

УДК 547.587.5:544.43

МЕХАНИЗМ АНТИРАДИКАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРИРОДНЫХ ФЕНИЛПРОПАНОИДОВ В ПОЛЯРНЫХ НЕИОНИЗИРУЮЩИХ СРЕДАХ

© 2020 г. Н. И. Белая^а, *, А. В. Белый^а, А. А. Давыдова^б

^аГОУ ВПО Донецкий национальный университет,
ул. Университетская, 24, Донецк, 283001 Украина

^бГУ Институт физико-органической химии и углехимии им. Л. М. Литвиненко,
ул. Р. Люксембург, 70, Донецк, 283114 Украина

*e-mail: nat.iv.belaya@gmail.com

Поступила в редакцию 29.01.2020 г.

После доработки 22.03.2020 г.

Принята к публикации 10.04.2020 г.

Исследованы кинетика и механизмы реакции некоторых природных фенилпропаноидов группы гидроксикоричных кислот со стабильным радикалом 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразилом в полярных неионизирующих средах путем комбинирования кинетического и спектрофотометрического методов исследования. Определены кинетические и стехиометрические параметры изученной реакции. По величине дейтериевого изотопного эффекта показано, что в полярных растворителях с низкой ионизирующей способностью (диметилсульфоксид) реакция протекает по механизму переноса электрона с последующей передачей протона. Аналогичный механизм антирадикального действия гидроксикоричных кислот может реализовываться в сильноокислых водных средах.

Ключевые слова: гидроксикоричные кислоты, механизм реакции, антиоксидант, 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразил

DOI: 10.31857/S0453881120060039

Фенилпропаноиды относятся к классу растительных органических соединений ароматического ряда, характерным структурным фрагментом которых является бензольное кольцо с присоединенной к нему неразветвленной трехуглеродной цепью [1]. Они широко распространены в растительном мире, однако лишь в последнее время интенсивно изучаются в качестве перспективных биологически активных веществ с выраженными адаптогенными, иммуностимулирующими, антиоксидантными и гепатопротекторными свойствами [2, 3].

Особого внимания заслуживают фенилпропаноиды, которые относятся к группе гидроксикоричных кислот, дезактивирующих активные формы кислорода ($O_2^{\cdot-}$, $HO\cdot$, $ROO\cdot$ и т.д.), способные повреждать клеточные структуры в организме человека [2]. Эти соединения применяются как биологически активные добавки с выра-

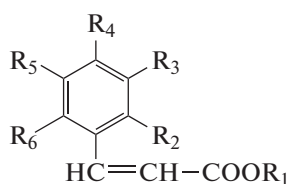
женной антиоксидантной активностью в составе многочисленных лекарственных растительных препаратов, но при этом механизм их взаимодействия со свободными радикалами либо считается подобным механизму большинства растительных фенолов (флавоноидов, гидроксibenзойных кислот), либо изучается только теоретически [4, 5].

Рассматривая гидроксикоричные кислоты как антиоксиданты (АО) с фенольной функциональной группой, можно выделить несколько механизмов их действия. В неполярных (жироподобных) средах с низкой ионизирующей способностью предполагается механизм отрыва атома водорода **HAT** (Hydrogen Atom Transfer) [6, 7]. В полярных средах происходит сопряженный перенос электрона и протона. Если потеря протона предшествует лимитирующей стадии переноса электрона, то механизм именуется как **SPLET** (Sequential Proton Loss–Electron Transfer), и в реакции непосредственно участвует ионизированная форма антиоксиданта [8, 9]. Это характерно для щелочных сред с $pH \geq 7$. Если потеря протона следует за медленной стадией переноса электрона, то осуществляется механизм **ET–PT** (Electron Transfer–Proton Transfer, также он упоминается как SET–PT или SEPT) [4, 10, 11]. Тогда в реак-

Обозначения: АО – антиоксидант, SPLET – Sequential Proton Loss–Electron Transfer, HAT – Hydrogen Atom Transfer, ET–PT – Electron Transfer–Proton Transfer, Cinnam–ОН – гидроксикоричные кислоты, DPPH $\cdot$ – 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразил, АРА – антирадикальная активность, ДИЭ – дейтериевый изотопный эффект, КЭР – кинетический эффект растворителя.

ции участвует молекулярная форма антиоксиданта, что характерно для водных сред с низким значением $\text{pH} \leq 3$.

Механизмы НАТ и SPLET исследуются более детально, поскольку они связаны с двумя крайними случаями — либо с неполярными неионизирующими растворителями (углеводородами, липидами), либо с полярными ионизирующими средами (водой, спиртами). Механизм ЕТ–РТ, как правило, изучается редко и в основном квантово-химическим методом без экспериментального подтверждения [4, 5, 11], что обусловлено определенными сложностями при установлении этого механизма (часто его принимают за НАТ, поскольку в реакции участвует молекулярная форма АО).



