{\text{PhO}^{-(2-)}(\text{et})}$, кДж·моль ⁻¹	$PI_{\text{PhOH}(\text{et})}$, кДж·моль ⁻¹
1	2	3	4
Гидроксибензолы			
1 – пирокатехин	1	405	581
2 – резорцин	1	428	592
3 – орцин	1	425	587
4 – гидрохинон	1	393	559
5 – метиловый эфир гидрохинона	1	390	550

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
6 – пирогаллол	2	403	579
7 – флороглюцин	1	434	594
8 – оксигидрохинон	2	399	556
Гидроксibenзойные кислоты			
<i>Моногидроксibenзойные кислоты</i>			
9 – салициловая кислота	2	420	592
10 – 3-метилсалициловая кислота	2	419	590
11 – метиловый эфир 3-метилсалициловой кислоты	2	419	589
12 – 3-гидроксibenзойная кислота	3	417	584
13 – 4-гидроксibenзойная кислота	4	418	581
14 – этиловый эфир 4-гидроксibenзойной кислоты	4	418	580
<i>Дигидроксibenзойные кислоты</i>			
15 – пирокатеховая кислота	3	403	562
16 – β-резорциловая кислота	4	426	578
17 – метиловый эфир β-резорциловой кислоты	4	426	576
18 – гентизиновая кислота	5	393	555
19 – γ-резорциловая кислота	2	435	593
20 – протокатеховая кислота	3	401	561
21 – α-резорциловая кислота	3	427	586
22 – ванилиновая кислота	4	428	585
<i>Тригидроксibenзойные кислоты</i>			
23 – 3-пирогаллолкарбоновая кислота	3	389	559
24 – галловая кислота	4	392	560
25 – сиреневая кислота	4	406	571
26 – метиловый эфир галловой кислоты	4	391	559
27 – этиловый эфир галловой кислоты	4	391	558
28 – флороглюцинкарбоновая кислота	4	427	582
Гидроксикоричные кислоты			
36 – о-кумаровая кислота	2	412	582
37 – м-кумаровая кислота	3	410	580
38 – п-кумаровая кислота	4	411	581
39 – кофейная кислота	3	393	565
40 – феруловая кислота	4	396	564
41 – синаповая кислота	4	402	569
Флавоноиды и их гликозиды			
<i>Флаванолы-3 (катехины)</i>			
42 – катехин	3'	413	578
43 – галлокатехин	4'	412	576
<i>Флаванолы</i>			
44 – кемпферол	7	409	571
45 – кверцетин	7	410	569
46 – изорамнетин	7	411	571
47 – морин	7	406	561
48 – мирицетин	7	410	566

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
49 – кверцитрин (3-рамнозид кверцетина)	7	411	567
50 – рутин (3-глюкорамнозид кверцетина)	7	412	564

Примечание: * – положение О–Н группы в молекуле фенола, по которой образуется фенолят-ион при диссоциации по I (для гидроксibenзолов и флавоноидов) или II (для гидроксibenзойных и гидроксикоричных кислот) ступени.

Если следовать логике, что доминирующим является механизм ET–PT с участием молекулы PhOH, то должно было наблюдаться снижение реакционной способности фенолов в реакции с DPPH• в этаноле по сравнению с dmsO, но на практике видна обратная тенденция (табл. 2.1.1, 1.2.1), а значит, в реакции участвует антиоксидант как в молекулярной форме, так и в виде фенолят-ионов, потенциал ионизации которых значительно ниже, чем у молекул (табл. 2.1.2). Это же подтверждается снижением коэффициента корреляции (уравнение 2.1.5, $r=0,888$) зависимости $\ln k_{et}$ от $PI_{PhOH(et)}$ (рис. 2.1.4a) по сравнению с аналогичной зависимостью $\ln k_{dmsO}$ от PI_{dmsO} в диметилсульфоксиде (уравнение 1.2.5, $r=0,971$).

$$\ln k_{et} = (97 \pm 7) - (16,0 \pm 1,3) \cdot 10^{-2} PI_{PhOH(et)},$$

$$n = 43; r = 0,888; r^2 = 0,789; F = 153; p < 0,0000; S_{est}=1. \quad (2.1.5)$$

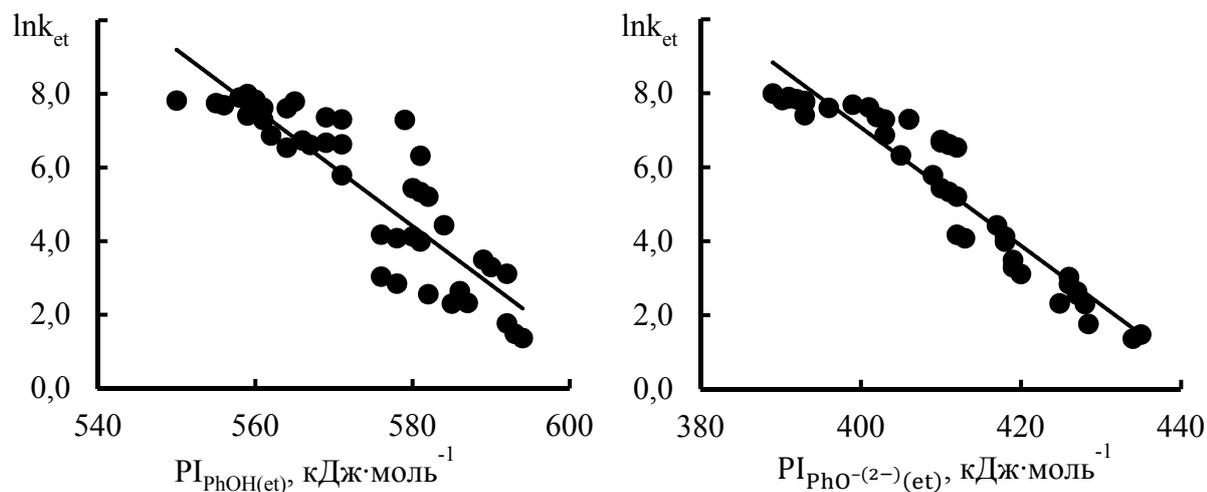


Рис. 2.1.4 – Однофакторная линейная регрессионная зависимость $\ln k_{et}$ от $PI_{PhOH(et)}$ (a) и $\ln k_{et}$ от $PI_{PhO^{-(2-)}(et)}$ (б)

Таким образом, в спиртовых растворах влияние потенциала ионизации молекулы PhOH как квантово-химического дескриптора, определяющего механизм реакции, явно снижается, а значит ET–PT можно считать параллельным конкурирующим, но не доминирующим механизмом.

В этаноле как амфипротонном растворителе, склонном к ионизации веществ [10–11], а также при низких рабочих концентрациях антиоксидантов, фенолят-ионы будут образовываться в количестве достаточном для участия в скоростьопределяющей стадии по механизму SPLET (2.1.1). На это указывает как зависимость скорости исследуемой реакции от pH среды (рис. 2.1.3), так и более высокая корреляция (уравнение 2.1.6) антирадикальной активности ($\ln k_{et}$) изученных фенолов с расчетными значениями потенциалов ионизации их фенолят-ионов $PI_{PhO^{-(2-)}(et)}$.

$$\ln k_{et} = (71 \pm 3) - (15,9 \pm 0,8) \cdot 10^{-2} PI_{PhO^{-(2-)}(et)},$$

$$n = 43; r = 0,946; r^2 = 0,895; F = 349; p < 0,0000; S_{est} = 0,7. \quad (2.1.6)$$

С ростом потенциалов ионизации фенолят-ионов реакционная способность антиоксидантов закономерно падает (рис. 2.1.4б), что обусловлено с точки зрения доминирования механизма SPLET в этаноле замедлением переноса электрона с иона на радикал.

Поскольку взаимосвязь между величинами потенциалов ионизации молекул и фенолят-ионов не превышала 0,8, то был проведен множественный линейный регрессионный анализ в программе Statistica Demo 6.0 [12], позволяющий установить корреляцию между двумя квантово-химическими структурными дескрипторами и антирадикальной активностью фенолов.

Как видно (уравнение 2.1.7) из значений множественного коэффициента корреляции ($r = 0,960$) и детерминации ($r^2 = 0,922$) выбранная линейная модель с двумя факторами $PI_{PhOH(et)}$ и $PI_{PhO^{-(2-)}(et)}$ (независимыми переменными) адекватно описывает экспериментальные данные (рис. 2.1.5), и вариация зависимой переменной ($\ln k_{et}$) на 96% может быть обусловлена вариацией независимых переменных. F-критерий Фишера проверки значимости линейной модели регрессии имеет высокое значение $F = 211$.

$$\ln k_{et} = (83 \pm 5) - (4,9 \pm 1,1) \cdot 10^{-2} PI_{PhOH(et)} - (11,9 \pm 1,5) \cdot 10^{-2} PI_{PhO^{-(2-)}(et)}, \quad (2.1.7)$$

$$n = 43; r = 0,960; r^2 = 0,922; F = 211; p < 0,0000; S_{est} = 0,6;$$

бета-коэффициенты:

$$PI_{PhOH(et)}\text{-beta} = 0,27;$$

$$PI_{PhO^{-(2-)}(et)}\text{-beta} = 0,71;$$

полные парные коэффициенты:

$$r_{\ln k_{et} - PI_{PhOH(et)}} = 0,888;$$

$$r_{\ln k_{et} - PI_{PhO^{-(2-)}(et)}} = 0,946;$$

частные коэффициенты:

$$\Gamma_{(partical)} \ln k_{et} - \text{PI}_{\text{PhOH}(et)} = 0,27$$

$$\Gamma_{(partical)} \ln k_{et} - \text{PI}_{\text{PhO}^{-(2-)}(et)} = 0,71.$$

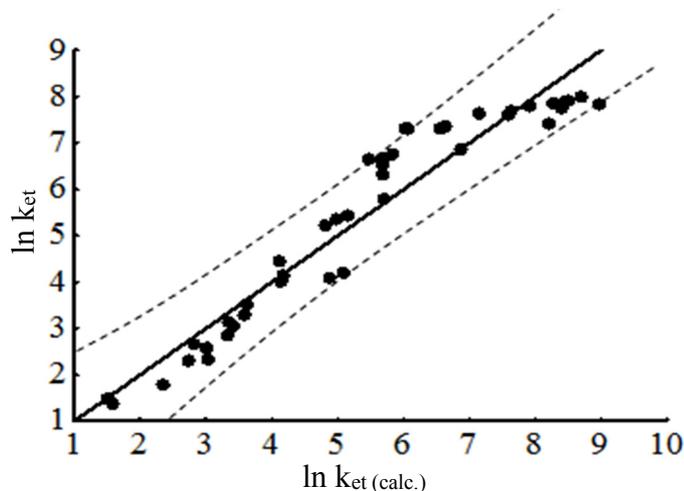


Рис. 2.1.5 – Линейная регрессионная зависимость экспериментальных значений $\ln k_{et}(\text{exp.})$ от рассчитанных $\ln k_{et}(\text{calc.})$ по уравнению 2.1.7

При рассмотрении результатов многофакторного регрессионного анализа необходимо вначале обратить внимание на значение регрессионных бета-коэффициентов – коэффициентов регрессии, которые были бы получены, если бы мы заранее стандартизовали все переменные, то есть сделали их среднее равным 0, а стандартное отклонение равным 1 [12]. Одно из преимуществ бета-коэффициентов состоит в том, что они позволяют сравнить относительный вклад каждой независимой переменной в предсказание зависимой переменной. В нашем случае бета-коэффициенты для переменных $\text{PI}_{\text{PhOH}(et)}$ и $\text{PI}_{\text{PhO}^{-(2-)}(et)}$ являются статистически значимыми и соответственно равны $\text{PI}_{\text{PhOH}(et)}\text{-beta} = 0,27$ и $\text{PI}_{\text{PhO}^{-(2-)}(et)}\text{-beta} = 0,71$ (уравнение 2.1.7). Видно, что переменная $\text{PI}_{\text{PhO}^{-(2-)}(et)}$ вносит больший вклад в изменение $\ln k_{et}$.

Вторым, не менее важным этапом, является применение полных коэффициентов парной корреляции при множественной корреляции, которое может привести к неверным выводам при изучении связи двух величин. Необходимо анализировать частные коэффициенты корреляции, которые отражают степень линейной взаимосвязи между двумя переменными, рассчитанную после устранения влияния всех других переменных. Если между двумя величинами частный коэффициент корреляции равен нулю или уменьшается по сравнению с полным парным коэффициентом корреляции, то можно сказать, что взаимосвязь этих величин в значительной степени обусловлена другими факторами. Если же при фиксировании других факторов степень взаимосвязи двух величин растет (частный коэффициент корреляции увеличивается), то это означает, что факторы маскировали истинную взаимосвязь двух величин [11].

Как видно (уравнение 2.1.7) при исключении переменной $PI_{PhO^{-(2-)}(et)}$ коэффициент корреляции между зависимой переменной $\ln k_{et}$ и независимой $PI_{PhOH(et)}$ уменьшается: полный и частный коэффициенты корреляции соответственно равны $r_{\ln k_{et} - PI_{PhOH(et)}} = 0,888$ и $r_{(partical) \ln k_{et} - PI_{PhOH(et)}} = 0,27$. Такая же закономерность наблюдается и при исключении влияния переменной $PI_{PhOH(et)}$ на зависимую переменную $\ln k_{et}$: полный и частный коэффициенты корреляции соответственно равны $r_{\ln k_{et} - PI_{PhO^{-(2-)}(et)}} = 0,946$ и $r_{(partical) \ln k_{et} - PI_{PhO^{-(2-)}(et)}} = 0,71$.

Таким образом, можно утверждать о наличии сильной связи между $PI_{PhOH(et)}$, $PI_{PhO^{-(2-)}(et)}$ и $\ln k_{et}$, об отсутствии маскирующего влияния независимых переменных одной на другую, а также о статистической значимости параметров уравнения регрессии. Высокий частный коэффициент корреляции между зависимой переменной $\ln k_{et}$ и независимой $PI_{PhO^{-(2-)}(et)}$ подтверждает вывод о большем влиянии этой переменной по сравнению с $PI_{PhOH(et)}$, сделанный на основе анализа бета-коэффициентов (см. выше). Тогда, с учетом, что $PI_{PhOH(et)}$ является дескриптором для механизма ET-PT, а $PI_{PhO^{-(2-)}(et)}$ – для SPLET, можно интерпретировать полученную многофакторную зависимость как дополнительное подтверждение протекания реакции PhOH с DPPH• в этаноле по двум параллельным механизмам ET-PT и SPLET с доминированием последнего.

В завершение, для выбранной и статистически аргументированной модели был построен трехмерный график зависимости между параметром антирадикальной активности фенолов ($\ln k_{et}$) и их структурными квантово-химическими дескрипторами ($PI_{PhOH(et)}$ и $PI_{PhO^{-(2-)}(et)}$) (рис. 2.1.6).

Анализ взаимосвязи «структура – реакционная способность» растительных фенолов показал (табл. 2.1.1, 2.1.2), что в спирте, в отличие от бензола, все изученные вещества обладают антирадикальной активностью, что, по-видимому, связано с участием в реакции активных фенолят-ионов. Причем карбоксилсодержащие фенольные соединения с более выраженными кислотными свойствами проявляют наиболее высокую реакционную способность по отношению к гидразильному радикалу. Это обусловлено не только низкими потенциалами ионизации их молекул и фенолят-ионов (рис. 2.1.6), но и лучшей способностью к диссоциации. Для фенольных кислот даже в слабоионизирующих средах характерно образование карбоксилат-ионов [13], способных, как уже говорилось ранее (раздел 1.2), активно участвовать в конкурирующем механизме ET_{ion}-PT.

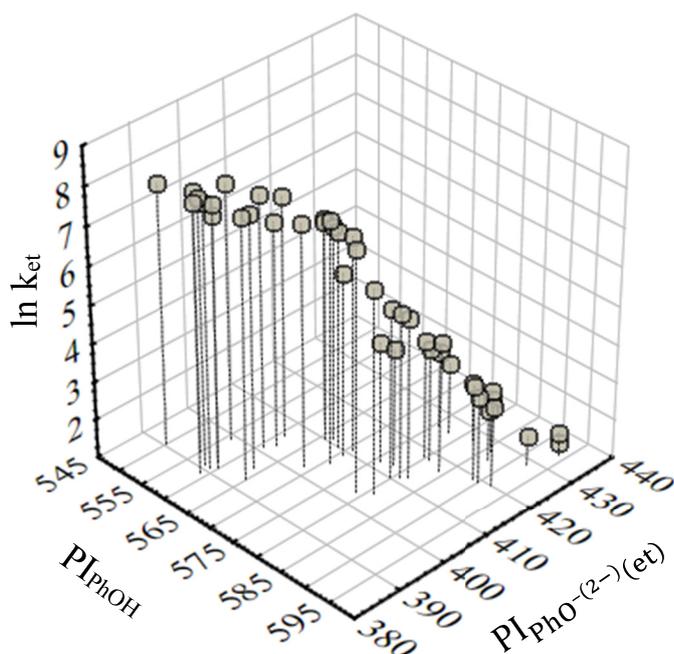


Рис. 2.1.6 – Трехмерный график зависимости $\ln k_{et}$ от $P_{I_{PhOH(et)}}$ ($\text{кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$) и $P_{I_{PhO^{2-}(et)}}$ ($\text{кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$), построенный в системе Statistica Demo 6.0

В общем, для фенольных кислот характерны следующие закономерности:

- величина k_{et} гидроксикоричных кислот выше, а $P_{I_{PhO^{2-}(et)}}$ ниже, чем у соответствующих фенолкарбоновых кислот за счет большей удаленности электроноакцепторной карбоксильной группы $-\text{COOH}$ от бензольного кольца посредством винильного мостика;

- кислоты с одной $\text{O}-\text{H}$ группой характеризуются высокими потенциалами ионизации фенолят-ионов, и, следовательно, менее склонны к процессам переноса электрона, что подтверждается их низкой антирадикальной активностью;

- наибольшую реакционную способность проявляют тригидроксибензойные кислоты и их эфиры, фенолят-ионы которых имеют низкие значения потенциалов ионизации (**23**, **26**, **27**). Исключение составляет флороглюцинкарбоновая кислота (**28**) с высоким $P_{I_{PhO^{2-}(et)}}$.