I — <i>o</i> -кумаровая кислота	$R_{1,3,4,5,6} = \text{H}, R_2 = \text{OH};$
II — <i>m</i> -кумаровая кислота	$R_{1,2,4,5,6} = \text{H}, R_3 = \text{OH};$
III — <i>p</i> -кумаровая кислота	$R_{1,2,3,5,6} = \text{H}, R_4 = \text{OH};$
IV — кофейная кислота	$R_{1,2,5,6} = \text{H}, R_{3,4} = \text{OH};$
V — феруловая кислота	$R_{1,2,5,6} = \text{H}, R_3 = \text{OCH}_3,$ $R_4 = \text{OH};$
VI — метилферулат	$R_{2,5,6} = \text{H}, R_3 = \text{OCH}_3,$ $R_4 = \text{OH}, R_1 = \text{CH}_3;$
VII — этилферулат	$R_{2,5,6} = \text{H}, R_3 = \text{OCH}_3,$ $R_4 = \text{OH}, R_1 = \text{C}_2\text{H}_5;$
VIII — синаповая кислота	$R_{1,2,6} = \text{H}, R_{3,5} = \text{OCH}_3,$ $R_4 = \text{OH}.$

Гидроксикоричные (**I–V, VIII**) кислоты и их эфиры (**VI, VII**) (“Fluka”, Швейцария; “Merck”, Германия; “Panreac”, Испания) дополнительно не очищали.

Антирадикальную активность соединений **I–VIII** изучали в реакции с $\text{DPPH}^\bullet$ (“Merck”), который является одним из наиболее удобных и часто используемых стабильных радикалов при оценке эффективности антиоксидантов и установления механизмов их действия [12, 13]. Раствор радикала в диметилсульфоксиде (ДМСО) и бензоле (“Merck”) имел интенсивную фиолетовую окраску с максимумом поглощения при 520 нм. В условиях его хранения в темноте интенсивность спектра в максимуме поглощения оставалась неизменной на протяжении 72 ч.

ДМСО очищали по методике [14]. pH водного раствора задавали с помощью солянокислой (pH 2) буферной системы, приготовленной как указано в работе [15]. Значение точного pH буферного раствора контролировали с помощью иономера

Цель данной работы – спектрально-кинетическое исследование возможных механизмов реакции гидроксикоричных кислот (**Cinnam–OH**) с N-центрированным радикалом 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразилом (**DPPH $^\bullet$**) в полярных неионизирующих средах.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реактивы

Объектами исследования служили некоторые представители класса растительных фенолпропаноидов — гидроксикоричные кислоты и их эфиры следующего строения:

И-160МИ (“ООО “Измерительная техника”, Россия).

Кинетические исследования

Реакцию **Cinnam–OH** с $\text{DPPH}^\bullet$ проводили в растворителях, из которых предварительно удаляли кислород путем барботирования аргона в течение 15–20 мин, что позволило исключить возможные реакции фенолокислот и продуктов их превращения с участием кислорода. Кинетику реакции исследовали при $\lambda_{\text{max}} = 520$ нм на спектрофотометре Specord S300 UV-VIS (“Carl Zeiss Jena”, Германия) при температуре $T = 293 \pm 2$ К в интервале начальных концентраций реагирующих веществ 10^{-3} – 10^{-5} моль/л. Реагенты смешивали, затем измеряли оптическое поглощение смеси и с помощью молярного коэффициента светопоглощения ($\epsilon_{\text{ДМСО}} = 1.8 \times 10^3$, $\epsilon_{\text{бензол}} = 1.1 \times 10^3$ л моль $^{-1}$ мм $^{-1}$) по закону Бугера–Ламберта–Бера рассчитывали концентрацию радикала $\text{DPPH}^\bullet$.

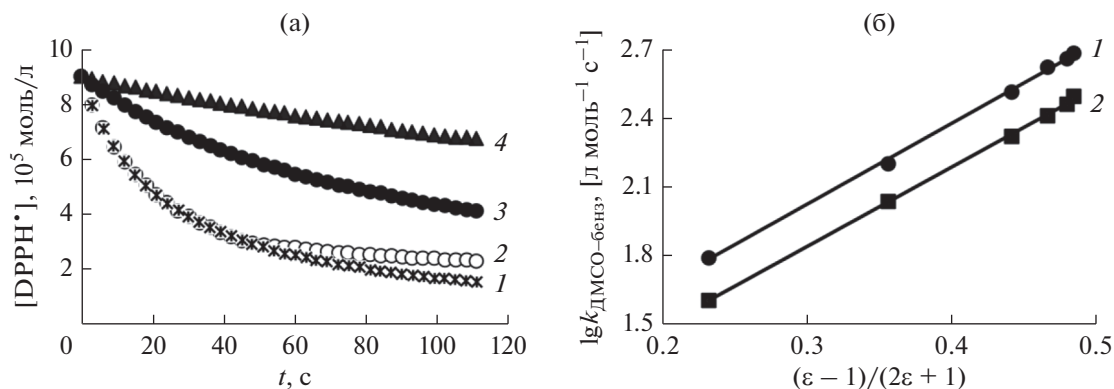


Рис. 1. а – Кинетические данные расходования $\text{DPPH}^\bullet$ в реакции с метилферулатом ($C = 9 \times 10^{-5}$ моль/л) при $T = 293 \pm 2$ К в разных растворителях: 1 – ДМСО (смоделировано в Solver MS Excel нелинейным методом ОПГ), 2 – ДМСО (эксперимент), 3 – смесь ДМСО (20 об. %) и бензола (80 об. %), 4 – бензол. б – Зависимость в координатах уравнения (1) для реакции радикала $\text{DPPH}^\bullet$ с кофейной (1) и синаповой (2) кислотами в смеси бензола с ДМСО.