Большинство флавоноидов менее эффективны, чем тригидроксибензойные кислоты. Особенно низкой АРА обладают флаваны, потенциалы ионизации их фенолят-ионов выше, чем у флавонолов, а значит ионы соединений **42** и **43** будут медленнее отдавать электрон в реакции с радикалом DPPH^{\bullet} по механизму SPLET.

В общем, при переходе от апротонной среды к ионизирующему полярному растворителю этанолу реакция PhOH с DPPH^{\bullet} протекает по двум параллельным механизмам переноса электрона – от молекулы фенола (ET-PT)

(1.2.2) и от фенолят-иона (SPLET) (2.1.1) с доминированием последнего, что приводит к ускорению процесса (k_{et}/k_{benz}) до 60000 раз по сравнению с бензолом, в то время как отношение констант k_{dmsO}/k_{benz} изменяется в 10–20 раз. Таким образом, ионизирующая способность растворителя оказывает более сильное «ускоряющее» действие на кинетику исследуемой реакции, чем увеличение полярности среды. Подтвердить или опровергнуть данное утверждение можно, изучив закономерности взаимодействия PhOH с DPPH^{*} в сильноионизирующих растворителях на водной основе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Litwinienko, G. Abnormal Solvent Effects on Hydrogen Atom Abstraction. 1. The Reaction of Phenols with 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (dpph^{*}) in Alcohols / G. Litwinienko, K. U. Ingold // *J. Org. Chem.* – 2003. – Vol. 68, № 9. – P. 3433–3438.
2. Litwinienko, G. Abnormal Solvent Effects on Hydrogen Atom Abstraction. 3. Novel Kinetics in Sequential Proton Loss Electron Transfer Chemistry // G. Litwinienko, K. U. Ingold // *J. Org. Chem.* – 2004. – Vol. 69, № 18. – P. 5888–5896.
3. Litwinienko, G. Solvent Effects on the Rates and Mechanisms of Reaction of Phenols with Free Radicals / G. Litwinienko, K. U. Ingold // *Acc. Chem. Res.* – 2007. – Vol. 40, № 3. – P. 222–230.
4. Musialik, M. Scavenging of dpph^{*} Radicals by Vitamin E Is Accelerated by Its Partial Ionization: the Role of Sequential Proton Loss Electron Transfer / M. Musialik, G. Litwinienko // *Org. Lett.* – 2005. – Vol. 7, № 22. – P. 4951–4954.
5. Acidity of hydroxyl groups: an overlooked influence on antiradical properties of flavonoids / M. Musialik [et al.] // *J. Org. Chem.* – 2009. – Vol. 74, № 7. – P. 2699–2709.
6. Foti, C. M. Electron-Transfer Reaction of Cinnamic Acids and Their Methyl Esters with the DPPH^{*} Radical in Alcoholic Solutions / C. M. Foti, C. Daquino, C. Geraci // *J. Org. Chem.* – 2004. – Vol. 69, № 7. – P. 2309–2314.
7. Волков, В.А. Физико-химические закономерности взаимодействия 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила с антиоксидантами растительного происхождения : автореф. дис. ... канд. хим. Наук / Волков Владимир Анатольевич ; Тверской государственный университет. – Тверь, 2010. – 20 с.
8. Хоффман, Р. В. Механизмы химических реакций / Р. В. Хоффман. – М. : Химия, 1979. – 304 с.

9. Амис, Э. Влияние растворителя на скорость и механизм химических реакций / Э. Амис. – М. : Мир, 1968. – 328 с.

10. Roy, K. Predictive QSPR modeling of the acidic dissociation constant (pKa) of phenols in different solvents / K. Roy, P. L. A. Popelier / J. Phys. Org. Chem. – 2009. – Vol. 22. – P. 186–196.

11. ChemAxon – Software for Chemistry and Biology [Электронный ресурс]. – Сайт. – Режим доступа: <http://www.chemaxon.com>. – Дата обращения: 27.08.2017.

12. Электронный учебник по системе STATISTICA [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.statsoft.ru/home/textbook/default.htm>

13. Боголицин, К. Г. Кислотно-основные свойства родственных лигнину фенолов в системе вода-апротонный растворитель/ К. Г. Боголицин, Н. С. Горбова, Д. С. Косякова // Журнал физической химии. – 2003. – Т. 77, № 4. – С. 667–671.

2.2 Реакции в смешанных растворителях

2.2.1 Кинетические и стехиометрические параметры реакции. Расчет константы скорости реакции в водной среде

Эмпирическое изучение кинетики и механизма реакций фенольных соединений с DPPH[•] в водной среде не проводится из-за крайне слабой растворимости радикала в воде, поэтому часто используются смешанные растворители с добавками воды [1–4]. Актуальность таких исследований не вызывает сомнений, поскольку вода имеет огромное значение для нормального функционирования организма человека. Все физиологические жидкости: кровь, лимфа, слюна, желудочный сок, сок поджелудочной железы, желчь, межклеточная и внутриклеточная жидкость представляют из себя водные растворы либо дисперсные системы. Все биохимические и обменные процессы, весь метаболизм человеческого организма происходит в водной среде. Не надо забывать, что вода содержится в значительных количествах почти во всех продуктах, которые мы употребляем в пищу.

Как было показано в главе 2 (раздел 2.1), при переходе к ионизирующему амфипротонному растворителю – этанолу константы скорости исследуемой реакции PhOH с DPPH[•] сильно возрастают по сравнению с аналогичными величинами в dmsо и benz. Дальнейшее же повышение ионизирующих свойств среды путем добавки воды к этанолу приводит к мгновенному протеканию реакции (рис. 2.2.1) для антиоксидантов с высокой реакционной способностью.

В большинстве случаев [1, 5, 6] эту проблему решали, путем подкисления этанола. В нашей работе, поскольку исследуются водородоакцепторные свойства воды, определяющие во многом ее способность ионизировать вещества, мы предлагаем замедлять кинетику реакции PhOH с DPPH[•] в сильноионизирующих средах следующим образом: 1) в качестве основного растворителя применять апротонный диметилсульфоксид, подавляющий процесс диссоциации фенолов; 2) проводить подбор кювет для спектрофотометрирования; 3) использовать добавку бидистиллированной воды (water) в количестве не более 10 об.%, что позволит строго контролировать рост ее ионизирующей способности.

В смешанном растворителе dmsо–water в присутствии всех исследуемых природных фенолов происходит расходование DPPH[•], которое можно зафиксировать в приемлемом временном интервале (рис. 2.2.2a). В отличие от

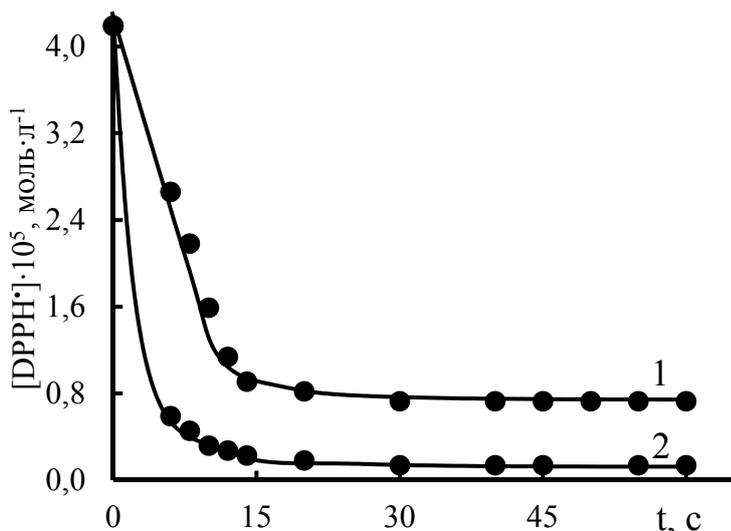


Рис. 2.2.1 – Влияние добавки воды на кинетику расходования DPPH· в реакции с сиреневой кислотой ($C=4,2 \cdot 10^{-5}$ моль·л⁻¹) в этаноле: 1 – 0 об.%; 2 – 10 об.%. $T=293 \pm 2$ К

реакций в бензоле (раздел 1.1), отсутствуют явно слабые антиоксиданты, неспособные дезактивировать гидразильный радикал при температуре 293 К. При этом, как и в других изученных апротонных и протонных средах, наблюдается спрямление полученных кинетических кривых в координатах $[DPPH^{\cdot}]^{-1}-t$ (рис. 2.2.2б), что свидетельствует о втором общем порядке реакции.

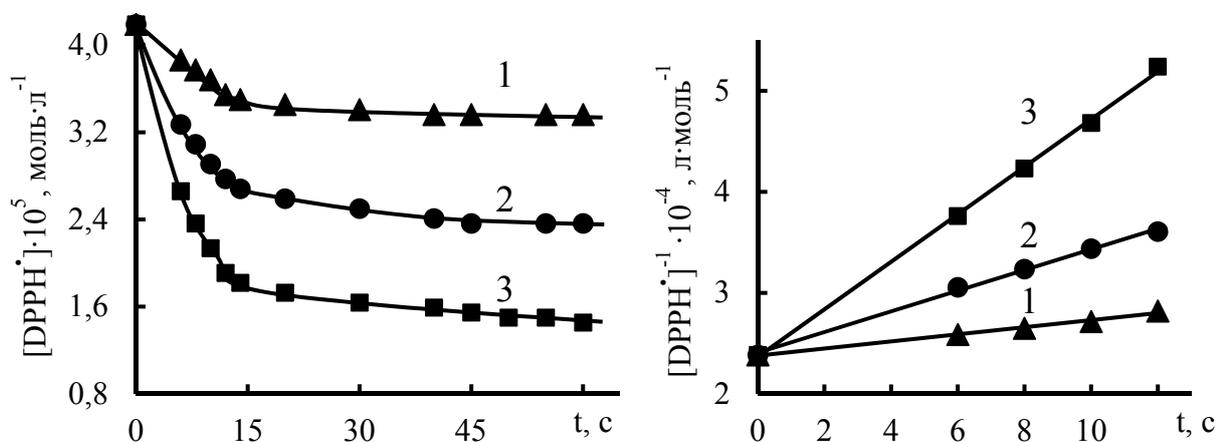


Рис. 2.2.2 – Кинетические кривые расходования DPPH· в реакции с фенолами ($C=4,2 \cdot 10^{-5}$ моль·л⁻¹) (а) и их анаморфозы в координатах реакции второго порядка (б): 1 – мирицетин; 2 – феруловая кислота; 3 – пирогаллол. Растворитель – dmsо–water (90:10 об.%). $T=293 \pm 2$ К

Сравнение полученных констант скоростей реакции в смеси dmsо–water (90:10 об.%) (табл. 2.2.1) с аналогичными величинами в чистом апротонном растворителе (табл. 1.2.1) показало, что при добавлении даже небольшого количества воды (порядка 10 об.%), когда полярность среды изменяется незначительно, реакционная способность фенольных соединений ($k_{dmsо-water}$)

Таблица 2.2.1 – Значения констант скоростей реакции природных фенолов с радикалом DPPH• в смеси диметилсульфоксид–вода (90:10 об.%) ($k_{\text{dmsso-water}}$) и в индивидуальном растворителе – воде (k_{water}) при T=293K

Соединение	$k_{\text{dmsso-water}}$, л·моль ⁻¹ ·с ⁻¹	Линейное регрессионное уравнение $\ln k_{\text{dmsso-water}} = \ln k_{\text{dmsso}} \cdot W_{\text{dmsso}} + \ln k_{\text{water}} \cdot (1 - W_{\text{dmsso}})$	k_{water} , л·моль ⁻¹ ·с ⁻¹
1	2	3	4
Гидроксibenзолы			
1 – пирокатехин	$8,5 \cdot 10^2$	$\ln k_{\text{dmsso-water}} = (5,9 \pm 0,3) + (8,36 \pm 0,04) \cdot (1 - W_{\text{dmsso}})$, r = 0,998	$(4,28 \pm 0,25) \cdot 10^3$
2 – резорцин	3,7	$\ln k_{\text{dmsso-water}} = (0,85 \pm 0,03) + (4,61 \pm 0,21) \cdot (1 - W_{\text{dmsso}})$, r = 0,995	$(1,04 \pm 0,03) \cdot 10^2$
3 – орцин	5,9	$\ln k_{\text{dmsso-water}} = (1,22 \pm 0,04) + (5,52 \pm 0,25) \cdot (1 - W_{\text{dmsso}})$, r = 0,998	$(2,51 \pm 0,14) \cdot 10^2$
4 – гидрохинон	$1,5 \cdot 10^3$	$\ln k_{\text{dmsso-water}} = (6,3 \pm 0,4) + (9,76 \pm 0,21) \cdot (1 - W_{\text{dmsso}})$, r = 0,996	$(1,74 \pm 0,04) \cdot 10^4$
5 – метиловый эфир гидрохинона	$1,7 \cdot 10^3$	$\ln k_{\text{dmsso-water}} = (6,4 \pm 0,4) + (9,91 \pm 0,09) \cdot (1 - W_{\text{dmsso}})$, r = 0,998	$(2,01 \pm 0,03) \cdot 10^4$
6 – пирогаллол	$2,3 \cdot 10^3$	$\ln k_{\text{dmsso-water}} = (6,9 \pm 0,4) + (8,73 \pm 0,21) \cdot (1 - W_{\text{dmsso}})$, r = 0,997	$(6,2 \pm 0,3) \cdot 10^3$
7 – флороглюцин	2,1	$\ln k_{\text{dmsso-water}} = (0,34 \pm 0,03) + (3,72 \pm 0,19) \cdot (1 - W_{\text{dmsso}})$, r = 0,996	41,3 ± 2,2
8 – оксигидрохинон	$1,8 \cdot 10^3$	$\ln k_{\text{dmsso-water}} = (6,59 \pm 0,04) + (9,05 \pm 0,09) \cdot (1 - W_{\text{dmsso}})$, r = 0,998	$(8,5 \pm 0,3) \cdot 10^3$
Гидроксibenзойные кислоты			
<i>Моногидроксibenзойные кислоты</i>			
9 – салициловая кислота	2,6	$\ln k_{\text{dmsso-water}} = (0,41 \pm 0,03) + (5,52 \pm 0,21) \cdot (1 - W_{\text{dmsso}})$, r = 0,997	$(2,52 \pm 0,14) \cdot 10^2$
10 – 3-метилсалициловая кислота	3,2	$\ln k_{\text{dmsso-water}} = (0,59 \pm 0,03) + (5,74 \pm 0,21) \cdot (1 - W_{\text{dmsso}})$, r = 0,998	$(3,11 \pm 0,14) \cdot 10^2$
11 – метиловый эфир 3-метилсалициловой кислоты	4,1	$\ln k_{\text{dmsso-water}} = (0,79 \pm 0,04) + (6,04 \pm 0,19) \cdot (1 - W_{\text{dmsso}})$, r = 0,996	$(4,23 \pm 0,23) \cdot 10^2$
12 – 3-гидроксibenзойная кислота	8,2	$\ln k_{\text{dmsso-water}} = (1,44 \pm 0,05) + (6,67 \pm 0,21) \cdot (1 - W_{\text{dmsso}})$, r = 0,998	$(7,9 \pm 0,3) \cdot 10^2$
13 – 4-гидроксibenзойная кислота	5,2	$\ln k_{\text{dmsso-water}} = (0,99 \pm 0,04) + (6,46 \pm 0,19) \cdot (1 - W_{\text{dmsso}})$, r = 0,998	$(6,4 \pm 0,3) \cdot 10^2$
14 – этиловый эфир 4-гидроксibenзойной кислоты	6,1	$\ln k_{\text{dmsso-water}} = (1,13 \pm 0,05) + (6,58 \pm 0,18) \cdot (1 - W_{\text{dmsso}})$, r = 0,996	$(7,2 \pm 0,3) \cdot 10^2$
<i>Дигидроксibenзойные кислоты</i>			
15 – пирокатеховая кислота	$6 \cdot 10^2$	$\ln k_{\text{dmsso-water}} = (5,48 \pm 0,05) + (9,22 \pm 0,08) \cdot (1 - W_{\text{dmsso}})$, r = 0,998	$(1,01 \pm 0,03) \cdot 10^4$
16 – β-резорциловая кислота	7,3	$\ln k_{\text{dmsso-water}} = (1,46 \pm 0,04) + (5,35 \pm 0,25) \cdot (1 - W_{\text{dmsso}})$, r = 0,997	$(2,13 \pm 0,14) \cdot 10^2$
17 – метиловый эфир β-резорциловой кислоты	9,2	$\ln k_{\text{dmsso-water}} = (1,65 \pm 0,05) + (5,72 \pm 0,25) \cdot (1 - W_{\text{dmsso}})$, r = 0,998	$(3,05 \pm 0,15) \cdot 10^2$
18 – гентизиновая кислота	$1,6 \cdot 10^3$	$\ln k_{\text{dmsso-water}} = (6,36 \pm 0,04) + (10,09 \pm 0,09) \cdot (1 - W_{\text{dmsso}})$, r = 0,998	$(2,42 \pm 0,14) \cdot 10^4$
19 – γ-резорциловая кислота	1,7	$\ln k_{\text{dmsso-water}} = (0,09 \pm 0,04) + (4,17 \pm 0,21) \cdot (1 - W_{\text{dmsso}})$, r = 0,995	65 ± 3
20 – протокатеховая кислота	$1,4 \cdot 10^3$	$\ln k_{\text{dmsso-water}} = (6,23 \pm 0,04) + (9,85 \pm 0,08) \cdot (1 - W_{\text{dmsso}})$, r = 0,998	$(1,92 \pm 0,03) \cdot 10^4$

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
21 – α-резорциловая кислота	5,9	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(1,25\pm 0,05)+(5,19\pm 0,25)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,996$	$(1,84\pm 0,04)\cdot 10^2$
22 – ванилиновая кислота	4,2	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(0,92\pm 0,05)+(5,08\pm 0,23)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,995$	$(1,63\pm 0,03)\cdot 10^2$
<i>Тригидроксibenзойные кислоты</i>			
23 – 3-пирогаллолкарбоновая кислота	$3\cdot 10^3$	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(6,89\pm 0,06)+(11,08\pm 0,11)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,998$	$(6,5\pm 0,3)\cdot 10^4$
24 – галловая кислота	$2,4\cdot 10^3$	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(6,74\pm 0,06)+(10,04\pm 0,11)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,998$	$(3,31\pm 0,15)\cdot 10^4$
25 – сиреневая кислота	$1,9\cdot 10^3$	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(6,61\pm 0,05)+(9,39\pm 0,08)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,997$	$(1,22\pm 0,03)\cdot 10^4$
26 – метиловый эфир галловой кислоты	$2,3\cdot 10^3$	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(6,79\pm 0,06)+(10,63\pm 0,11)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,998$	$(4,15\pm 0,21)\cdot 10^4$
27 – этиловый эфир галловой кислоты	$2,9\cdot 10^3$	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(6,90\pm 0,07)+(10,65\pm 0,11)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,998$	$(4,23\pm 0,21)\cdot 10^4$
28 – флороглюцинкарбоновая кислота	8,3	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(1,46\pm 0,05)+(6,54\pm 0,21)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,995$	$(6,9\pm 0,3)\cdot 10^2$
<i>Гидроксикоричные кислоты</i>			
36 – о-кумаровая кислота	14,9	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(1,99\pm 0,03)+(7,4\pm 0,3)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,997$	$(1,28\pm 0,03)\cdot 10^3$
37 – м-кумаровая кислота	17,4	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(2,22\pm 0,05)+(6,36\pm 0,21)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,997$	$(5,8\pm 0,3)\cdot 10^2$
38 – п-кумаровая кислота	15,5	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(2,12\pm 0,06)+(6,21\pm 0,21)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,996$	$(5,1\pm 0,3)\cdot 10^2$
39 – кофейная кислота	$1,2\cdot 10^3$	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(6,18\pm 0,04)+(9,47\pm 0,08)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,998$	$(1,3\pm 0,03)\cdot 10^4$
40 – феруловая кислота	$1\cdot 10^3$	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(5,99\pm 0,04)+(9,26\pm 0,08)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,998$	$(1,1\pm 0,03)\cdot 10^4$
41 – синаповая кислота	$8,3\cdot 10^2$	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(5,75\pm 0,04)+(9,64\pm 0,08)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,997$	$(1,5\pm 0,03)\cdot 10^4$
<i>Флавоноиды и их гликозиды</i>			
<i>Флаванолы-3 (катехины)</i>			
42 – катехин	27	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(2,69\pm 0,06)+(6,01\pm 0,23)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,997$	$(4,04\pm 0,21)\cdot 10^2$
43 – галлокатехин	31,7	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(2,79\pm 0,07)+(6,66\pm 0,23)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,996$	$(7,8\pm 0,4)\cdot 10^2$
<i>Флавонолы</i>			
44 – кемпферол	$1,3\cdot 10^2$	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(3,99\pm 0,21)+(8,41\pm 0,25)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,998$	$(4,5\pm 0,3)\cdot 10^3$
45 – кверцетин	$3,1\cdot 10^2$	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(4,88\pm 0,25)+(8,55\pm 0,23)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,997$	$(5,2\pm 0,3)\cdot 10^3$
46 – изорамнетин	$3,1\cdot 10^2$	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(4,84\pm 0,04)+(8,95\pm 0,08)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,998$	$(7,7\pm 0,4)\cdot 10^3$
47 – морин	$7,2\cdot 10^2$	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(5,51\pm 0,04)+(10,82\pm 0,07)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,997$	$(5,0\pm 0,3)\cdot 10^4$
48 – мирицетин	$3,5\cdot 10^2$	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(4,94\pm 0,03)+(9,21\pm 0,12)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,997$	$(1,01\pm 0,05)\cdot 10^4$
49 – кверцитрин (3-рамнозид кверцетина)	$3\cdot 10^2$	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(4,82\pm 0,04)+(8,82\pm 0,08)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,996$	$(6,8\pm 0,4)\cdot 10^3$
50 – рутин (3-глюкорамнозид кверцетина)	$2,8\cdot 10^2$	$\ln k_{\text{dmsso-water}}=(4,74\pm 0,04)+(8,78\pm 0,08)\cdot(1-W_{\text{dmsso}})$, $r = 0,998$	$(6,5\pm 0,4)\cdot 10^3$

явно увеличивается. То есть, влияние специфической сольватации (водородоакцепторных свойств воды [7], приводящих к усилению диссоциации веществ) на антирадикальную активность PhOH доминирует над неспецифической сольватацией – диэлектрической проницаемостью среды.

Естественно, что исследование активности PhOH в реакции с DPPH• в области низкого содержания воды (табл. 2.2.2) не позволяет объективно оценить роль ее ионизирующей способности. Но, поскольку было установлено, что величина $k_{\text{dmsso-water}}$ линейно зависит от объемной доли воды (W_{dmsso}), вводимой в реакционную смесь (табл. 2.2.2), то для решения этой проблемы использовали метод расчета величины k_{water} исследуемой реакции в чистом растворителе – воде на основе регрессионного анализа.

Таблица 2.2.2 – Значения констант скоростей $k_{\text{dmsso-water}}$ ($\text{л}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{с}^{-1}$) реакции DPPH• с фенолами группы гидроксибензолов, гидроксикоричных кислот и флавоноидов в смешанном растворителе диметилсульфоксид–вода с разным содержанием воды (в об.%)

Соединение	Содержание воды, об.%				
	2	4	6	8	10
1 – пирокатехин	$4,4\cdot 10^2$	$5,2\cdot 10^2$	$6,1\cdot 10^2$	$7,2\cdot 10^2$	$8,5\cdot 10^2$
2 – резорцин	2,5	2,8	3,1	3,4	3,7
3 – орцин	3,8	4,2	4,7	5,3	5,9
4 – гидрохинон	$6,7\cdot 10^2$	$8,1\cdot 10^2$	$9,9\cdot 10^2$	$1,2\cdot 10^3$	$1,5\cdot 10^3$
5 – метиловый эфир гидрохинона	$7,6\cdot 10^2$	$9,2\cdot 10^2$	$1,1\cdot 10^3$	$1,4\cdot 10^3$	$1,7\cdot 10^3$
6 – пирогаллол	$1,2\cdot 10^3$	$1,4\cdot 10^3$	$1,7\cdot 10^3$	$2\cdot 10^3$	$2,3\cdot 10^3$
7 – флороглюцин	1,5	1,6	1,8	1,9	2,1
8 – оксигидрохинон	$8,7\cdot 10^2$	$1\cdot 10^3$	$1,3\cdot 10^3$	$1,5\cdot 10^3$	$1,8\cdot 10^3$
36 – о-кумаровая кислота	8,4	9,7	11,2	12,9	14,9
37 – м-кумаровая кислота	10,5	11,9	13,5	15,3	17,4
38 – п-кумаровая кислота	9,4	10,6	12,1	13,7	15,5
39 – кофейная кислота	$5,8\cdot 10^2$	$7,1\cdot 10^2$	$8,5\cdot 10^2$	$1\cdot 10^3$	$1,2\cdot 10^3$
40 – феруловая кислота	$4,8\cdot 10^2$	$5,8\cdot 10^2$	$7\cdot 10^2$	$8,5\cdot 10^2$	$1\cdot 10^3$
41 – синаповая кислота	$3,8\cdot 10^2$	$4,6\cdot 10^2$	$5,6\cdot 10^2$	$6,8\cdot 10^2$	$8,3\cdot 10^2$
42 – катехин	16,7	18,8	21,2	23,9	27
43 – галлокатехин	18,6	21,3	24,3	27,8	31,7
44 – кемпферол	64,3	76	90	$1,1\cdot 10^2$	$1,3\cdot 10^2$
45 – кверцетин	$1,6\cdot 10^2$	$1,9\cdot 10^2$	$2,2\cdot 10^2$	$2,6\cdot 10^2$	$3,1\cdot 10^2$
46 – изорамнетин	$1,5\cdot 10^2$	$1,8\cdot 10^2$	$2,2\cdot 10^2$	$2,6\cdot 10^2$	$3,1\cdot 10^2$
47 – морин	$3\cdot 10^2$	$3,8\cdot 10^2$	$4,7\cdot 10^2$	$5,8\cdot 10^2$	$7,2\cdot 10^2$
48 – мирицетин	$1,7\cdot 10^2$	$2\cdot 10^2$	$2,4\cdot 10^2$	$2,9\cdot 10^2$	$3,5\cdot 10^2$
49 – кверцитрин (3-рамнозид кверцетина)	$1,5\cdot 10^2$	$1,8\cdot 10^2$	$2,1\cdot 10^2$	$2,5\cdot 10^2$	$3\cdot 10^2$
50 – рутин (3-глюкорамнозид кверцетина)	$1,4\cdot 10^2$	$1,6\cdot 10^2$	$1,9\cdot 10^2$	$2,3\cdot 10^2$	$2,8\cdot 10^2$

Если механизм реакции в двух растворителях имеет одинаковую стехиометрию, то константа скорости реакции в смеси зависит от доли более полярного растворителя [8, 9] и может быть связана с соответствующими константами в индивидуальных растворителях следующим соотношением [10]:

$$\ln k_{\text{dmsо-water}} = \ln k_{\text{dmsо}} \cdot W_{\text{dmsо}} + \ln k_{\text{water}} \cdot (1 - W_{\text{dmsо}}), \quad (2.2.1)$$

где $W_{\text{dmsо}}$, $(1 - W_{\text{dmsо}})$ – доля диметилсульфоксида и воды в смешанном растворителе соответственно.

По полученным в координатах уравнения (2.2.1) зависимостям (рис. 2.2.3) были рассчитаны константы скорости реакции k_{water} из углового параметра линейной регрессии (табл. 2.2.1).

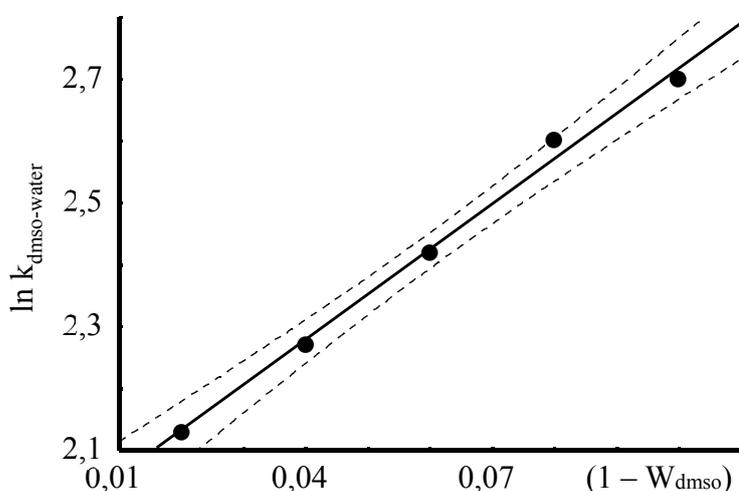
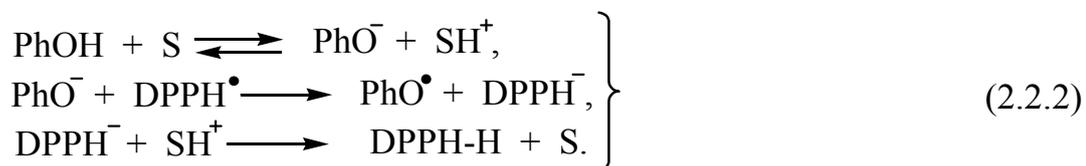


Рис. 2.2.3 – График линейной регрессионной зависимости $\ln k_{\text{dmsо-water}}$ от $(1 - W_{\text{dmsо}})$ для о-кумаровой кислоты (табл. 2.2.1, соединение **36**)

По расчетным величинам k_{water} видно (таблица 2.2.1), что в чистой воде нет неактивных АО, поскольку даже самые низкие k_{water} для флороглюцина и γ -резорциловой кислоты составляют 41 и $65 \text{ л}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{с}^{-1}$, что соответствует уровню сильных антиоксидантов в бензоле (табл. 1.1.2). По-видимому, добавки воды сильно активируют реакционные центры фенольных соединений, понижая селективность О–Н групп по отношению к гидразильному радикалу. Так, обращает на себя внимание тот факт, что нет сильного различия (до одного порядка) в АРА между о- и м- фенолами (например, пирокатехин и резорцин), в то время как в бензоле разница между ними достигала несколько порядков.

Больше всего активных соединений среди карбоксилсодержащих фенолов **23**, **24**, **26** и **27** с выраженными кислотными свойствами. Собственно фенолы типа гидроксибензолов и флавоноидов в воде проявили себя в основном как умеренные АО, за исключением гидрохинона и его этилового эфира, а также флавонолов – морины и мирицетина.

Расчет АРА в чистой воде показал, что константы скоростей в водной среде много выше, чем в этаноле, что, вероятно, связано не только с реализацией быстрого механизма SPLET (2.2.2), но и с изменением качественного и количественного состава ионизированных форм антиоксиданта в скоростьопределяющей стадии переноса электрона.



На наш взгляд «ускоряющая» функция воды обусловлена не столько изменением полярности среды, сколько влиянием на процесс специфической сольватации реагирующих частиц за счет их выраженного донорно-акцепторного взаимодействия (образования водородной связи). А именно, при переходе от dmsо к water увеличивается степень сольватации фенолят-ионов, что должно способствовать усилению процесса диссоциации фенолов, росту концентрации ионов и изменению состава их ионизированных форм, образующихся на глубоких стадиях диссоциации.

Как и в этаноле (рис. 2.1.3), участие в лимитирующей стадии переноса электрона ионизированных форм антиоксидантов подтверждается влиянием добавки солянокислого буфера на кинетику исследуемой реакции в смешанном растворителе dmsо–water. Замена воды в смеси на солянокислый буфер (рис. 2.2.4) приводит к резкому уменьшению скорости дезактивации гидразильного радикала фенолами, вследствие подавления степени их диссоциации и снижения концентрации активных форм фенолят-ионов.