Синтез дейтеропроизводных гидроксикоричных кислот

Для изучения дейтериевого изотопного эффекта (ДИЭ) получали дейтеропроизводные гидроксикоричных кислот (Cinnam-OD) путем изотопного обмена [16] между Cinnam-OH ($C = 0.025$ моль/л) и диоксидом дейтерия (D_2O) (“Merck”), объемную долю которого в реакционной системе варьировали от 20 до 30 об. %. Для этого их смешивали в ДМСО- d_6 (“Panreac”) при постоянном барботировании аргоном в течение 10 мин. Методом ЯМР-спектроскопии [17] было установлено, что за указанный промежуток времени Cinnam-OH превращаются на 97–98% в соответствующие производные – Cinnam-OD. Это подтверждалось практически полным исчезновением сигналов, относящихся к протонам фенольных (в интервале от 7.5 до 9.5 м. д.) и карбоксильных (в интервале от 11 до 12 м. д.) OH-групп.

ЯМР-исследования

Спектры ЯМР ^1H регистрировали на спектрометре Bruker Avance-II-400 (“Bruker”, Германия) с рабочей частотой 400 МГц. Спектры Cinnam-OH ($C = 0.025$ моль/л) в ДМСО- d_6 и смесях ДМСО- d_6 – D_2O (с объемной долей D_2O от 20 до 30%) записывали при 298 К.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ДМСО как в полярном растворителе с крайне низкой ионизирующей способностью $\text{DPPH}^\bullet$ расходуется за счет его реакции с молекулярной формой исследуемых Cinnam-OH (I–VIII) (рис. 1). Общий порядок (n) и константу скорости ($k_{\text{ДМСО}}$) реакции как характеристику антирадикальной активности (АРА) вещества определяли при эквивальном соотношении фенолокислота–радикал.

Для этого кинетические данные обрабатывали нелинейным методом обобщенного приведенного градиента (ОПГ) [18], реализованного в Solver MS Excel. В качестве критерия выбора порядка реакции использовали параметр S , отражающий относительный разброс вычисленного ряда констант.

$$S = \frac{1}{\bar{k}(n-1)} \sum_{i=2}^n |k_i - \bar{k}|,$$

где n – число опытов, соответствующих моментам времени t ; k_i и $\bar{k}$ – константа скорости реакции в заданный момент времени t и ее среднее значение.

Порядок реакции соответствует значению, при котором относительный разброс S константы скорости реакции, вычисленной из исходных данных (концентрации и времени) по этому порядку, является наименьшим. Кинетические кривые, смоделированные на основе констант реакции второго порядка, рассчитанных в Solver MS Excel, хорошо согласуются с экспериментальными данными (рис. 1). Отклонения наблюдаются при степени превращения радикала более 80%, что может быть вызвано влиянием вторичных продуктов превращения гидроксикоричных кислот – димерных фенолов [19, 20]. В связи с этим расчет порядков реакции и констант скорости проводили до момента времени, соответствующего 60–70% расходования $\text{DPPH}^\bullet$.

В результате были установлены второй общий порядок реакции (табл. 1) и первый псевдопорядок по $\text{DPPH}^\bullet$ ($n_{\text{DPPH}^\bullet}$). Тогда порядок по Cinnam-OH ($n_{\text{Cinnam-OH}}$), рассчитанный как разность между общим порядком и частным порядком по радикалу, также будет первым. При определении $n_{\text{DPPH}^\bullet}$ кинетику реакции исследовали в условиях

Таблица 1. Экспериментальные константы скорости k и общий порядок (n) реакции Cinnam–ОН с DPPH• в разных средах

Соединение	$k_{\text{ДМСО}}, \text{ л моль}^{-1} \text{ с}^{-1}$	n	$k_{\text{бенз}}, \text{ л моль}^{-1} \text{ с}^{-1}$	$k_{\text{pH 2}}, \text{ л моль}^{-1} \text{ с}^{-1}$
I	6.4 ± 0.3	1.99	$< 1 \times 10^{-3}$	7.9 ± 0.3
II	5.24 ± 0.15	1.98	$< 1 \times 10^{-3}$	6.8 ± 0.3
III	8.3 ± 0.3	1.98	$< 1 \times 10^{-3}$	10.5 ± 0.5
IV	$(4.84 \pm 0.15) \times 10^2$	2.01	62.4 ± 1.7	$(5.88 \pm 0.16) \times 10^2$
V	$(4.03 \pm 0.15) \times 10^2$	2	30.2 ± 1.4	$(4.53 \pm 0.15) \times 10^2$
VI	$(4.39 \pm 0.15) \times 10^2$	1.99	33.9 ± 1.4	$(5.21 \pm 0.15) \times 10^2$
VII	$(4.62 \pm 0.15) \times 10^2$	2.02	38.4 ± 1.4	$(5.79 \pm 0.16) \times 10^2$
VIII	$(3.15 \pm 0.14) \times 10^2$	1.97	29.2 ± 1.3	$(4.18 \pm 0.15) \times 10^2$

большого недостатка радикала. На начальных участках кривых (рис. 2а) путем численного дифференцирования определяли начальные скорости w_0 исследуемой реакции. Затем, используя метод изолирования Оствальда [21], по величине углового параметра линейной зависимости (рис. 2б), построенной в координатах уравнения (1), был установлен порядок $n_{\text{DPPH}^\bullet}$, равный единице.

$$\begin{aligned}
 w_0 &= k'[\text{DPPH}^\bullet]_0^{n_{\text{DPPH}^\bullet}}[\text{Cinnam-ОН}]_0^{n_{\text{Cinnam-ОН}}}, \\
 k'[\text{Cinnam-ОН}]_0^{n_{\text{Cinnam-ОН}}} &= k, \\
 w_0 &= k[\text{DPPH}^\bullet]_0^{n_{\text{DPPH}^\bullet}}, \\
 \lg w_0 &= \lg k + n_{\text{DPPH}^\bullet} \lg[\text{DPPH}^\bullet]_0.
 \end{aligned}
 \quad (1)$$

Среди исследованных веществ (табл. 1) наибольшую АРА ($k_{\text{ДМСО}}$) проявили кофейная кислота (**IV**) с двумя функциональными ОН-группами и ферулаты (**VI**, **VII**), в которых электроноакцепторная карбоксильная COOH-группа заменена на электронодонорную сложноэфирную группу. Медленно реагируют с радикалом кумаровые

кислоты (**I–III**) с одной ОН-группой. Полученные закономерности по изменению АРА кислот в неионизирующих средах согласуются с литературными данными [11, 22]. Однако остается спорным вопрос о механизме антирадикального действия Cinnam–ОН.

В полярных средах с низкой ионизирующей способностью гидроксикоричные кислоты могут дезактивировать радикалы по механизмам с участием молекулярных форм АО (перенос атома водорода НАТ или механизм переноса электрона ЕТ–РТ [6, 7, 10, 11]). При взаимодействии Cinnam–ОН с DPPH• в ДМСО исследовали возможность протекания реакции по этим направлениям. Перенос электрона с участием ионных форм антиоксидантов (механизм SPLET) мы не рассматривали, считая его маловероятным, поскольку доля образовавшихся в ДМСО фенолят-ионов изученных фенилпропаноидов будет ничтожно мала (по сравнению с молекулярной формой), чтобы влиять на скорость лимитирующей стадии.

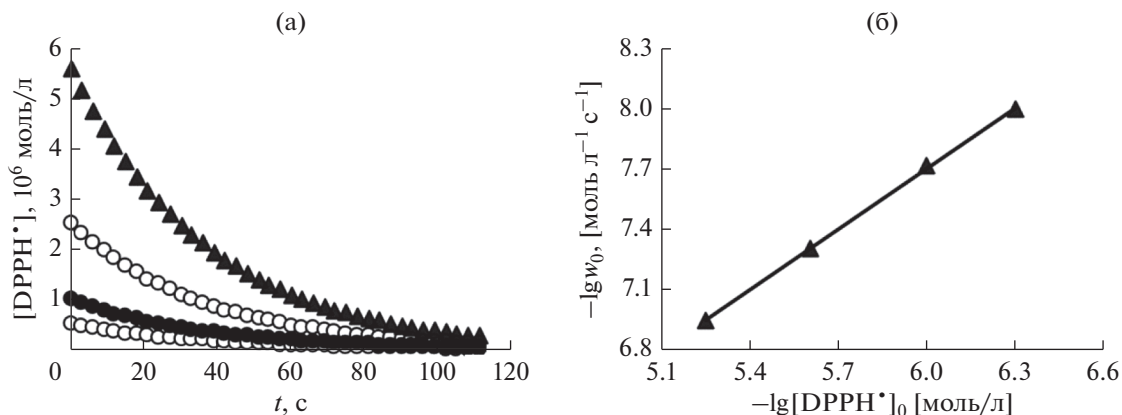


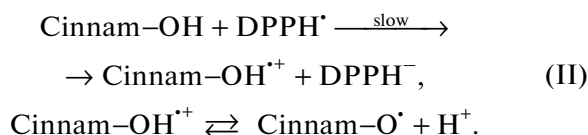
Рис. 2. Определение псевдопорядка реакции по радикалу DPPH• методом изоляции Оствальда на основе данных о начальных скоростях реакции (б), рассчитанных из кинетических кривых (а) расходования радикала при взаимодействии с кофейной кислотой ($C = 5.6 \times 10^{-5}$ моль/л) в ДМСО при $T = 293 \pm 2$ К.