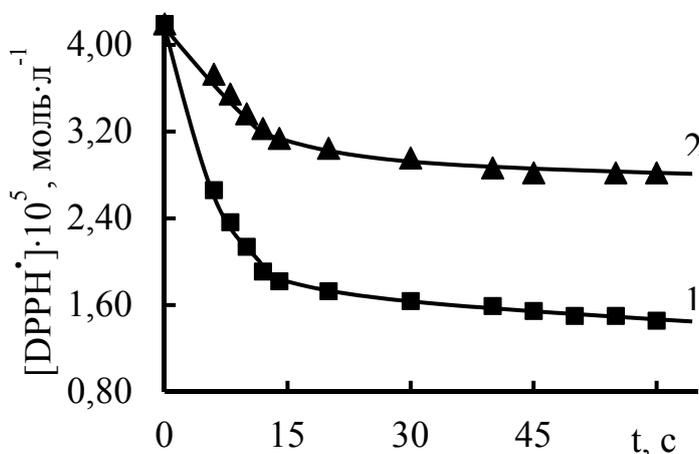


Рис. 2.2.4 – Кинетика расходования DPPH^\bullet в реакции с пирагаллолом ($C=4,2 \cdot 10^{-5}$ моль · л⁻¹) в смеси dmsо–water (90:10 об.%) (1) и dmsо–солянокислый буфер с рН=1,5 (90:10 об.%) (2). $T=293 \pm 2$ К

Варьирование степени диссоциации фенолов приводит к изменению состава и концентрации их ионизированных форм, что в условиях протекания механизма SPLET безусловно влияет на АРА вещества. Полуэмпирическим методом QSPR в программе Marvin 6.1.11 [11] было рассчитано (рис. 2.2.5) распределение ионных форм исследуемых соединений в зависимости от рН водной среды.

Видно, что для гидроксibenзолов (рис. 2.2.5) и фенолкарбоновых кислот (рис. 2.2.6) в области нейтральных сред можно ожидать наличие только активных моноионных форм фенолятов, образующихся в разных положениях ароматического цикла. Их доля в нейтральных средах мала (до 3–4 %), но с учетом низких рабочих концентраций фенолов (порядка 10^{-5} моль·л⁻¹) при проведении эксперимента можно предположить, что диссоциация по первой фенольной группе будет завершена полностью.

Исключение составляют флавоноиды (рис. 2.2.7), которые при рН=7–7,5 могут значительно диссоциировать с образованием как моно- (кривая 2, 3), так и дионов (кривая 4, 5), причем ионизация по первой ступени превышает 50%.

Феноляты с большим зарядом для всех исследуемых соединений появляются только в области щелочных и сильнощелочных сред, а значит учитывать влияние таких ионов в наших исследованиях, когда константы скорости рассчитывались для чистого растворителя – воды, не стоит.

Подкисление растворов (даже незначительное до рН=5–6) приводит к полному подавлению диссоциации по фенольным группам и, как следует из расчетов (рис. 2.2.5–2.2.7), в системе остаются менее активные молекулы гидроксibenзолов, флавоноидов или карбоксилат-ионы фенольных кислот.

2.2.2 Роль константы диссоциации фенольных соединений

В водной среде антирадикальная активность природных фенолов должна определяться как константой диссоциации молекул фенолов, так и потенциалом ионизации образующихся фенолят-ионов, концентрация которых максимальна в области исследуемых рН среды. Расчет этих параметров проводился как указано в п. 2.1.2.

Полученные результаты приведены в таблице 2.2.3. Видно, что величины адиабатических потенциалов ионизации фенолят-ионов $P_{\text{PhO}^{-(2-)}(water)}$ несколько увеличиваются (приблизительно на 5–9 кДж·моль⁻¹) при переходе от менее ионизирующего растворителя – этанола к более ионизирующему – воде, но при этом экспериментально определенная

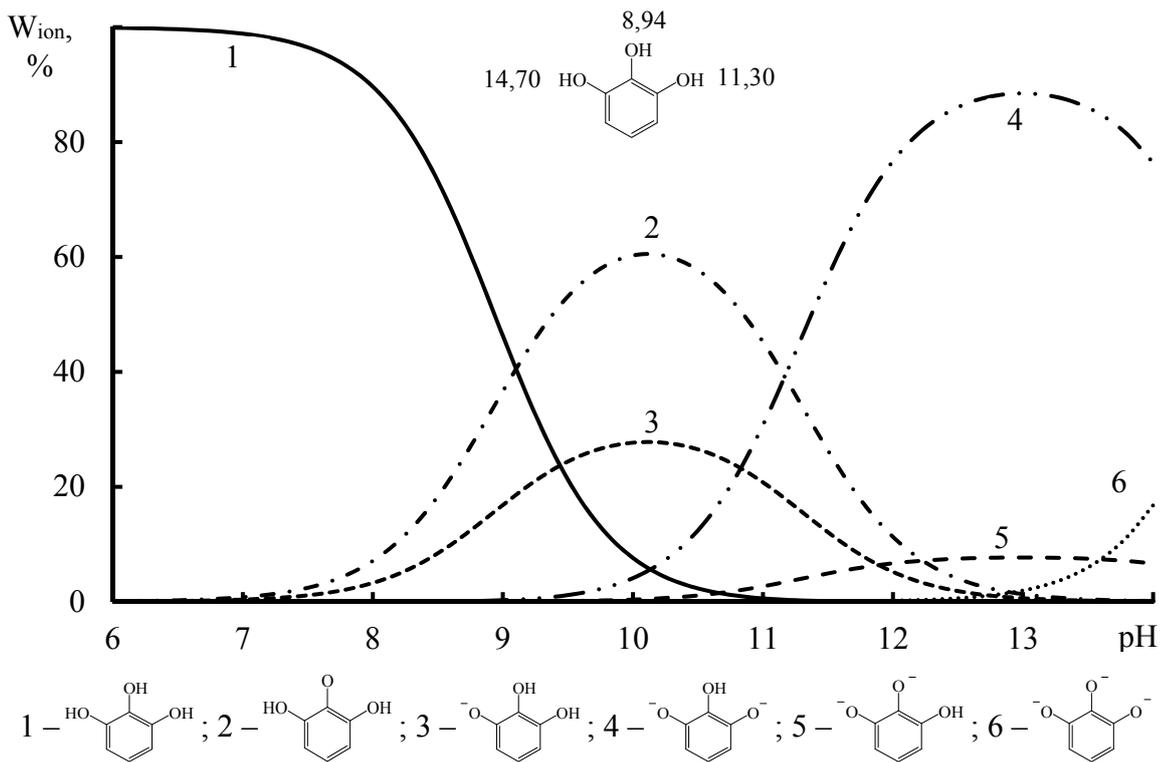


Рис. 2.2.5 – Распределение доли ионных форм (W_{ion}) пирогаллола в зависимости от pH среды, расчет в программе Marvin 6.1.11, $T = 298\text{ K}$.

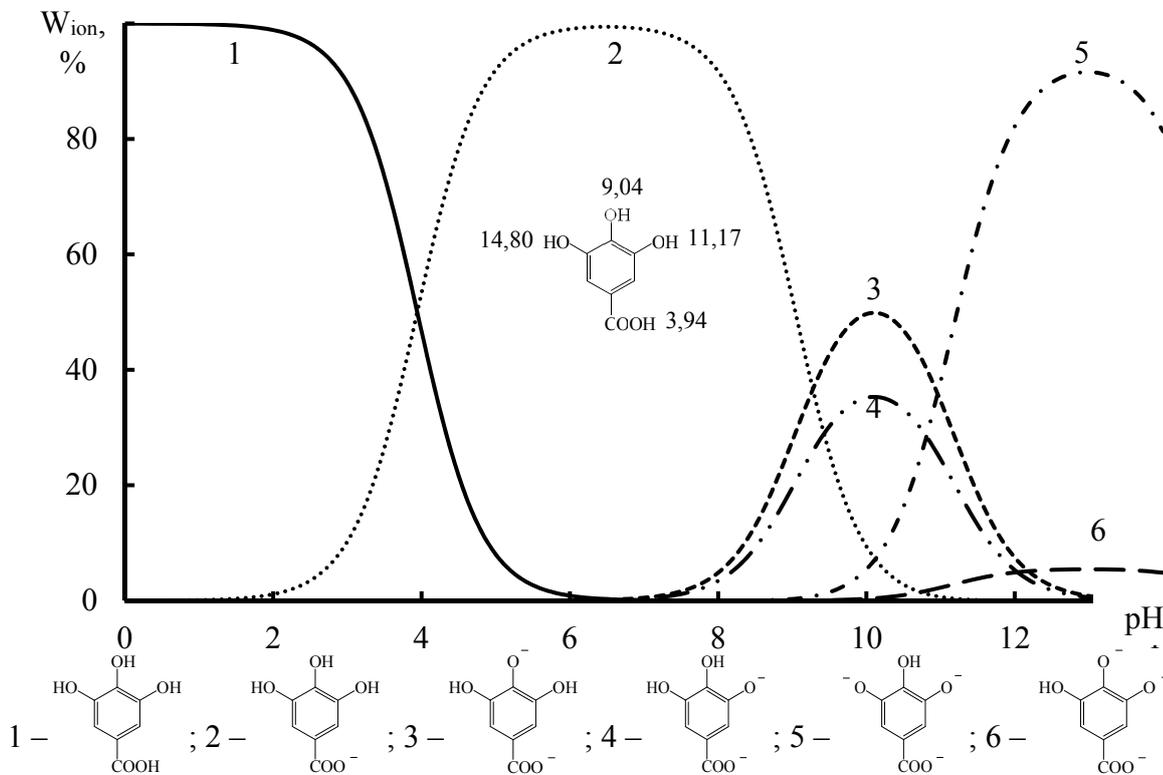


Рис. 2.2.6 – Распределение доли ионных форм (W_{ion}) галловой кислоты в зависимости от pH среды, расчет в программе Marvin 6.1.11, $T = 298\text{ K}$.

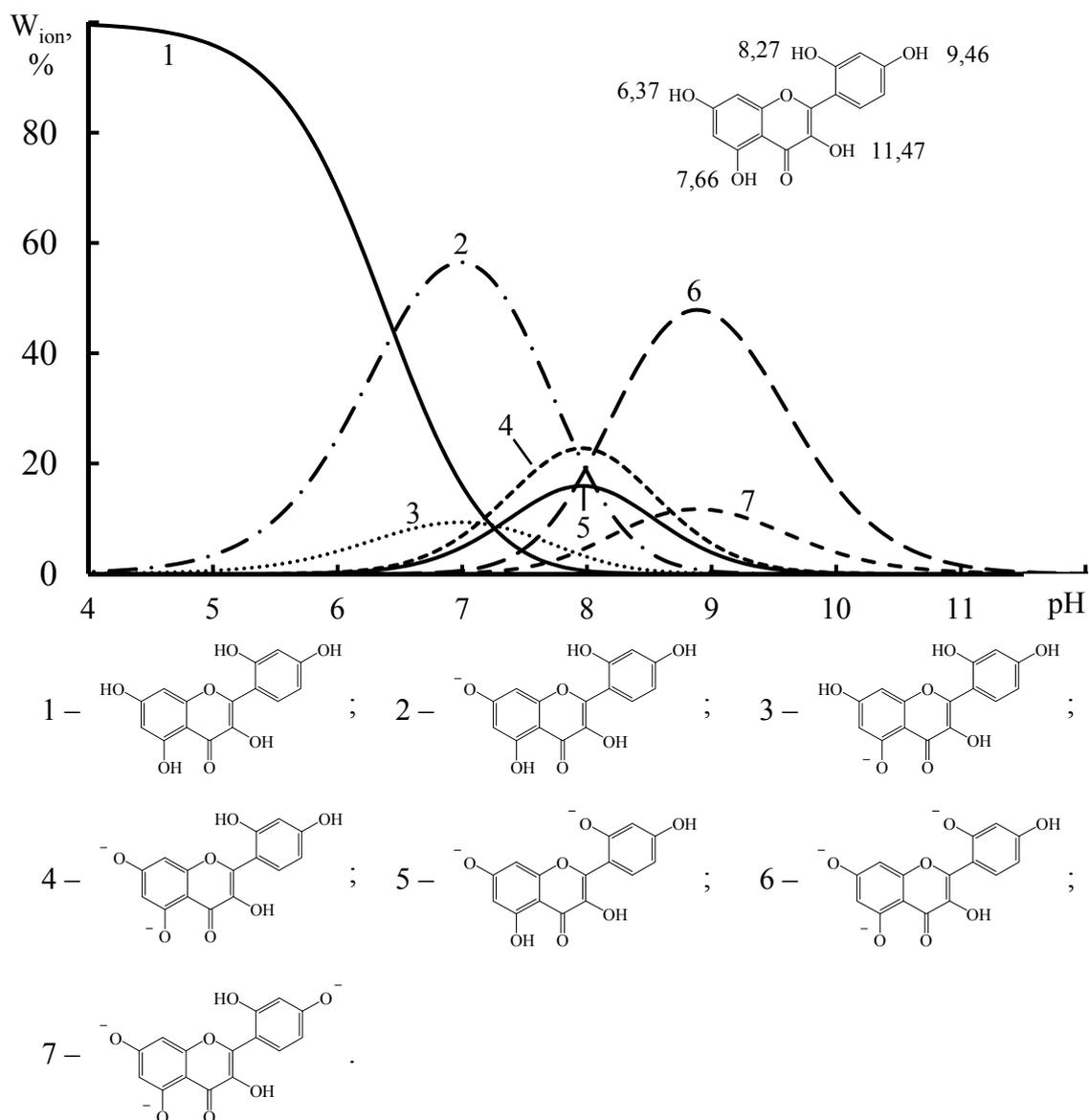


Рис. 2.2.7 – Распределение некоторых ионных форм морина в зависимости от рН среды, расчет в программе Marvin 6.1.11, T = 298 К.

Таблица 2.2.3 – Расчетные величины pK_a и потенциалов ионизации молекул природных фенолов ($PI_{PhOH(water)}$), а также соответствующих фенолят-ионов ($PI_{PhO^{-(2-)}(water)}$), образующихся по I или II ступени диссоциации. B3LYP/6-311++G(d,p), среда – вода, модель PCM/UFF

Соединение	Положение О–Н группы*	pK_a	$PI_{PhO^{-(2-)}(water)}$, кДж·моль ⁻¹	$PI_{PhOH(water)}$, кДж·моль ⁻¹
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
Гидроксibenзолы				
1 – пирокатехин	1	9,34	414	576
2 – резорцин	1	9,26	435	587
3 – орцин	1	9,39	432	582
4 – гидрохинон	1	9,68	400	554
5 – метиловый эфир гидрохинона	1	9,75	397	545
6 – пирогаллол	2	8,94	413	574
7 – флороглюцин	1	9,13	440	589
8 – оксигидрохинон	2	9,39	410	541
Гидроксibenзойные кислоты				
<i>Моногидроксibenзойные кислоты</i>				
9 – салициловая кислота	2	13,23	431	588
10 – 3-метилсалициловая кислота	2	13,89	429	586
11 – метиловый эфир 3-метилсалициловой кислоты	2	10,10	428	585
12 – 3-гидроксibenзойная кислота	3	9,55	423	580
13 – 4-гидроксibenзойная кислота	4	9,67	420	577
14 – этиловый эфир 4-гидроксibenзойной кислоты	4	8,50	419	576
<i>Дигидроксibenзойные кислоты</i>				
15 – пирокатеховая кислота	3	9,64	410	558
16 – β-резорциловая кислота	4	9,81	426	574
17 – метиловый эфир β-резорциловой кислоты	4	8,58	424	572
18 – гентизиновая кислота	5	10,02	403	550
19 – γ-резорциловая кислота	2	13,26	438	588
20 – протокатеховая кислота	3	9,40	405	556
21 – α-резорциловая кислота	3	9,29	434	581
22 – ванилиновая кислота	4	10,14	435	580
<i>Тригидроксibenзойные кислоты</i>				
23 – 3-пирогаллолкарбоновая кислота	3	9,06	392	553
24 – галловая кислота	4	9,04	397	554
25 – сиреневая кислота	4	9,55	408	565
26 – метиловый эфир галловой кислоты	4	8,11	396	553
27 – этиловый эфир галловой кислоты	4	8,11	395	552
28 – флороглюцинкарбоновая кислота	4	9,94	425	576

1	2	3	4	5
Гидроксикоричные кислоты				
36 – о-кумаровая кислота	2	9,35	420	578
37 – м-кумаровая кислота	3	9,43	418	576
38 – п-кумаровая кислота	4	9,52	419	577
39 – кофейная кислота	3	9,27	403	578
40 – феруловая кислота	4	9,98	402	559
41 – синаповая кислота	4	9,41	407	558
Флавоноиды и их гликозиды				
<i>Флаванолы-3 (катехины)</i>				
42 – катехин	3'	9,00	421	571
43 – галлокатехин	4'	8,73	418	569
<i>Флавонолы</i>				
44 – кемпферол	7	7,86	407	564
45 – кверцетин	7	6,40	405	562
46 – изорамнетин	7	6,90	407	564
47 – морин	7	6,37	394	554
48 – мирицетин	7	6,37	402	559
49 – кверцитрин (3-рамнозид кверцетина)	7	6,37	403	560
50 – рутин (3-глюкорамнозид кверцетина)	7	6,37	404	557

Примечание: * – положение О–Н группы в молекуле фенола, по которой образуется фенолят-ион при диссоциации по I (для гидроксibenзолов и флавоноидов) или II (для гидроксibenзойных и гидроксикоричных кислот) ступени.