Одним из способов установления механизмов антирадикального действия вещества является чувствительность реакционной способности АО к изменению природы растворителя [23, 24]. Так, механизм НАТ (реакция (I)) протекает в неполярных средах с низкой протоноакцепторной способностью (в гексане, бензоле, углеводородах, жирах), поскольку в этом случае не образуются водородные связи между атомом Н фенольной группы антиоксиданта и молекулой растворителя, а значит, ОН-группа остается “свободной” и более активной по отношению к радикалу.



Для изучения влияния растворителя на реакционную способность АО по реакции (I) используют β_2^{H} -шкалу основности водородных связей вещества [6], предложенную в работе [25]. Согласно ей, в неполярных средах чем меньше параметр β_2^{H} , тем выше реакционная способность фенольных соединений.

Механизм ЕТ–РТ (реакция (II)) реализуется в полярных растворителях, способствующих формированию переходного состояния реакции с разделением заряда [6, 26]. Это приводит к образованию катион-радикала, который обладает большими кислотными свойствами, чем исходная частица и способен быстро диссоциировать с образованием соответствующего радикала.



Величина кинетического эффекта растворителя будет определяться его диэлектрической проницаемостью (ϵ). Механизм переноса электрона считается традиционно более быстрым, чем перенос атома [6, 26].

Таким, образом, чтобы оценить возможность протекания реакций (I) или (II) с участием молекулярных форм Cinnam-OH, необходимо подбирать растворитель, руководствуясь параметрами ϵ и β_2^{H} . Так, если к ДМСО с $\epsilon = 78.3$ и $\beta_2^{\text{H}} = 0.78$ добавлять бензол с $\epsilon = 2.3$ и $\beta_2^{\text{H}} = 0.14$ [15, 25], то стоит ожидать снижения реакционной способности (k) гидроксикоричных кислот за счет замены механизма ЕТ–РТ на более медленный механизм НАТ.

При добавлении в исследуемую систему бензола реакционная способность кислот по отношению к DPPH $^{\bullet}$ уменьшается (табл. 2), а в чистом бензоле в заданных условиях некоторые соединения (I–III) фактически не реагируют с

гидразильным радикалом ($k_{\text{бенз}} < 1 \times 10^{-3}$ л моль $^{-1}$ с $^{-1}$, табл. 1). По величине кинетического эффекта растворителя (КЭР , $\text{КЭР} = \frac{k_{\text{ДМСО}}}{k_{\text{бенз}}}$) видно, что

скорость исследуемой реакции в ДМСО превышает таковую в бензоле в среднем на порядок (табл. 2). Это может быть связано как с влиянием специфической сольватации – образованием водородных связей радикала с молекулами растворителя, так и с неспецифической сольватацией – увеличением диэлектрической проницаемости среды. Установленная линейная зависимость в координатах уравнения Лейдлера–Эйринга [21] показывает (рис. 1б), что скорость исследуемой реакции в бинарной смеси сильно зависит от ϵ растворителя.

$$\begin{aligned} \lg k_{\text{ДМСО-бенз}} &= \lg k_0 - \frac{2.3}{RT} \times \\ &\times \left(\frac{\mu_{\text{Cinnam-OH}}^2}{r_{\text{Cinnam-OH}}^3} + \frac{\mu_{\text{DPPH}^{\bullet}}^2}{r_{\text{DPPH}^{\bullet}}^3} - \frac{\mu_{\neq}^2}{r_{\neq}^3} \right) \frac{(\epsilon-1)}{(2\epsilon+1)}, \end{aligned} \quad (2)$$

где $k_{\text{ДМСО-бенз}}$ – константа скорости реакции в смеси растворителей, k_0 – константа скорости реакции в газовой фазе с $\epsilon = 1$, ϵ – диэлектрическая проницаемость смеси растворителей,

$\frac{2.3}{RT} \left(\frac{\mu_{\text{Cinnam-OH}}^2}{r_{\text{Cinnam-OH}}^3} + \frac{\mu_{\text{DPPH}^{\bullet}}^2}{r_{\text{DPPH}^{\bullet}}^3} - \frac{\mu_{\neq}^2}{r_{\neq}^3} \right)$ – величина, отражающая зависимость константы скорости реакции от смены растворителя; $\mu_{\neq}$, $\mu_{\text{Cinnam-OH}}$, $\mu_{\text{DPPH}^{\bullet}}$ – дипольные моменты активного комплекса, фенолоксилокси и гидразильного радикала соответственно, $r_{\neq}$, $r_{\text{Cinnam-OH}}$, $r_{\text{DPPH}^{\bullet}}$ – радиусы активного комплекса, фенолоксилокси и гидразильного радикала соответственно, $(\epsilon - 1)/(2\epsilon + 1)$ – отношение, определяющее полярность растворителя (функция Кирквуда).

С увеличением скорости реакции при переходе от менее полярной к более полярной смеси растворителей наблюдается прямая пропорциональная зависимость и величина углового пара-

метра $\frac{2.3}{RT} \left(\frac{\mu_{\text{Cinnam-OH}}^2}{r_{\text{Cinnam-OH}}^3} + \frac{\mu_{\text{DPPH}^{\bullet}}^2}{r_{\text{DPPH}^{\bullet}}^3} - \frac{\mu_{\neq}^2}{r_{\neq}^3} \right)$ линейной регрессии (2) остается положительной (рис. 1б). Это указывает на то, что активный комплекс реакции является более полярным и легче сольватируется, чем исходные реагенты, что ускоряет протекание реакции. В связи с этим можно полагать, что в полярных средах с низкой ионизирующей способностью доминирующее влияние на антирадикальную активность Cinnam-OH оказывает не специфическая сольватация, а именно рост диэлектрической проницаемости среды, способной изменять механизм реакции. По-видимому, увеличение ϵ приводит к существенному разделению

Таблица 2. Зависимость экспериментальных величин констант скоростей ($k_{\text{ДМСО-бенз}}$) реакции Cinnam–ОН с DPPH $\cdot$ от содержания бензола в смеси с ДМСО

Соединение	$k_{\text{ДМСО-бенз}}, \text{ л моль}^{-1} \text{ с}^{-1}$				КЭР	ДИЭ	
	содержание бензола в смеси с ДМСО, об. %					$k_{\text{ДМСО}}$	$k_{\text{бенз}}$
	80	50	30	10	$\frac{k_{\text{ДМСО}}}{k_{\text{бенз}}}$	$k_{\text{ДМСО(Cinnam-OD)}}$	$k_{\text{бенз(Cinnam-OD)}}$
IV	$(1.59 \pm 0.05) \times 10^2$	$(3.31 \pm 0.12) \times 10^2$	$(4.22 \pm 0.14) \times 10^2$	$(4.59 \pm 0.13) \times 10^2$	8	0.96	1.94
V	$(1.12 \pm 0.05) \times 10^2$	$(2.49 \pm 0.12) \times 10^2$	$(3.32 \pm 0.12) \times 10^2$	$(3.78 \pm 0.13) \times 10^2$	13	1.01	2.32
VI	$(1.19 \pm 0.05) \times 10^2$	$(2.82 \pm 0.12) \times 10^2$	$(3.59 \pm 0.12) \times 10^2$	$(4.11 \pm 0.13) \times 10^2$	13	1.01	1.92
VII	$(1.33 \pm 0.05) \times 10^2$	$(2.89 \pm 0.12) \times 10^2$	$(3.82 \pm 0.13) \times 10^2$	$(4.32 \pm 0.13) \times 10^2$	12	0.98	2.13
VIII	$(1.09 \pm 0.05) \times 10^2$	$(2.11 \pm 0.11) \times 10^2$	$(2.62 \pm 0.12) \times 10^2$	$(2.89 \pm 0.12) \times 10^2$	8	0.96	2.45

заряда в переходном состоянии реакции (II) и способствует дальнейшему распаду на ионы активного комплекса с переносом заряда.

Высокая чувствительность скорости реакции к полярности среды характерна для реакций с лимитирующей стадией переноса электрона, что подтверждается разными значениями дейтериевого изотопного эффекта ДИЭ = $\frac{k_{\text{ДМСО}}}{k_{\text{ДМСО(Cinnam-OD)}}$

в среде ДМСО и бензола (табл. 2). Константы скорости реакции в диметилсульфоксидном растворе DPPH $\cdot$ в присутствии легкой кислоты ($k_{\text{ДМСО}}$) и ее дейтеропродукта ($k_{\text{ДМСО(Cinnam-OD)}}$) фактически не отличаются (рис. 3). Величина ДИЭ, равная 1, подтверждает отсутствие переноса протона в реакции (II), а значит, возможна реализация реакции DPPH $\cdot$ с Cinnam–ОН в ДМСО по пути ET–PT. Наличие же выраженного эффекта в бензоле (рис. 2, табл. 2) свидетельствует о реализации механизма НАТ в неполярных средах, что согласуется с литературными значениями ДИЭ для природных фенолов в реакции с DPPH $\cdot$ в циклогексане [7].

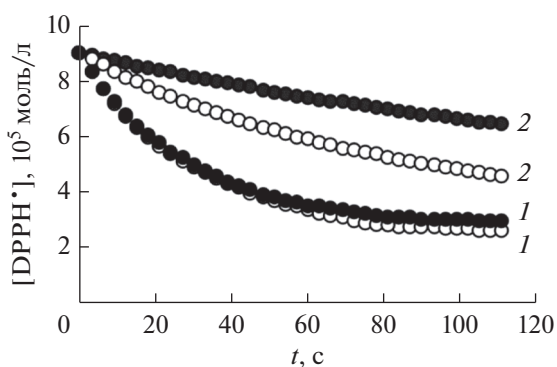


Рис. 3. Кинетические данные расходования DPPH $\cdot$ в реакции с синаповой кислотой (○) ($C = 9 \times 10^{-5}$ моль/л) и с ее дейтеропродуктом (●) ($C = 9 \times 10^{-5}$ моль/л) в ДМСО (1) и бензоле (2) при $T = 293 \pm 2$ К.