константа скорости реакции PhOH с DPPH[•] возрастает. С учетом того, что в воде реализуется механизм SPLET (2.2.2), такая тенденция может объясняться участием в реакции с радикалом разных форм фенолят-ионов, образование которых было подтверждено расчетами в программе Marvin 6.1.11 (рис. 2.2.5–2.2.7). Для моноионных форм фенолов PhO⁻⁽²⁻⁾ наблюдается выраженная зависимость между ln k_{water} и PI_{PhO⁻⁽²⁻⁾(water)} (рис. 2.2.8), причем с большим коэффициентом корреляции (уравнение 2.2.3, r=0,971), чем в этаноле (уравнение 2.1.6, r=0,940) :

$$\ln k_{\text{water}} = (69,3 \pm 2,4) - (14,9 \pm 0,6) \cdot 10^{-2} \text{PI}_{\text{PhO}^{-(2-)}(\text{water})},$$

$$n = 43; r = 0,971; r^2 = 0,943; F = 681; p < 0,0000; S_{\text{est}} = 0,5. \quad (2.2.3)$$

Наличие такой корреляции для ионов, доля которых в системе максимальна при нейтральных pH и температуре 298 К (рис. 2.2.5–2.2.7), свидетельствует об определенном вкладе в АРА (lnk_{water}) фенолов в водной среде величины их рK_a по I или II ступеням (табл. 2.2.3). Однако проведенный

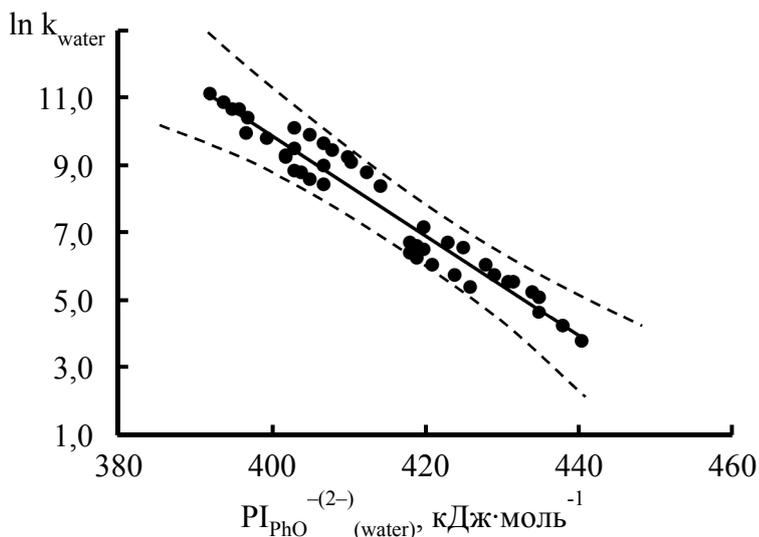


Рис. 2.2.8 – Однофакторная линейная регрессионная зависимость $\ln k_{\text{water}}$ от $PI_{\text{PhO}^{-(2-)}(\text{water})}$

однофакторный линейный регрессионный анализ показал слабую обратно пропорциональную зависимость между этими величинами ($r = 0,500$). Попытка же ввести pK_a как вторую независимую переменную в уравнение 2.2.3 также не способствовала значительному повышению множественного коэффициента корреляции ($r = 0,974$) по сравнению с парным коэффициентом $r = 0,971$ уравнения 2.2.3.

Невыраженное влияние константы диссоциации на АРА фенолов может быть обусловлено тем, что значения pK_a рассчитаны для водных сред, а константы скоростей k_{water} были определены не непосредственно в воде (из-за крайне слабой растворимости $DPPH^{\bullet}$), а получены путем экстраполяции данных ($k_{\text{dmsso-water}}$), измеренных в смеси диметилсульфоксид–вода. По-видимому, для подобных смесей не стоит ожидать выраженной зависимости АРА фенолов от их констант диссоциации, если только величины K_a не были определены специально в исследуемой среде. В данном случае, на наш взгляд, основная роль константы диссоциации PhOH заключается в определении фенолят-иона, концентрация которого максимальна в реакционной смеси, тогда потенциал ионизации такого иона будет определять скорость переноса электрона в лимитирующей стадии механизма SPLET (уравнение 2.2.2), а значит и АРА фенола в целом, что и подтверждается установленной регрессионной зависимостью (рис. 2.2.8).

В общем, для смешанных растворителей на водной основе в реакции природных фенолов с $DPPH^{\bullet}$ высокая реакционная способность характерна для соединений с небольшими значениями pK_a , которые способны диссоциировать с образованием фенолят-ионов с низкими потенциалами ионизации, такие как 3-пирогаллолкарбоновая кислота, галловая кислота и ее эфиры, морин (табл. 2.2.1, 2.2.3).

Что касается влияния на АРА фенолов потенциала ионизации молекул фенолов (табл. 2.2.3) с точки зрения реализации конкурирующего механизма ЕТ–РТ, то корреляция в этом случае закономерно ухудшается в ряду диметилсульфоксид (уравнение 1.2.5, $r=0,971$) > этанол (уравнение 2.1.5, $r=0,888$) > вода (уравнение 2.2.4, $r=0,870$), что может свидетельствовать об уменьшении вклада механизма ЕТ–РТ в определение АРА фенолов с ростом ионизирующей способности среды.

$$\ln k_{\text{water}} = (86 \pm 7) - (13,8 \pm 1,2) \cdot 10^{-2} \text{PI}_{\text{PhOH}(\text{water})},$$

$$n = 43; r = 0,870; r^2 = 0,757; F = 130; p < 0,0000; S_{\text{est}} = 1. \quad (2.2.4)$$

Таким образом, в водно-апротонной и водной среде реакция PhOH с DPPH• будет протекать по механизму SPLET с лимитирующей стадией переноса электрона от образующегося фенолят-иона. Вода как сильноионизирующий растворитель (даже по сравнению со спиртом) может способствовать образованию разных ионных форм фенолятов и снижению селективности фенольных групп в реакции с DPPH•, что приводит к резкому усилению антирадикальной активности фенолов до $k_{\text{water}}=10^4 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$. При этом шкала оценивания реакционной способности антиоксидантов будет сильно отличаться от таковой в неводных растворителях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kinetic solvent effects on the reaction between flavonoid naringenin and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical in different aqueous solutions of ethanol: An experimental and theoretical study / M. Jabbari [et al.] // *Journal of Molecular Liquids*. – 2014. – Vol. 96. – P. 381–391.
2. Белая, Н. И. Кинетика реакций моно- и дигидроксibenзойных кислот с азотцентрированными радикалами в системе вода–диметилсульфоксид / Н. И. Белая, А. В. Белый // *Украинский химический журнал*. – 2013. – Т. 79, № 6. – С. 122–126.
3. Белая, Н. И. Реакции незамещенных оксибензолов с 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом в системе вода–апротонный растворитель / Н. И. Белая, А. В. Белый, А. И. Пащенко // *Журнал общей химии*. – 2012. – Т. 82, Вып. 5. – С. 77–78.
4. Reactivity of dpph• in the oxidation of catechol and catechin / W.-L. Chen [et al.] // *International Journal of Chemical Kinetics*. – 2011. – Vol. 43, Issue 3. – P. 147–153.

5. Musialik, M. Scavenging of dpph^{*} Radicals by Vitamin E Is Accelerated by Its Partial Ionization: the Role of Sequential Proton Loss Electron Transfer / M. Musialik, G. Litwinienko // *Org. Lett.* – 2005. – Vol. 7, № 22. – P. 4951–4954.

6. Волков, В.А. Физико-химические закономерности взаимодействия 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила с антиоксидантами растительного происхождения : автореф. дис. ... канд. хим. Наук / Волков Владимир Анатольевич ; Тверской государственный университет. – Тверь, 2010. – 20 с.

7. Москва, В. В. Растворители в органической химии / В. В. Москва // *Соровский образовательный журнал.* – 1999. – № 4. – С. 44–50.

8. Пальм, В. А. Основы количественной теории органических реакций / В. А. Пальм. – Л. : Химия, 1977. – 360 с.

9. Фиалков, Ю. Я., Житомирский, А. Н., Тарасенко Ю. А. Физическая химия неводных растворов / Ю. Я. Фиалков, А. Н. Житомирский, Ю. А. Тарасенко. – Л. : Химия, 1973. – 376 с.

10. Эмануэль, Н. М. Цепные реакции окисления углеводов в жидкой фазе / Н. М. Эмануэль, Е. Т. Денисов, З. К. Майзус. – М. : Наука, 1965. – 270 с.

11. ChemAxon – Software for Chemistry and Biology [электронный ресурс]. – Сайт. – Режим доступа : <http://www.chemaxon.com>. – Дата обращения : 27.08.2017.

Глава 3

Прогнозирование антирадикальной активности фенольных соединений

3.1. Систематизированный массив кинетической информации

В этом разделе подведены итоги обсуждения кинетической информации о реакциях PhOH с DPPH[•] в разных средах, позволяющих оценить антирадикальную активность природных соединений.

Как мы могли убедиться в главе 1 (раздел 1.1, 1.2) и 2 (раздел 2.1, 2.2), константы скорости в ряду однотипных реакций закономерно меняются при варьировании структуры реагентов или природы среды. При наличии достаточно большого объема экспериментальных данных, как правило, есть возможность описать зависимость «структура – реакционная способность» в виде одно- или двухфакторного корреляционного уравнения с известными коэффициентами. При этом становится возможным прогнозировать реакционную способность еще неизученных или не синтезированных соединений и оценивать тенденции в ее изменении. При прогнозировании нужно учитывать такие факторы:

- большой массив экспериментально измеренных констант скорости прежде всего для тех природных фенолов, которые реально используются или могут быть использованы исходя из их биологической активности и токсичности;
- возможность прогнозировать константы скорости реакции с еще не изученными радикалами.

В идеале при этом полностью отпадает необходимость проводить дальнейшие экспериментальные измерения, ограничиваясь чисто неэмпирическим расчетом химической структуры антиоксиданта и природой стабилизируемого материала.

Организованный определенным образом набор констант скорости однотипных реакций часто называют систематизированным рядом кинетической информации [1–4]. По мере накопления экспериментальных данных подобные ряды были сформированы в зависимости от природы реакционной среды (табл. 3.1.1).

Как видно, их совокупность представляет собой систематизированный массив кинетической информации. Такой массив не следует представлять себе как простое механическое соединение нескольких систематизированных

Таблица 3.1.1 – Экспериментальные значения констант скоростей (k , л·моль⁻¹·с⁻¹) реакции природных фенолов с радикалом DPPH^{*} в разных средах при T=293±2 К.

Соединение	k_{benz}	k_{dmso}	$k_{\text{dmso-water}}^b$	k_{et}	k_{water}
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>
Гидроксibenзолы					
1 – пирокатехин	36,2	$3,71 \cdot 10^2$	$8,5 \cdot 10^2$	$5,55 \cdot 10^2$	$4,28 \cdot 10^3$
2 – резорцин	$9 \cdot 10^{-4} a$	2,34	3,7	5,85	$1,04 \cdot 10^2$
3 – орцин	$5 \cdot 10^{-4} a$	3,4	5,9	10,2	$2,51 \cdot 10^2$
4 – гидрохинон	52,6	$5,52 \cdot 10^2$	$1,5 \cdot 10^3$	$1,65 \cdot 10^3$	$1,74 \cdot 10^4$
5 – метиловый эфир гидрохинона	60,3	$6,22 \cdot 10^2$	$1,7 \cdot 10^3$	$2,48 \cdot 10^3$	$2,01 \cdot 10^4$
6 – пирогаллол	65,2	$9,8 \cdot 10^2$	$2,3 \cdot 10^3$	$1,47 \cdot 10^3$	$6,2 \cdot 10^3$
7 – флороглюцин	$3 \cdot 10^{-4} a$	1,42	2,1	3,92	41,3
8 – оксигидрохинон	60,4	$7,3 \cdot 10^2$	$1,8 \cdot 10^3$	$2,19 \cdot 10^3$	$8,5 \cdot 10^3$
Гидроксibenзойные кислоты					
<i>Моногидроксibenзойные кислоты</i>					
9 – салициловая кислота	$2,2 \cdot 10^{-4} a$	1,42	2,6	22,5	$2,52 \cdot 10^2$
10 – 3-метилсалициловая кислота	$2,5 \cdot 10^{-4} a$	1,84	3,2	27	$3,11 \cdot 10^2$
11 – метиловый эфир 3-метилсалициловой кислоты	$3,4 \cdot 10^{-4} a$	2,21	4,1	33,1	$4,23 \cdot 10^2$
12 – 3-гидроксibenзойная кислота	$3,6 \cdot 10^{-4} a$	4,22	8,2	84	$7,9 \cdot 10^2$
13 – 4-гидроксibenзойная кислота	$4,3 \cdot 10^{-4} a$	2,7	5,2	54	$6,4 \cdot 10^2$
14 – этиловый эфир 4-гидроксibenзойной кислоты	$3,6 \cdot 10^{-4} a$	3,1	6,1	62	$7,2 \cdot 10^2$
<i>Дигидроксibenзойные кислоты</i>					
15 – пирокатеховая кислота	31,2	$2,4 \cdot 10^2$	$6 \cdot 10^2$	$9,6 \cdot 10^2$	$1,01 \cdot 10^4$
16 – β-резорциловая кислота	$2 \cdot 10^{-4} a$	4,32	7,3	17,2	$2,13 \cdot 10^2$
17 – метиловый эфир β-резорциловой кислоты	$1,8 \cdot 10^{-4} a$	5,24	9,2	20,8	$3,05 \cdot 10^2$
18 – гентизиновая кислота	45,4	$5,80 \cdot 10^2$	$1,6 \cdot 10^3$	$2,32 \cdot 10^3$	$2,42 \cdot 10^4$
19 – γ-резорциловая кислота	$4,3 \cdot 10^{-4} a$	1,12	1,7	4,43	65
20 – протокатеховая кислота	51,1	$5,11 \cdot 10^2$	$1,4 \cdot 10^3$	$2,04 \cdot 10^3$	$1,92 \cdot 10^4$
21 – α-резорциловая кислота	$3,4 \cdot 10^{-4} a$	3,5	5,9	14,1	$1,84 \cdot 10^2$
22 – ванилиновая кислота	$3,5 \cdot 10^{-4} a$	2,52	4,2	10,3	$1,63 \cdot 10^2$
<i>Тригидроксibenзойные кислоты</i>					
23 – 3-пирогаллолкарбоновая кислота	53,3	$9,9 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^3$	$2,96 \cdot 10^3$	$6,5 \cdot 10^4$

Окончание таблицы 3.1.1

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>
24 – галловая кислота	54,3	$8,5 \cdot 10^2$	$2,4 \cdot 10^3$	$2,53 \cdot 10^3$	$3,31 \cdot 10^4$
25 – сиреневая кислота	36,1	$7,5 \cdot 10^2$	$1,9 \cdot 10^3$	$1,49 \cdot 10^3$	$1,22 \cdot 10^4$
26 – метиловый эфир галловой кислоты	58,2	$8,9 \cdot 10^2$	$2,3 \cdot 10^3$	$2,66 \cdot 10^3$	$4,15 \cdot 10^4$
27 – этиловый эфир галловой кислоты	60,4	$9,9 \cdot 10^2$	$2,9 \cdot 10^3$	$2,97 \cdot 10^3$	$4,23 \cdot 10^4$
28 – флороглюцинкарбоновая кислота	$4,3 \cdot 10^{-4}$ ^a	4,32	8,3	12,9	$6,9 \cdot 10^2$
Гидроксикоричные кислоты					
36 – о-кумаровая кислота	$9,1 \cdot 10^{-4}$ ^a	7,3	14,9	$1,83 \cdot 10^2$	$1,28 \cdot 10^3$
37 – м-кумаровая кислота	$1,1 \cdot 10^{-3}$ ^a	9,2	17,4	$2,32 \cdot 10^2$	$5,8 \cdot 10^2$
38 – п-кумаровая кислота	$1,1 \cdot 10^{-3}$ ^a	8,3	15,5	$2,08 \cdot 10^2$	$5,1 \cdot 10^2$
39 – кофейная кислота	62,4	$4,84 \cdot 10^2$	$1,2 \cdot 10^3$	$2,42 \cdot 10^3$	$1,3 \cdot 10^4$
40 – феруловая кислота	30,2	$4,03 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^3$	$2,02 \cdot 10^3$	$1,1 \cdot 10^4$
41 – синаповая кислота	40,2	$3,15 \cdot 10^2$	$8,3 \cdot 10^2$	$1,58 \cdot 10^3$	$1,5 \cdot 10^4$
Флавоноиды и их гликозиды					
<i>Флаванолы-3 (катехины)</i>					
42 – катехин	$7,2 \cdot 10^{-4}$ ^a	14,8	27	59	$4,04 \cdot 10^2$
43 – галлокатехин	$1,1 \cdot 10^{-3}$ ^a	16,3	31,7	65	$7,8 \cdot 10^2$
<i>Флавонолы</i>					
44 – кемпферол	$1,3 \cdot 10^{-3}$ ^a	54,3	$1,3 \cdot 10^2$	$3,26 \cdot 10^2$	$4,5 \cdot 10^3$
45 – кверцетин	50,4	$1,32 \cdot 10^2$	$3,1 \cdot 10^2$	$7,9 \cdot 10^2$	$5,2 \cdot 10^3$
46 – изорамнетин	48,1	$1,24 \cdot 10^2$	$3,1 \cdot 10^2$	$7,6 \cdot 10^2$	$7,7 \cdot 10^3$
47 – морин	55,3	$2,45 \cdot 10^2$	$7,2 \cdot 10^2$	$1,47 \cdot 10^3$	$5,0 \cdot 10^4$
48 – мирицетин	49,4	$1,41 \cdot 10^2$	$3,5 \cdot 10^2$	$8,4 \cdot 10^2$	$1,01 \cdot 10^4$
49 – кверцитрин (3-рамнозид кверцетина)	46,5	$1,24 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^2$	$7,4 \cdot 10^2$	$6,8 \cdot 10^3$
50 – рутин (3-глюкорамнозид кверцетина)	44,2	$1,15 \cdot 10^2$	$2,8 \cdot 10^2$	$6,9 \cdot 10^2$	$6,5 \cdot 10^3$

Примечание: ^a – величины k_{benz} , рассчитаны при $T=293$ К по активационным параметрам реакции (см. табл. 1.1.2); ^b – константы скорости $k_{\text{dmsso-water}}$ определены в смеси dmsso–water (90:10 об. %)

рядов. Как показывает анализ (табл. 3.1.1), константы скорости реакций PhOH с DPPH[•] связаны между собой не только посредством изменения структуры фенола, но и за счет варьирования природы среды, где реализуются разные механизмы протекания реакции. В первую очередь, это относится к процессам в апротонных и протонфильных (протоноакцепторных) растворителях.

Так, если учесть, что в заданной среде реализуется определенный механизм исследуемой реакции, то отношение констант скорости реакции PhOH с DPPH[•] в разных средах будет считаться кинетическим эффектом растворителя (KSE), который можно интерпретировать как «ускоряющий фактор» реакции за счет изменения ее механизма (см. раздел 1.2, подраздел 1.2.1). Подобный подход был использован при исследовании влияния кинетического эффекта растворителя в зависимости от природы радикала в реакциях с некоторыми фенольными антиоксидантами [5].

В общем, для полученного массива кинетической информации наблюдаются (табл. 3.1.2) следующие закономерности:

- 1) для изученных природных фенолов (соединения **1–50**, табл. 1.1.1) величина $\frac{k_{\text{dmsO}}}{k_{\text{benz}}}$ изменяется в пределах от 3 до $4 \cdot 10^4$ при росте диэлектрической проницаемости апротонной среды от $\epsilon_{\text{benz}}=2,3$ до $\epsilon_{\text{dmsO}}=48,9$ [6, 7]. Поскольку природа фенольных антиоксидантов и радикала DPPH[•] не изменялись, то рост отношения констант объясняется сменой механизма реакции переноса атома водорода (НАТ/РСЕТ, см. раздел 1.1) на перенос электрона от молекулы АО на радикал с последующей потерей протона (ЕТ–РТ, см. раздел 1.2). Таким образом, повышение полярности среды и, соответственно, доминирование более быстрого механизма ЕТ–РТ увеличивает константу скорости реакции в диметилсульфоксиде по сравнению с бензолом приблизительно в 10^4 раз;
- 2) значения $\frac{k_{\text{water}}}{k_{\text{dmsO}}}$ изменяются от 6 до $2 \cdot 10^2$ с увеличением водородоакцепторной способности полярной среды (с $\beta^{\text{H}}_{(\text{dmsO})}=19,3$ до $\beta^{\text{H}}_{(\text{water})}=54,8$ [6]). Рост отношения констант объясняется сменой механизма реакции переноса электрона от молекулы фенола (ЕТ–РТ) в dmsO на механизм переноса электрона от фенолят-иона (SPLET) в water. В итоге, «ускоряющее» действие водородоакцепторной способности среды и, соответственно, более быстрого механизма SPLET по сравнению с ЕТ–РТ проявляется в увеличении констант скорости приблизительно в 10^2 раз;
- 3) величина $\frac{k_{\text{water}}}{k_{\text{benz}}}$ варьируется от 95 до $2 \cdot 10^6$ при росте как полярности (с $\epsilon_{\text{benz}}=2,3$ до $\epsilon_{\text{water}}=78,5$ [6, 7]), так и водородоакцепторной способности среды (с $\beta^{\text{H}}_{(\text{benz})}=8,2$ до $\beta^{\text{H}}_{(\text{water})}=54,8$ [6]). Такое выраженное увеличение

обусловлено сменой механизма реакции переноса атома Н от молекулы фенола НАТ/РСЕТ на механизм переноса электрона от фенолят-иона SPLET. Повышение в общем ионизирующей способности среды и, соответственно, доминирование более быстрого механизма SPLET над НАТ/РСЕТ способствует росту констант в воде, в отличие от бензола, приблизительно в 10^6 раз;

4) на основе анализа влияния кинетического эффекта растворителя на реакцию природных фенолов с DPPH• все предложенные механизмы по эффективности дезактивации гидразильного радикала можно расположить в следующем порядке: SPLET > ET–PT > НАТ/РСЕТ;

5) значения $\frac{k_{\text{dmsso-water}}}{k_{\text{dmsso}}}$ изменяются в 2–3 раза при повышении водородоакцепторной способности среды (соотношение dmsso:water 90:10 об.10%), диэлектрическая проницаемость которой практически не изменяется. Причиной может быть увеличение концентрации ионизированных форм фенолов, приводящее к росту констант скоростей за счет появления наравне с ET–PT конкурирующего более быстрого механизма SPLET ;

6) отношение $\frac{k_{\text{water}}}{k_{\text{et}}}$ изменяется от 4 до 24 раз при повышении водородоакцепторной способности полярной среды (с $\beta_{\text{(et)}}^{\text{H}} = 37,9$ до $\beta_{\text{(water)}}^{\text{H}} = 54,8$ [6]). В этом случае больший рост $\frac{k_{\text{water}}}{k_{\text{et}}}$ по сравнению с $\frac{k_{\text{dmsso-water}}}{k_{\text{dmsso}}}$ связан с увеличением количества моно- и дионов фенолов и, как следствие, с полным доминированием механизма SPLET в водных средах;

7) преобладание того или иного из указанных механизмов в исследуемой реакции зависит от природы реакционной среды – ее полярности и водородоакцепторных свойств, определяющих качественный и количественный состав молекулярной и ионных форм антиоксиданта.

Существование взаимной связи кинетических параметров различных реакций обусловлено взаимозависимостью их тепловых эффектов. По этой причине рассматриваемый массив должен включать, кроме кинетической информации, также термодимические данные – прочности связи, теплоты образования, равновесия, тепловые эффекты реакций.

В нашей работе термодимические характеристики были организованы в систематизированные ряды с помощью корреляционных уравнений 1.1.4, 1.2.5, 2.1.7 и 2.2.3. Установленные функциональные связи между константами скорости реакций в разных средах и термодимическими параметрами подтвердили «адекватность» полученного массива данных и дали возможность предложить предсказательную полуэмпирическую модель

Таблица 3.1.2 –Значения отношения констант скоростей $\left(\frac{k_{\text{растворитель 1}}}{k_{\text{растворитель 2}}}\right)$ реакции природных фенолов с радикалом DPPH* в разных средах при T=293±2 К.

Соединение	$\frac{k_{\text{dmso}}}{k_{\text{benz}}}$	$\frac{k_{\text{water}}}{k_{\text{dmso}}}$	$\frac{k_{\text{water}}}{k_{\text{benz}}}$	$\frac{k_{\text{dmso-water}}}{k_{\text{dmso}}}$	$\frac{k_{\text{water}}}{k_{\text{et}}}$
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>
Гидроксibenзолы					
1 – пирокатехин	10	12	1·10 ²	2	8
2 – резорцин	3·10 ³	43	1·10 ⁵	2	17
3 – орцин	7·10 ³	74	5·10 ⁵	2	25
4 – гидрохинон	10	32	3·10 ²	3	11
5 – метиловый эфир гидрохинона	11	32	3·10 ²	3	8
6 – пирогаллол	15	6	95	2	4
7 – флороглюцин	5·10 ³	30	1·10 ⁵	2	11
8 – оксигидрохинон	12	12	1·10 ²	2	4
Гидроксibenзойные кислоты					
<i>Моногидроксibenзойные кислоты</i>					
9 – салициловая кислота	7·10 ³	2·10 ²	1·10 ⁶	2	11
10 – 3-метилсалициловая кислота	7·10 ³	2·10 ²	1·10 ⁶	2	11
11 – метиловый эфир 3-метилсалициловой кислоты	7·10 ³	2·10 ²	1·10 ⁶	2	13
12 – 3-гидроксibenзойная кислота	1·10 ⁴	2·10 ²	2·10 ⁶	2	9
13 – 4-гидроксibenзойная кислота	6·10 ³	2·10 ²	2·10 ⁶	2	12
14 – этиловый эфир 4-гидроксibenзойной кислоты	9·10 ³	2·10 ²	2·10 ⁶	2	12
<i>Дигидроксibenзойные кислоты</i>					
15 – пирокатеховая кислота	8	42	3·10 ²	3	11
16 – β-резорциловая кислота	2·10 ⁴	49	1·10 ⁶	2	12
17 – метиловый эфир β-резорциловой кислоты	3·10 ⁴	59	2·10 ⁶	2	15
18 – гентизиновая кислота	13	41	5·10 ²	3	10
19 – γ-резорциловая кислота	3·10 ³	59	2·10 ⁵	2	15
20 – протокатеховая кислота	10	37	4·10 ²	3	9
21 – α-резорциловая кислота	1·10 ⁴	51	5·10 ⁵	2	13
22 – ванилиновая кислота	7·10 ³	64	5·10 ⁵	2	16

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>
<i>Тригидроксибензойные кислоты</i>					
23 – 3-пирогаллолкарбоновая кислота	19	66	$1 \cdot 10^3$	3	22
24 – галловая кислота	16	39	$6 \cdot 10^2$	3	13
25 – сиреневая кислота	21	16	$3 \cdot 10^2$	3	8
26 – метиловый эфир галловой кислоты	15	47	$7 \cdot 10^2$	3	16
27 – этиловый эфир галловой кислоты	16	42	$7 \cdot 10^2$	3	14
28 – флороглюцинкарбоновая кислота	$1 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^6$	2	53
<i>Гидроксикоричные кислоты</i>					
36 – о-кумаровая кислота	$8 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^6$	2	7
37 – м-кумаровая кислота	$8 \cdot 10^3$	63	$5 \cdot 10^5$	2	3
38 – п-кумаровая кислота	$7 \cdot 10^3$	60	$4 \cdot 10^5$	2	2
39 – кофейная кислота	8	27	$2 \cdot 10^2$	2	5
40 – феруловая кислота	13	26	$4 \cdot 10^2$	2	5
41 – синаповая кислота	8	49	$4 \cdot 10^2$	3	10
<i>Флавоноиды и их гликозиды</i>					
<i>Флаванолы-3 (катехины)</i>					
42 – катехин	$2 \cdot 10^4$	27	$6 \cdot 10^5$	2	7
43 – галлокатехин	$2 \cdot 10^4$	48	$7 \cdot 10^5$	2	12
<i>Флавонолы</i>					
44 – кемпферол	$4 \cdot 10^4$	83	$4 \cdot 10^6$	2	14
45 – кверцетин	3	39	$1 \cdot 10^2$	2	7
46 – изорамнетин	3	61	$2 \cdot 10^2$	2	10
47 – морин	4	$2 \cdot 10^2$	$9 \cdot 10^2$	3	34
48 – мирицетин	3	71	$2 \cdot 10^2$	3	12
49 – кверцитрин (3-рамнозид кверцетина)	3	55	$1 \cdot 10^2$	2	9
50 – рутин (3-глюкорамнозид кверцетина)	3	57	$1 \cdot 10^2$	2	9

скрининга антирадикальной активности природных фенолов на основе одно- и многопараметровых регрессионных уравнений взаимосвязи «кинетический параметр – структура вещества» (рис. 3.1.1).

В рамках такого подхода стратегия при составлении алгоритма скрининга была следующей:

1. В качестве объектов исследования были выбраны растительные фенольные соединения (PhOH) разных классов, включающие большие гомологические ряды. При квантово-химическом расчете структуры исследуемого незкранированного фенола природного происхождения необходимо проводить конформационный анализ для поиска оптимального конформера с учетом наличия внутримолекулярных водородных связей (см. подраздел 1.2.2). При написании монографии авторы исходили из того, что путь превращений фенолов в реакции с подавляющим большинством радикалов разной природы одинаков по конечным продуктам и стехиометрии реакции в общем. Отличия будут варьироваться в определенных пределах по частным механизмам и кинетическим характеристикам в зависимости от природы реакционной смеси. В то же время, различия в механизме действия антиоксидантов разных типов (фенолы, серо- и фосфорсодержащие соединения и др.) весьма велики, что не позволит в общем получить адекватную регрессионную зависимость параметра структуры антиоксиданта от его активности. Поэтому авторы при разработке предсказательной модели скрининга антирадикальной активности вещества отказались от традиционного рассмотрения двух и более типов антиоксидантов.
2. В качестве модельной реакции использовалась реакция с участием стабильного гидразильного радикала DPPH[•] как наиболее удобного радикального агента для отработки одноуровневой (по одной модельной реакции) предсказательной модели скрининга антирадикальной активности природных фенольных антиоксидантов, поскольку, во-первых, полученные результаты можно сравнить с многочисленными литературными данными и определиться с их точностью, а, во-вторых, несмотря на большой экспериментальный материал, представленный в ряде работ с радикалом DPPH[•] [8–10], количественная зависимость «структура – реакционная способность» не исследована. Природа растворителя варьировалась в широких пределах для приближения условий протекания реакции к биологическим объектам на липидной или водной основах.

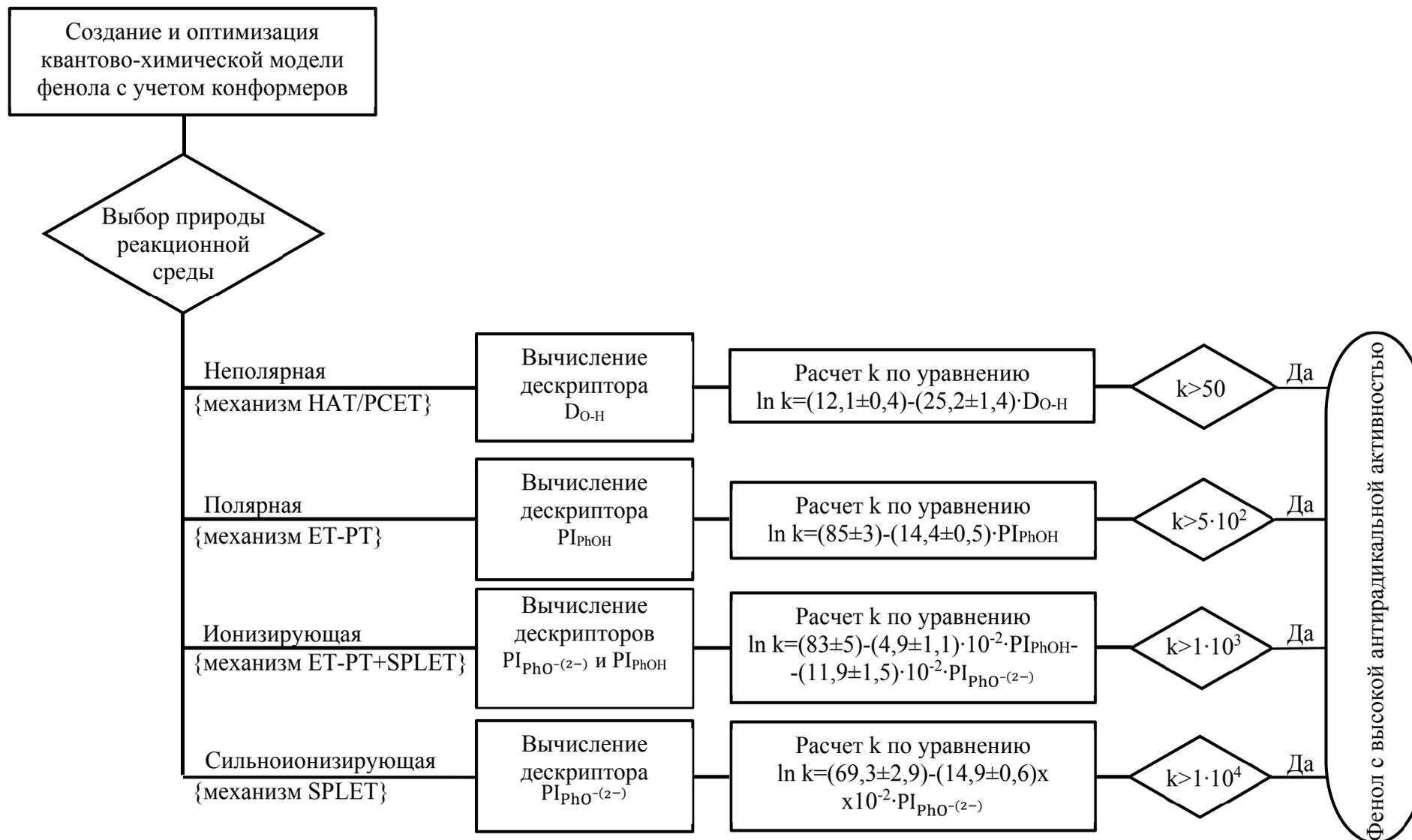


Рис. 3.1.1 – Алгоритм скрининга антирадикальной активности природных фенольных соединений в реакции с радикалом DPPH*

3. Для каждой среды протекания реакции PhOH с DPPH• устанавливался механизм действия антиоксиданта в зависимости от полярности и ионизирующей способности растворителя.
4. В зависимости от предложенного механизма устанавливался квантово-химический дескриптор, ответственный за скорость протекания лимитирующей стадии.
5. В качестве показателя реакционной способности антиоксиданта использовали константу скорости реакции PhOH с DPPH• как наиболее точный параметр, не зависящий от концентрации вещества и характеризующий непосредственно антирадикальную активность (АРА) природных фенолов, которая во многом определяет их биологическое действие [11].
6. На основе проведенного линейного регрессионного анализа предлагались одно- или многофакторные уравнения зависимости реакционной способности фенола от его структурного параметра, по которым рассчитывались величины антирадикальной активности вещества, позволяющие выбрать потенциальный эффективный ингибитор радикальных процессов.

При создании одноуровневой модели (на основании одной модельной реакции PhOH с DPPH•) была реализована логическая цепочка «природа реакционной смеси – механизм окислительных превращений – параметр структуры антиоксиданта (квантово-химический дескриптор) – его реакционная способность».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рогинский, В. А. Фенольные антиоксиданты. Реакционная способность и эффективность / В. А. Рогинский. – М. : Наука, 1988. – 247 с.
2. Денисов, Е. Т. Ингибирование цепных реакций / Е. Т. Денисов, В. В. Азатян. – Черноголовка : ИПХФ РАН, 1997. – 267 с.
3. Денисов, Е. Т. Константы скорости гомолитических жидкофазных реакций / Е. Т. Денисов. – М. : Наука, 1971. – 711 с.
4. Денисов, Е. Т. Реакционная способность природных фенолов / Е. Т. Денисов, Т. Г. Денисова // Успехи химии. – 2009. – Т. 78, № 11. – С. 1129–1159.
5. Kinetic Solvent Effects on Hydroxylic Hydrogen Atom Abstractions Are Independent of the Nature of the Abstracting Radical. Two Extreme Tests Using

Vitamin E and Phenol / L. Valgimigli [et al.] // J. Am. Chem. Soc. – 1995. – Vol. 117, № 40. – P. 9966–9971.

6. Москва, В. В. Растворители в органической химии / В. В. Москва // Соревновательный образовательный журнал. – 1999. – № 4. – С. 44–50.

7. Dean, J. A. Lange's handbook of chemistry : Fifteenth Edition / J. A. Dean. – New York : McGRAW-HILL, INC, 1999. – 1291 p.

8. Saito, S. DPPH[•] (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) Radical-Scavenging Reaction of Protocatechuic Acid (3, 4-Dihydroxybenzoic Acid): Difference in Reactivity between Acids and Their Esters / S. Saito, J. Kawabata // Helvetica chimica acta. – 2006. – Vol. 89, № 7. – P. 1395–1407.

9. Foti, M. C. Electron-transfer reaction of cinnamic acids and their methyl esters with the DPPH[•] radical in alcoholic solutions / M. C. Foti, C. Daquino // The Journal of organic chemistry. – 2004. – Vol. 69, № 7. – P. 2309–2314.

10. Villano, D. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH[•] free radical / D. Villano // Talanta. – 2007. – Vol. 71, № 1. – P. 230–235.

11. Бурлакова, Е. Б. Биоантиоксиданты / Е. Б. Бурлакова // Рос. хим. журн. – 2007. – Т. LI, № 1. – P. 3–12.

3.2. Предсказательная полуэмпирическая модель скрининга антирадикальной активности PhOH в реакции с DPPH[•]

Применимость предложенной (рис. 3.1.1) полуэмпирической модели скрининга антирадикальной активности природных фенолов в реакции DPPH[•], основанной на линейных уравнениях зависимости кинетического параметра от характеристик структуры АО, доказывалась путем исследования контрольной группы веществ по принципу «введено–получено» с расчетом абсолютной и относительной погрешности прогнозируемой константы скорости исследуемой реакции.

В качестве такой группы были использованы гидроксиацетофеноны как соединения (29–35, таблица 1.1.1), относящиеся к природным растительным фенолам (неэкранированным фенолам) [1, 2] и имеющие близкую с ними химическую структуру и одинаковый антирадикальный механизм действия.

Гидроксиацетофеноны редко встречаются в растительных тканях [3], но при этом используются при исследовании окислительно-восстановительных свойств флавоноидов [4], поскольку моделируют фрагменты молекулы флавонолов, которые формируют кольца А и С (см. табл. 1.1.1)

Согласно алгоритму (рис. 3.1.1), в неполярных средах квантово-химическим дескриптором, ответственным за протекание реакции, является энергия гомолитического разрыва (прочность) O–H связи (D_{O-H}).

По величинам $D_{O-H(benz)}$ оптимальных конформеров молекул гидроксиацетофенонов, рассчитанным как показано в параграфе 1.1.2, были спрогнозированы константы скорости $k_{benz(predict)}$ реакции АО с DPPH[•] по уравнению 1.1.4.

Видно (табл. 3.2.1), что если функциональная фенольная O–H группа расположена в орто- или пара-положении по отношению к другой гидроксигруппе, то прочность ее связи снижается (соединения 33, 34). Фенольная группа, расположенная в мета-положении по отношению к электроноакцепторной кетогруппе $>C=O$, также предрасположена к уменьшению прочности ее O–H связи (соединение 30).

Изменения в $D_{O-H(benz)}$ молекул приводят к соответствующим изменениям в их реакционной способности по отношению к гидразильному радикалу в неполярных средах.

Так, в группе гидроксиацетофенонов с ростом числа O–H групп в молекуле снижается величина $D_{O-H(benz)}$, а реакционная способность ($k_{benz(predict)}$) соединений 33–35 повышается.

Таблица 3.2.1 – Расчетные величины наименьших прочностей О–Н связей молекул гидроксиацетофенонов ($D_{O-H(benz)}$, кДж·моль⁻¹), а также экспериментальные ($k_{benz(exper)}$, л·моль⁻¹·с⁻¹) и прогнозируемые константы ($k_{benz(predict)}$, л·моль⁻¹·с⁻¹) скорости их реакции с радикалом DPPH·. Растворитель – бензол, T=293 К

Соединение	$D_{O-H(benz)}$	$k_{benz(predict)}^d$	$k_{benz(exper)}$	Δk , %	$\bar{\Delta}_k$, %
29 – 2-гидроксиацетофенон	347	28,7	27,1±1,4	5,8	7,5
30 – 3-гидроксиацетофенон	339	35,1	30,8±1,4	11,3	
31 – 4-гидроксиацетофенон	341	33,3	29,9±1,4	11,1	
32 – 2,4-дигидроксиацетофенон	341 ^a	33,3	31,1±1,4	7,2	
33 – 2,5-дигидроксиацетофенон	326 ^b	48,7	49,9±1,5	2,7	
34 – 3,4-дигидроксиацетофенон	320 ^c	56,6	58,1±2,2	2,8	
35 – 3-метокси-4-гидроксиацетофенон	345	30,1	27,2±1,5	11,6	

Примечание: ^{a, b, c} – величины прочностей связи О–Н группы, расположенной в положении 4, 5 и 3 ароматического цикла молекулы гидроксиацетофенона соответственно; ^d – значения $k_{benz(predict)}$ рассчитаны по уравнению 1.1.4.

В общем, по АРА гидроксиацетофеноны более реакционноспособны, чем соответствующие фенолкарбоновые кислоты, поскольку их кетогруппа является менее электроноакцепторной по сравнению с –COOH, что закономерно приводит к меньшим $D_{O-H(benz)}$, чем у фенольных кислот (табл. 1.1.6).

Согласно предложенной модели (рис. 3.1.1), величина константы $k_{benz(predict)}$ превышает или приблизительно равна 50 л·моль⁻¹·с⁻¹ только для 3,4- и 2,5-гидроксиацетофенонов, которые можно выбрать как потенциальные эффективные антиоксиданты, все остальные соединения по результатам скрининга должны проявлять умеренную или слабую антирадикальную активность.

Для проверки адекватности прогнозируемых $k_{benz(predict)}$ эти же величины были определены экспериментально ($k_{benz(exper)}$) в бензоле при T=293±2 К по величинам угловых коэффициентов линейных анаморфоз кинетических кривых расходования радикала (рис. 3.2.1а), построенных в координатах уравнения константы скорости реакции 2-го порядка (рис. 3.2.1б).

Установленная линейная зависимость (рис. 3.2.2а) между прогнозируемыми и эмпирическими константами имеет высокие значения коэффициента корреляции ($r=0,996$, уравнение 3.2.1) и критерия Фишера, что подтверждает [5] адекватность предложенного однофакторного уравнения 1.1.4 для прогнозирования АРА природных фенолов в неполярных средах.

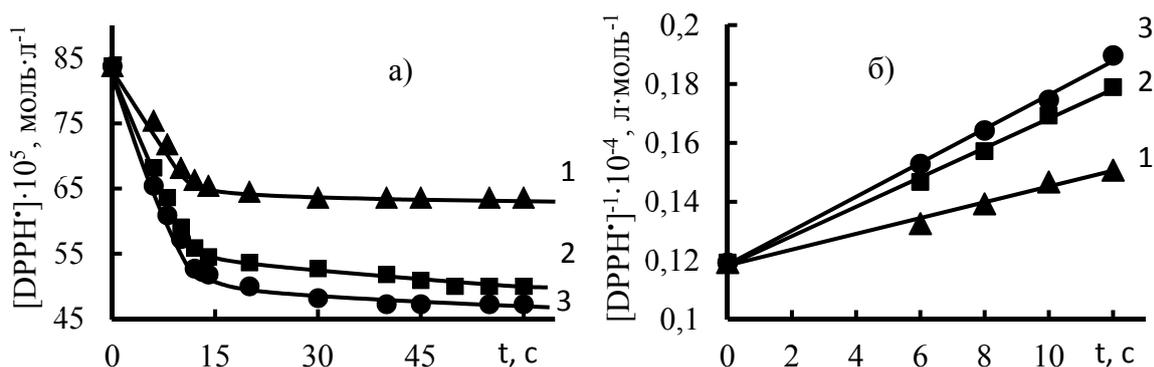


Рис. 3.2.1 – Кинетические кривые расходования DPPH· в реакции с гидроксиацетофенонами ($C=8,4 \cdot 10^{-4}$ моль·л⁻¹) (а) и их анаморфозы в координатах реакции второго порядка (б): 1 – 2-гидроксиацетофенон; 2 – 2,5-гидроксиацетофенон; 3 – 3,4-гидроксиацетофенон. Растворитель – бензол. $T=293 \pm 2$ К

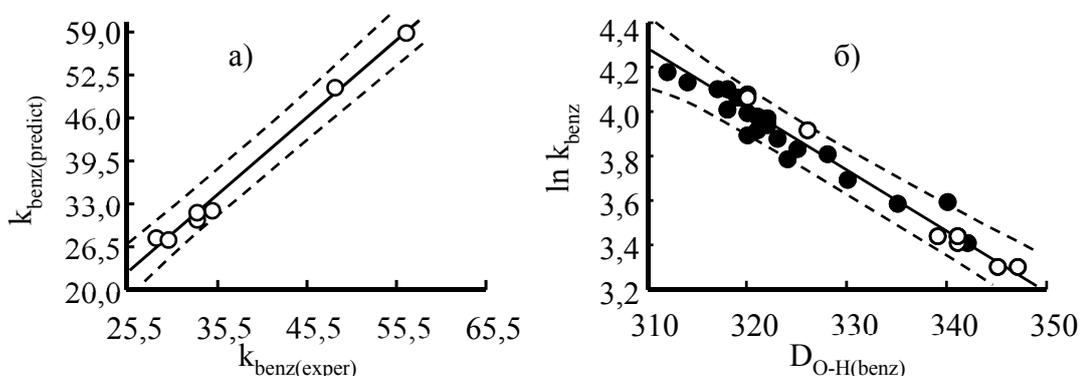


Рис. 3.2.2 – График однофакторной линейной регрессионной зависимости: а) $k_{\text{benz(predict)}}$ от $k_{\text{benz(exper)}}$ (в л·моль⁻¹·с⁻¹); б) $\ln k_{\text{benz}}$ от $D_{\text{O-H(benz)}}$ (в кДж·моль⁻¹) (○ – гидроксиацетофеноны)

$$k_{\text{benz(predict)}} = (7,4 \pm 1,2) + (0,84 \pm 0,3)k_{\text{benz(exper)}},$$

$$n = 7; \tilde{r} = 0,996; \tilde{r}^2 = 0,992; F = 663; p < 0,0000; S_{\text{est}} = 0,99. \quad (3.2.1)$$

Чтобы иметь более наглядное суждение о качестве предложенной модели из относительных отклонений для каждой константы ($\Delta_k = |k_{\text{benz(exper)}} - k_{\text{benz(predict)}}| / k_{\text{benz(exper)}} \cdot 100\%$) определяли среднюю ошибку аппроксимации ($\bar{\Delta}_k = 1/n \sum \Delta_k$), которая не должна превышать 8–10% [6].

Установлено (табл. 3.2.1), что единичные относительные отклонения предсказанных констант не превышают 12%, а средняя ошибка аппроксимации составляет 7,5%, что свидетельствует о хорошем подборе модели (уравнения 1.1.4).

Так как экспериментальные значения констант скорости реакции гидроксиацетофенонов с DPPH[•] в бензоле незначительно отклоняются от $k_{\text{benz(predict)}}$, то величины $k_{\text{benz(exper)}}$ были добавлены к общей зависимости 1.1.4 с $r=0,972$. По сравнению с этой зависимостью видно, что угловой и свободный параметры расширенной регрессии изменяются незначительно, коэффициент корреляции возрастает ($r=0,982$, уравнение 3.2.2), стандартная ошибка оценки предсказанных величин $S_{\text{est}} = 0,05$ не изменяется, все точки лежат в границах доверительного интервала (рис. 3.2.2б), а значит данные по гидроксиацетофенонам могут быть внесены в общее регрессионное уравнение, а объем выборки увеличен до 29 соединений.

$$\ln k_{\text{benz}} = (12,4 \pm 0,3) - (26 \pm 1) \cdot 10^{-3} D_{\text{O-H(benz)}},$$

$$n = 29; \tilde{r} = 0,982; \tilde{r}^2 = 0,965; F = 735; p < 0,0000; S_{\text{est}} = 0,05. \quad (3.2.2)$$

Дальнейшей скрининг веществ **29–35** в апротонной полярной среде показал наличие высокой АРА только у 2,5-гидроксиацетофенона, прогнозируемая константа которого явно превышает $k_{\text{dmsso(predict)}} > 500 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ (табл. 3.2.2).

Таблица 3.2.2 – Расчетные значения потенциалов ионизации молекул гидроксиацетофенонов ($P_{\text{I PhOH(dmsso)}}$, кДж·моль⁻¹), а также экспериментальные ($k_{\text{dmsso(exper)}}$, л·моль⁻¹·с⁻¹) и прогнозируемые константы ($k_{\text{dmsso(predict)}}$, л·моль⁻¹·с⁻¹) скорости их реакции с радикалом DPPH[•]. Растворитель – диметилсульфоксид, T=293 К

Соединение	$P_{\text{I PhOH(dmsso)}}$	$k_{\text{dmsso(predict)}^a$	$k_{\text{dmsso(exper)}}$	$\Delta_k, \%$	$\bar{\Delta}_k, \%$
29 – 2-гидроксиацетофенон	560	78	74±4	5,8	7,6
30 – 3-гидроксиацетофенон	559	90	97±4	7,2	
31 – 4-гидроксиацетофенон	561	68	70±3	2,8	
32 – 2,4-дигидроксиацетофенон	555	$1,6 \cdot 10^2$	$(1,65 \pm 0,06) \cdot 10^2$	2,7	
33 – 2,5-дигидроксиацетофенон	543	$9,1 \cdot 10^2$	$(8,2 \pm 0,3) \cdot 10^2$	11,2	
34 – 3,4-дигидроксиацетофенон	549	$3,8 \cdot 10^2$	$(3,41 \pm 0,15) \cdot 10^2$	11,6	
35 – 3-метокси-4-гидроксиацетофенон	562	59	66±3	11,3	

Примечание: ^a – значения $k_{\text{dmsso(predict)}}$ рассчитаны по уравнению 1.2.5.

При тестировании предложенной модели наблюдается (рис. 3.2.3а) хорошая сходимость предсказанных и экспериментальных данных (уравнение 3.2.3, $r=0,998$), средняя ошибка аппроксимации практически не изменилась по сравнению с неполярной средой и составила 7,6 %.

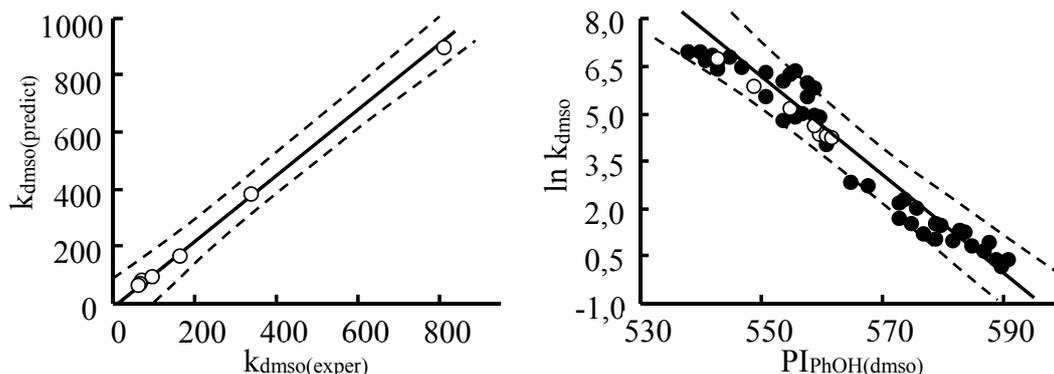


Рис. 3.2.3 – График однофакторной линейной регрессионной зависимости: а) $k_{\text{dmsso}}(\text{predict})$ от $k_{\text{dmsso}}(\text{exper})$ (в $\text{л}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{с}^{-1}$); б) $\ln k_{\text{dmsso}}$ от $\text{PI}_{\text{PhOH}}(\text{dmsso})$ (○ – гидроксиацетофеноны)

$$k_{\text{dmsso}}(\text{predict}) = -(14 \pm 4) + (113 \pm 1,3) \cdot 10^{-2} k_{\text{dmsso}}(\text{exper}),$$

$$n = 7; \tilde{r} = 0,998; \tilde{r}^2 = 0,996; F = 8146; p < 0,0000; S_{\text{est}} = 8,4. \quad (3.2.3)$$

При этом гидроксиацетофеноны, как и в бензоле, могут быть использованы для расширения выборки данных (рис. 3.2.3б), поскольку основные характеристики линейного регрессионного уравнения 1.2.5, по которому проводилось прогнозирование, не изменились по сравнению с регрессией при $n=50$:

$$\ln k_{\text{dmsso}} = (84,7 \pm 2,8) - (14,3 \pm 0,5) \cdot 10^{-2} \text{PI}_{\text{dmsso}},$$

$$n = 50; r = 0,973; r^2 = 0,947; F = 847; p < 0,0000; S_{\text{est}} = 0,55 \quad (3.2.4)$$

При переходе в ионизирующие среды наиболее низкие потенциалы ионизации молекул и фенолят-ионов, диссоциирующих по результатам расчета в Marvin 6.1.11 по I ступени, характерны для 2,5 и 3,4-гидроксиацетофенонов (табл. 3.2.3), что проявляется, как и в предыдущих случаях, в их высокой АРА активности по сравнению с другими соединениями этого ряда.

В этаноле зависимость между $k_{\text{et}}(\text{predict})$ и $k_{\text{et}}(\text{exper})$ становится еще более выраженной и коэффициент корреляции возрастает до $r=0,999$ (уравнение 3.2.5), а средняя ошибка аппроксимации снижается до $\bar{\Delta}_k = 6,5 \%$.

$$k_{\text{et}}(\text{predict}) = -(11,4 \pm 2,4) + (98,3 \pm 0,1) \cdot 10^{-2} k_{\text{et}}(\text{exper}),$$

$$n = 7; \tilde{r} = 0,999; \tilde{r}^2 = 0,998; F = 1998; p < 0,00000; S_{\text{est}} = 5,22. \quad (3.2.5)$$

Однако, несмотря на то, что экспериментальные значения констант скорости реакции гидроксиацетофенонов с DPPH[•] в этаноле очень хорошо коррелируют с $k_{\text{et}}(\text{predict})$, величины $k_{\text{et}}(\text{exper})$, внесенные в двухфакторное

регрессионное уравнение 2.1.7 (для n=43), изменяют его параметры и снижают множественный коэффициент корреляции с 0,960 до 0,950.

В этом случае нет необходимости расширять выборку данных до 50 соединений, поскольку это приведет к некоторой потере точности в прогнозировании АРА веществ.

Таблица 3.2.3 – Расчетные значения потенциалов ионизации молекул ($PI_{PhOH(et)}$, кДж·моль⁻¹) гидроксиацетофенонов и их фенолят-ионов ($PI_{PhO^-(et)}$, кДж·моль⁻¹), диссоциирующих по I ступени, а также экспериментальные ($k_{et(exper)}$, л·моль⁻¹·с⁻¹) и прогнозируемые константы ($k_{et(predict)}$, л·моль⁻¹·с⁻¹) скорости их реакции с радикалом DPPH·. Растворитель – этанол, T=293 К

Соединение	$PI_{PhOH(et)}$	$PI_{PhO^-(et)}$	$k_{et(predict)}^d$	$k_{et(exper)}$	$\Delta_k, \%$	$\bar{\Delta}_k, \%$
29 – 2-гидроксиацетофенон	587	417	$1 \cdot 10^2$	$(1,13 \pm 0,03) \cdot 10^2$	10,3	6,5
30 – 3-гидроксиацетофенон	580	411	$2,9 \cdot 10^2$	$(3,05 \pm 0,15) \cdot 10^2$	4,8	
31 – 4-гидроксиацетофенон	583	413	$2 \cdot 10^2$	$(2,19 \pm 0,13) \cdot 10^2$	10,1	
32 – 2,4-дигидроксиацетофенон	574	414 ^a	$2,7 \cdot 10^2$	$(2,91 \pm 0,13) \cdot 10^2$	6,2	
33 – 2,5-дигидроксиацетофенон	554	394 ^b	$7,8 \cdot 10^3$	$(8,0 \pm 0,3) \cdot 10^3$	1,8	
34 – 3,4-дигидроксиацетофенон	558	398 ^c	$4 \cdot 10^3$	$(4,08 \pm 0,15) \cdot 10^3$	1,7	
35 – 3-метокси-4-гидроксиацетофенон	581	420	95	$(1,06 \pm 0,03) \cdot 10^2$	10,6	

Примечание: ^{a, b, c} – величины потенциалов ионизации фенолят-ионов, образующихся по I ступени диссоциации в положении 4, 5 и 4 ароматического цикла молекулы гидроксиацетофенона соответственно; ^d – значения $k_{et(predict)}$ рассчитаны по (2.1.7).

В водных средах прогнозируемая АРА веществ многократно возрастает – 3- и 3,4-гидроксиацетофеноны имеют достаточно большие $k_{et(predict)} > 1 \cdot 10^3$ л·моль⁻¹·с⁻¹, но рекомендовать как АО с высокой АРА можно только 2,5-гидроксиацетофенон с $k_{et(predict)} > 1 \cdot 10^4$ л·моль⁻¹·с⁻¹ (табл. 3.2.4).

Коэффициент корреляции между $k_{et(predict)}$ и $k_{et(exper)}$, как и в случае с этанолом, достигает 0,999, а погрешность прогнозируемых констант относительно их эмпирических значений не превышает 8%.

$$k_{water(predict)} = -(96 \pm 19) + (103,5 \pm 0,3) \cdot 10^{-2} k_{water(exper)},$$

$$n = 7; \tilde{r} = 0,988; \tilde{r}^2 = 0,977; F = 1045; p < 0,0000; S_{est} = 41,36. \quad (3.2.6)$$

Но, в отличие от реакций в спирте, внесение экспериментальных данных по гидроксиацетофенонам в общее предсказательное регрессионное

уравнение 2.2.3 (с $n=43$) для водных сред не приводит к изменению в адекватности полученной модели (рис. 3.2.4) с большим количеством данных – сохраняются и высокий коэффициент корреляции ($r=0,973$, уравнение 3.2.7), и стандартная ошибка оценки модели $S_{est}=0,5$. Объем выборки может быть увеличен до 50 соединений.

$$\ln k_{water} = (69,3 \pm 2,1) - (14,9 \pm 0,5) \cdot 10^{-2} \text{PI}_{\text{PhO}^-(water)},$$

$$n = 50; r = 0,973; r^2 = 0,947; F = 858; p < 0,0000, S_{est} = 0,5. \quad (3.2.7)$$

Таблица 3.2.4 – Расчетные значения потенциалов ионизации ионов гидроксиацетофенонов ($\text{PI}_{\text{PhO}^-(water)}$, кДж·моль⁻¹), а также экспериментальные ($k_{water(\text{exper})}$, л·моль⁻¹·с⁻¹) и прогнозируемые константы ($k_{water(\text{predict})}$, л·моль⁻¹·с⁻¹) скорости реакции с радикалом DPPH·. Растворитель – вода, $T=293 \text{ K}$

Соединение	$\text{PI}_{\text{PhO}^-(water)}$	$k_{water(\text{predict})}^d$	$k_{water(\text{exper})}$	$\Delta_k, \%$	$\bar{\Delta}_k, \%$
29 – 2-гидроксиацетофенон	424	$4,6 \cdot 10^2$	$(5,1 \pm 0,15) \cdot 10^2$	11,1	7,5
30 – 3-гидроксиацетофенон	416	$1,5 \cdot 10^3$	$(1,59 \pm 0,03) \cdot 10^3$	5,8	
31 – 4-гидроксиацетофенон	419	$9,6 \cdot 10^2$	$(1,04 \pm 0,03) \cdot 10^3$	7,2	
32 – 2,4-дигидроксиацетофенон	421 ^a	$7,1 \cdot 10^2$	$(8,1 \pm 0,3) \cdot 10^2$	11,6	
33 – 2,5-дигидроксиацетофенон	401 ^b	$1,4 \cdot 10^4$	$(1,37 \pm 0,03) \cdot 10^4$	2,7	
34 – 3,4-дигидроксиацетофенон	404 ^c	$9 \cdot 10^3$	$(8,7 \pm 0,3) \cdot 10^3$	2,8	
35 – 3-метокси-4-гидрокси-ацетофенон	428	$2,5 \cdot 10^2$	$(2,84 \pm 0,13) \cdot 10^2$	11,3	

Примечание: ^{a, b, c} – величины потенциалов ионизации фенолят-ионов, образующихся по I ступени диссоциации в положении 4, 5 и 4 ароматического цикла молекулы гидроксиацетофенона соответственно; ^d – значения $k_{water(\text{predict})}$ рассчитаны по уравнению 2.2.3.

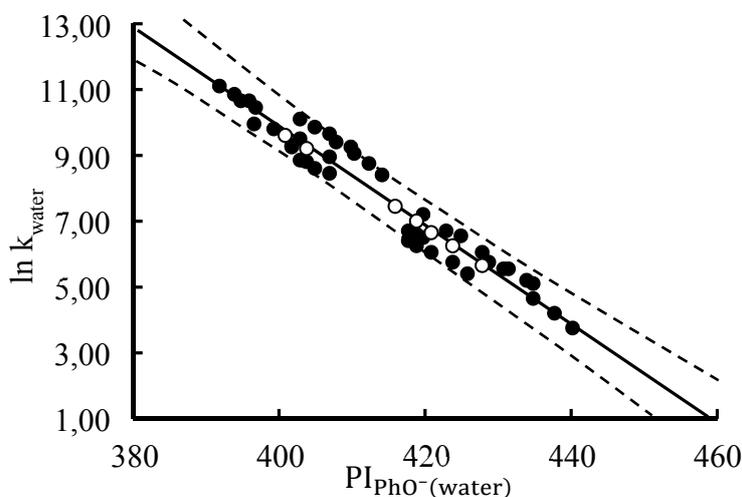


Рис. 3.2.4 – График однофакторной линейной регрессионной зависимости $\ln k_{water}$ от $\text{PI}_{\text{PhO}^-(water)}$ (в кДж·моль⁻¹) (○ – гидроксиацетофеноны)

Таким образом, предложенная полуэмпирическая модель скрининга позволит достаточно точно рассчитывать антирадикальную активность близких по структуре и механизму действия незкранированных природных фенолов в мономерной форме без дополнительных экспериментов, исходя только из химической структуры антиоксиданта и природы реакционной смеси. Это даст возможность вести целенаправленный подбор и синтез более эффективных антиоксидантов для пищевой, фармацевтической, парфюмерной продукции; создавать синергические смеси на основе природных фенолов в качестве полифункциональных пищевых добавок.

К недостаткам предложенной модели скрининга стоит отнести использование одной модельной реакции для получения кинетического параметра, поскольку природный фенол, не реагирующий с DPPH^{*}, может проявить себя в реакции с другим радикалом, например, кислородцентрированными пероксирадикалами. Повысить точность и надежность полученных результатов можно, применяя несколько реакций с радикалами разной природы, что позволит составить многоуровневую предсказательную модель оценки эффективности ингибиторов радикальных реакций. При этом в исследовании реакций с другими радикалами можно руководствоваться предложенным алгоритмом скрининга антирадикальной активности природных фенолов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Vermerris, W. Phenolic Compound Biochemistry / W. Vermerris, R. Nicholson. – Dordrecht : Springer, 2006. – 275 с.
2. Запрометов, М. Н. Фенольные соединения. Распространение, метаболизм и функции в растениях / М. Н. Запрометов. – М. : Наука, 1993. – 271 с.
3. Барабой, В. А. Растительные фенолы и здоровье человека / В. А. Барабой. – М. : Наука, 1984. – 160 с.
4. Гидроксиацетофеноны – новые модели при изучении электроокисления кверцетина / Б. Н. Баженова [и др.] // Известия вузов. Химия и химическая технология. – 2012. – Т. 55, № 8. – С.43–47.
5. Электронный учебник по системе STATISTICA [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.statsoft.ru/home/textbook/default.htm>.
6. Дерффель, К. Статистика в аналитической химии / К. Дерффель. – М. : Мир, 1994. – 268 с.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список основных сокращений и обозначений	3
Введение	5
Список литературы	9
Глава 1 Реакции природных фенолов с гидразильным радикалом в апротонных средах	14
1.1. Реакции в бензоле	14
1.1.1. Кинетические, стехиометрические и активационные параметры реакции. Дейтериевый изотопный эффект	14
1.1.2. Влияние энергии гомолитического разрыва о–н связи	26
1.1.3. Сравнительный анализ реакционной способности природных фенолов с азот- и кислородцентрированными радикалами	37
Список литературы	53
1.2. Реакции в диметилсульфоксиде	56
1.2.1. Кинетические и стехиометрические параметры реакции. Кинетический эффект растворителя	56
1.2.2. Влияние потенциала ионизации молекулы фенола	63
1.2.3. Продукты превращения природных фенолов в реакции с DPPH [•]	68
Список литературы	99
Глава 2 Реакции PhOH с DPPH[•] в протонных средах	103
2.1. Реакции в этаноле	103
2.1.1. Кинетические, стехиометрические и активационные параметры реакции. Роль специфической сольватации ...	103
2.1.2 Влияние потенциала ионизации фенолят-иона	110
Список литературы	118
2.2 Реакции в смешанных растворителях	120
2.2.1 кинетические и стехиометрические параметры реакции. Расчет константы скорости реакции в водной среде	120
2.2.2 Роль константы диссоциации фенольных соединений	127
Список литературы	133

Глава 3 Прогнозирование антирадикальной активности фенольных соединений	135
3.1. Систематизированный массив кинетической информации.....	135
Список литературы	144
3.2. Предсказательная полуэмпирическая модель скрининга антирадикальной активности PhOH в реакции с DPPH'	146
Список литературы	153

Научное издание

ПРИРОДНЫЕ ФЕНОЛЫ В РЕАКЦИИ С ГИДРАЗИЛЬНЫМ
РАДИКАЛОМ

Монография

Авторы:

Н.И. Белая, А.В. Белый

Публикуется в авторской редакции

Оригинал-макет: ООО «НПП «Фолиант»

Подписано в печать 04.05.18 г. Формат 60x84/16
Бумага офсетная. Гарнитура Times. Печать лазерная.

Усл. печ. листов 9,01 Уч.-изд. л. 9,69.

Заказ № 8/18 Тираж 500 экз.

ISBN 978-5-9500569-7-0

Издательство ООО «НПП «Фолиант»
346332, Россия, г. Донецк, ул. Шевченко, 12
Контактный телефон: +79897194796

E-mail: ooo.foliant@bk.ru

ООО «НПП «Фолиант», 2018.

Свидетельство о государственной регистрации
61№008044237 от 30.09.2016 г.

Отпечатано в типографии ООО "Цифровая типография"
(ФЛП Артамонов Д.А.)

283121, г. Донецк, ул. Челюскинцев, 291 а,
Тел.: +380 (62) 388-07-31, 388-07-30; (050) 886-53-63

Свидетельство о регистрации ДНР
серия АА02 № 51150 от 9 февраля 2015 г.