На основании полученных данных можно предположить, что механизм переноса электрона от молекулярной формы фенолокислоты будет реализовываться и в водных средах с низким pH, при котором подавляется процесс ионизации Cinnam–ОН. Установление механизма действия фенилпропаноидов в кислых средах крайне важно при оценке их реакционной способности как ингибиторов радикальных процессов в биологических системах.

Поскольку гидразильный радикал не растворим в воде, то определение АРА ($k_{\text{pH } 2}$) гидрокси-коричных кислот проводили в смеси ДМСО с солянокислым буфером (pH 2) в соотношении 10 : 90 (об. %, рис. 4), при котором диэлектрическая проницаемость смеси ($\epsilon = 75.9$) близка к таковой в воде ($\epsilon = 78.3$ [15]).

По определенным величинам $k_{\text{pH } 2}$ видно (табл. 1), что в буфере все изученные АО проявляют несколько более высокую активность, чем в ДМСО, что связано, вероятно, с ускорением механизма переноса электрона за счет увеличения ϵ среды при переходе от ДМСО к водному раствору. В кислой среде наиболее активны соединения,

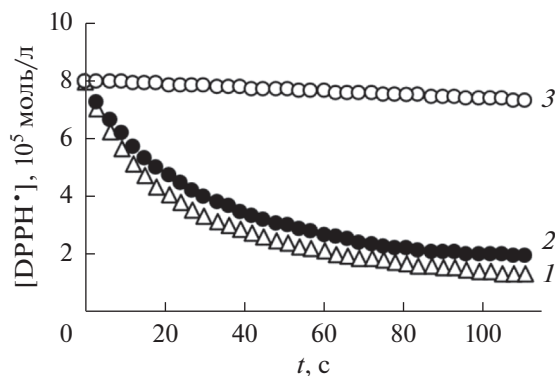


Рис. 4. Кинетические кривые расходования DPPH $\cdot$ в реакции с Cinnam–ОН ($C = 8 \times 10^{-5}$ моль/л): 1 – кофейная кислота, 2 – синаповая кислота, 3 – п-кумаровая кислота. Растворитель – ДМСО–солянокислый буфер с pH 2 (10 : 90, об. %), $T = 293 \pm 2$ К.

относящиеся к дигидроксикоричным кислотам. Уменьшение числа функциональных фенольных ОН-групп, как и в ДМСО, приводит к резкому падению реакционной способности соединений. Так, величины $k_{\text{pH}2}$ для кумаровых кислот (I–III) малы и достигают порядка $10 \text{ л моль}^{-1} \text{ с}^{-1}$. При этом наблюдается симбатная зависимость антирадикальной активности в апротонном полярном растворителе ($\ln k_{\text{ДМСО}}$) с данными в кислом буфере ($\ln k_{\text{pH}2}$).

$$\ln k_{\text{ДМСО}} = -(0.26 \pm 0.05) + (1.01 \pm 0.01) \ln k_{\text{pH}2},$$

$$n = 8, \quad r = 0.996, \quad r^2 = 0.992, \quad (3)$$

$$F = 1122, \quad p < 0.00001,$$

где n – число опытов, r – коэффициент корреляции, 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). Статистические показатели рассчитывали в системе Statistica Demo 6.0.

Полученная линейная зависимость (уравнение (3)) (с высоким коэффициентом корреляции $r = 0.996$) опосредованно подтверждает наши предположения о реализации механизма ЕТ–РТ при протекании реакции Cinnam–ОН с $\text{DRPH}^{\cdot}$ в сильноокислых средах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Природные фенилпропаноиды группы гидроксикоричных кислот реагируют с радикалом $\text{DRPH}^{\cdot}$ в полярном апротонном растворителе по механизму переноса электрона от молекулярной формы кислоты к радикалу с последующим быстрым переносом протона от образующегося катион-радикала, что подтверждается величинами кинетического эффекта растворителя и дейтериевого изотопного эффекта при сравнении с реакцией в неполярной среде. Подобный механизм может реализовываться в водных средах с повышенной кислотностью. Установление механизма антирадикального действия гидроксикоричных кислот в модельных реакциях позволит корректировать скорость протекания радикальных процессов и в реальных системах, что является определяющим фактором при подборе природных фенилпропаноидов как эффективных антиоксидантов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Vermerris W., Nicolson R. Phenolic Compound Biochemistry. Dodrecht: Springer, 2006. 276 p.
2. Li J., He D., Wang B., Zhang L., Li K., Xie Q., Zheng L. // Acta Pharm. Sin. B. 2017. V. 7. № 1. P. 106.
3. Alam M.A., Subhan N., Hossain H., Hossain M., Reza H.M., Rahman M.M., Ullah M.O. // Nutr. Metab. 2016. V. 13. № 1. P. 13.
4. Galano A., Mazzone G., Alvarez-Diduk R., Marino T., Alvarez-Idaboy J.R., Russo N. // Annu. Rev. Food Sci. T. 2016. V. 7. P. 335.
5. Amić A., Marković Z., Klein E., Dimitrić Marković J.M., Milenković D. // Food Chem. 2018. V. 246. № 25. P. 481.
6. Litwinienko G., Ingold K.U. // Acc. Chem. Res. 2007. V. 40. № 3. P. 222.
7. Foti M.C., Daquino C., Mackie I.D., DiLabio G.A., Ingold K.U. // J. Org. Chem. 2008. V. 73. P. 9270.
8. Mazzone G., Russo N., Toscano M. // Comput. Theoret. Chem. 2016. V. 1077. P. 39.
9. Galano A., Alvarez-Idaboy J.R. // J. Comput. Chem. 2013. V. 34. P. 2430.
10. Milenković D., Yorović J., Jeremić S., Marković J.M.D., Avdović E.H., Marković Z. // J. Chem. 2017. V. 2017. P. 1.
11. Galano A., Alvarez-Idaboy J.R. // Int. J. Quantum. Chem. 2019. V. 119. № 2. P. 1.
12. Yeo J.D., Shahidi F. // J. Agric. Food Chem. 2019. V. 67. № 26. P. 7526.
13. Hamlaoui I., Bencheraiet R., Bensegueni R., Bencharif M. // J. Mol. Struct. 2018. V. 1156. № 15. P. 385.
14. Armarego W.L.F., Chai C.L.L. Purification of Laboratory Chemicals. Burlington: Elsevier Science, 2003. 608 p.
15. Рабинович В.А., Хавин З.Я. Краткий химический справочник. Л.: Химия, 1991. 432 с.
16. Блументаль Г., Энгельс З., Фиц И., Хабердигцль В., Хекнер К.Х., Хенрион Г., Ландсберг Р., Шмидт В., Шольц Г., Штарке П., Вильке И., Вильке К.Т. Анорганникум. Т. 1. М.: Мир, 1984. 672 с.
17. Дероум Э. Современные методы ЯМР для химических исследований. М.: Мир, 1992. 403 с.
18. Сухарев А.Г., Тимохов А.В., Федоров В.В. Курс методов оптимизации. М.: Физматлит, 2005. 368 с.
19. Белая Н.И., Белый А.В., Заречная О.М., Щербаков И.Н., Помещенко А.И., Горбань О.А. // Кинетика и катализ. 2019. Т. 60. № 1. С. 33.
20. Amić A., Marković Z., Dimitrić Marković J.M., Milenković D., Štepanić V. // Phytochemistry. 2020. V. 170. art. 112218.
21. Денисов Е.Т. Кинетика гомогенных химических реакций. М.: Высш. шк., 1978. 367 с.
22. Kikuzaki H., Hisamoto M., Hirose K., Akiyama K., Taniguchi H. // J. Agric. Food Chem. 2002. V. 50. № 7. P. 2161.
23. Litwinienko G., Ingold K.U. // J. Org. Chem. 2005. V. 70. № 68. P. 8982.
24. Shang Y.-J., Liu B.-Y., Zhao M.-M. // Czech J. Food Sci. 2015. V. 33. P. 210.
25. Abraham M.H., Grellier P.L., Prior D.V., Morris J.J., Taylor P.J. // J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2. 1990. № 4. P. 521.
26. Ингольд К., Робертс Б. Реакции свободнорадикального замещения. М.: Мир, 1974. 255 с.

The Mechanism of Anti-Radical Action of Natural Phenylpropanoids in Polar Non-Ionizing Media

N. I. Belaya^{1, *}, A. V. Belyi¹, and A. A. Davydova²

¹*Donetsk National University, Universitetskaya str., 24, Donetsk, 283001 Ukraine*

²*Litvinenko Institute of Physico-Organic Chemistry and Coal Chemistry,
R. Luxemburg str., 70, Donetsk, 283114 Ukraine*

**e-mail: nat.iv.belaya@gmail.com*

The kinetics and mechanisms of reaction of some natural phenylpropanoids that belongs to hydroxycinnamic acid group with the stable radical 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl in polar non-ionizing media were studied using kinetic and spectrophotometric methods. The kinetic and stoichiometric parameters of the mentioned reaction were determined. The magnitude of the deuterium isotope effect shows that in polar solvents with low ionizing ability (dimethylsulfoxide), the reaction proceeds by the electron transfer mechanism with subsequent transfer of the proton. A similar mechanism of the antiradical action of hydroxycinnamic acids can be realized in strongly acidic aqueous media.

Keywords: hydroxycinnamic acids, reaction mechanism, antioxidant, 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl