

УДК 547.587.5:544.43

ДВУХФАКТОРНАЯ ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ГИДРОКСИБЕНЗОЙНЫХ КИСЛОТ В СРЕДАХ С ФИЗИОЛОГИЧЕСКИМ pH

© 2021 г. Н. И. Белая^{а, *}, А. В. Белый^а, И. Н. Щербаков^б, Е. А. Будникова^а

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

^бФГАОУ ВО Южный федеральный университет, ул. Большая Садовая, 105/42, Ростов-на-Дону, 344006 Россия

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

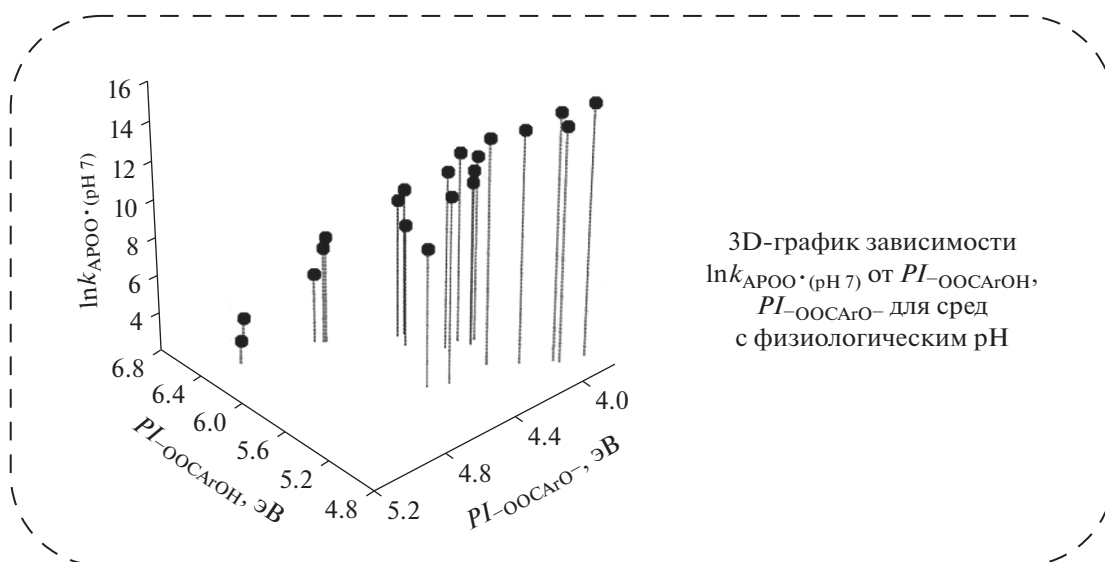
Поступила в редакцию 21.05.2021 г.

После доработки 21.07.2021 г.

Принята к публикации 22.07.2021 г.

Предложен регрессионно-классификационный алгоритм скрининга природных гидроксibenзойных кислот по антирадикальной активности в средах с физиологическим pH на основе комбинации двухфакторных линейных регрессий “дескриптор–активность” и специализированной кинетической схемы реакций. Разработанная модель решает проблему одновременного количественного определения активности фенолкарбоновых кислот и разделения их на группы веществ с высокой, средней и низкой реакционной способностью. Ее высокая прогностическая способность доказана путем исследования констант скоростей реакций контрольной группы веществ (гидроксиацетофенонов) с азот- и кислород-центрированными радикалами с расчетом относительной погрешности аппроксимации, величина которой не превышает 12%.

Графический абстракт



Ключевые слова: гидроксibenзойные кислоты, антиоксидант, 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразил, амидинопропанпероксил

DOI: 10.31857/S0453881121060010

ВВЕДЕНИЕ

Гидроксibenзойные кислоты относятся к одной из наиболее многочисленных групп растительных фенольных соединений. Их важнейшими структурными элементами являются О–Н-группа, соединенная с ароматическим циклом и

ответственная за антиоксидантную активность вещества [1, 2], а также карбоксильная HOOC-группа, способная в водных средах активировать фенольную группу за счет образования карбоксилат-ионов, более реакционноспособных, чем соответствующие молекулы [3, 4]. Из-за широкой

распространенности этих соединений в пищевой, фармацевтической и парфюмерной продукции на растительной основе возникает необходимость в формировании модели для оценки и прогнозирования их активности. К факторам, способствующим развитию прогностических методологий, относятся как возможность “отсеивания” веществ с нежелательными свойствами на ранних этапах доклинических исследований, так и поиск новых антиоксидантов природного происхождения.

Ведущее место занимают полуэмпирические модели прогнозирования антирадикальной и антиоксидантной активностей веществ на основе качественной взаимосвязи “структура–реакционная способность” [5, 6] и количественной взаимосвязи “структура–реакционная способность” (QSAR, Quantitative Structure–Activity Relationships) [7, 8]. При прогнозировании свойств на качественном уровне проводится решение классификационной задачи (например, разделение на группы активных, малоактивных и неактивных антиоксидантов), тогда как при прогнозировании числовых значений свойств – решение регрессионной задачи. Для того чтобы найти соотношение

между реакционной способностью (активностью) соединений и их строением, необходимо структурные особенности молекулы представлять в виде численных характеристик, которые получили название дескрипторов молекулярного строения (или просто дескрипторы) [9]. Тогда алгоритм QSAR дает возможность заменить поиск связей “структура–активность” анализом соотношений “дескрипторы–активность”. Подобный подход был реализован ранее в работе [10] применительно к растительным фенолам группы флавоноидов. Настоящее исследование является ее логическим продолжением, где на более многочисленной группе веществ были решены одновременно и регрессионная, и классификационная задачи прогнозирования.

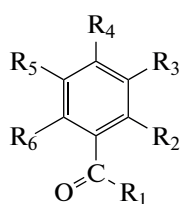
Цель работы – создать новую регрессионно-классификационную модель прогнозирования антирадикальной активности (АРА) природных гидроксibenзойных кислот на основе кинетической схемы их реакций с N- и O-центрированными радикалами в средах с физиологическим pH и системы двухфакторных регрессий “дескриптор–активность”.

Сокращения и обозначения: QSAR – количественная взаимосвязь “структура–реакционная способность” (Quantitative Structure–Activity Relationships), HOOCArOH – гидроксibenзойные кислоты, AcArOH – гидроксиацетофеноны, Tx – тролокс, АРА – антирадикальная активность, АО – антиоксидант, DPPH• – 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразил, APOO• – амидиноизопропанпероксил, ХЛ – хемилюминесценция, T_E – тролоксовый эквивалент, SPLET – Sequential Proton Loss Electron Transfer, ET–PT – Electron Transfer–Proton Transfer, теория функционала плотности (DFT), диметилсульфоксид (ДМСО).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реактивы

В качестве объектов исследования использовали соединения класса растительных фенолкарбоновых кислот (HOOCArOH) (I–XX) и гидроксиацетофенонов (AcArOH) (XXI–XXVII) следующего строения:



- I – 2-гидроксibenзойная (салициловая) кислота
- II – 3-метил-2-гидроксibenзойная кислота
- III – метиловый эфир 3-метил-2-гидроксibenзойной кислоты
- IV – 3-гидроксibenзойная кислота
- V – 4-гидроксibenзойная кислота

- VI – этиловый эфир 4-гидроксibenзойной кислоты
- VII – 2,3-дигидроксibenзойная (пирокатеховая) кислота
- VIII – 2,4-дигидроксibenзойная (β-резорциловая) кислота
- IX – метиловый эфир 2,4-дигидроксibenзойной кислоты
- X – 2,5-дигидроксibenзойная (гентиизиновая) кислота
- XI – 2,6-дигидроксibenзойная (γ-резорциловая) кислота
- XII – 3,4-дигидроксibenзойная (протокатеховая) кислота
- XIII – 3,5-дигидроксibenзойная (α-резорциловая) кислота
- XIV – 3-метокси-4-гидроксibenзойная (ванилиновая) кислота
- XV – 2,3,4-тригидроксibenзойная (3-пирогаллолкарбоновая) кислота
- XVI – 3,4,5-тригидроксibenзойная (галловая) кислота

- R_{1,2} = OH, R_{3,4,5,6} = H;
- R_{1,2} = OH, R₃ = CH₃, R_{6,5,4} = H;
- R₂ = OH, R₃ = CH₃, R₁ = OCH₃, R_{5,6,4} = H;
- R_{3,1} = OH, R_{6,5,2,4} = H;
- R_{4,1} = OH, R_{6,5,2,3} = H;
- R₄ = OH, R_{6,5,2,3} = H, R₁ = OC₂H₅;
- R_{2,3,1} = OH, R_{4,5,6} = H;
- R_{2,4,1} = OH, R_{3,5,6} = H;
- R_{2,4} = OH, R₁ = OCH₃, R_{3,5,6} = H;
- R_{2,5,1} = OH, R_{3,4,6} = H;
- R_{2,6,1} = OH, R_{3,4,5} = H;
- R_{3,4,1} = OH, R_{2,5,6} = H;
- R_{3,5} = OH, R_{1,2,4,6} = H;
- R_{4,1} = OH, R₃ = OCH₃, R_{2,5,6} = H;
- R_{2,3,4,1} = OH, R_{5,6} = H;
- R_{3,4,5,1} = OH, R_{2,6} = H;

XVII – 3,5-диметокси-4-гидроксibenзойная (сиреневая) кислота	$R_{3,5} = \text{OCH}_3, R_{4,1} = \text{OH}, R_{2,6} = \text{H};$
XVIII – метиловый эфир 3,4,5-тригидроксibenзойной кислоты	$R_{3,4,5} = \text{OH}, R_{2,6} = \text{H}, R_1 = \text{OCH}_3;$
XIX – этиловый эфир 3,4,5-тригидроксibenзойной кислоты	$R_{3,4,5} = \text{OH}, R_{2,6} = \text{H}, R_1 = \text{OC}_2\text{H}_5;$
XX – 2,4,6-тригидроксibenзойная (флороглюцинкарбоновая) кислота	$R_{2,4,6,1} = \text{OH}, R_{5,3} = \text{H};$
XXI – 2-гидроксиацетофенон	$R_1 = \text{CH}_3, R_2 = \text{OH}, R_{3,4,5,6} = \text{H};$
XXII – 3-гидроксиацетофенон	$R_1 = \text{CH}_3, R_3 = \text{OH}, R_{2,4,5,6} = \text{H};$
XXIII – 4-гидроксиацетофенон	$R_1 = \text{CH}_3, R_4 = \text{OH}, R_{2,3,5,6} = \text{H};$
XXIV – 2,4-дигидроксиацетофенон	$R_1 = \text{CH}_3, R_{2,4} = \text{OH}, R_{3,5,6} = \text{H};$
XXV – 2,5-дигидроксиацетофенон	$R_1 = \text{CH}_3, R_{2,5} = \text{OH}, R_{3,4,6} = \text{H};$
XXVI – 3,4-дигидроксиацетофенон	$R_1 = \text{CH}_3, R_{3,4} = \text{OH}, R_{2,5,6} = \text{H};$
XXVII – 3-метокси-4-гидроксиацетофенон	$R_1 = \text{CH}_3, R_4 = \text{OH}, R_3 = \text{OCH}_3, R_{2,5,6} = \text{H}.$

Гидроксibenзойные кислоты (**I–XX**), гидроксиацетофеноны (**XXI–XXVII**) и антиоксидант сравнения – тролокс (Тх) (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота) (производства “Fluka”, Швейцария; “Merck”, Германия; “Panreac”, Испания) использовали без предварительной очистки.

На этапе эмпирического отбора антиоксидантов (АО) антирадикальную активность соединений (**I–XXVII**) изучали в реакции с N-центрированным радикалом 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразилом (DPPH \cdot) (“Merck”, Германия). Раствор радикала в диметилсульфоксиде (“Merck”, Германия) имеет интенсивный фиолетовый цвет с максимумом поглощения при длине волны 520 нм. В условиях его хранения в темноте интенсивность спектра в максимуме поглощения остается неизменной на протяжении 72 ч. Генератор свободных O-центрированных радикалов – гидрофильное азосоединение 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорид (AAPH) (“Merck”, Германия), в качестве активатора свечения использовали родамин 6Ж (Rd6G) (“Merck”, Германия). Для задания pH водных растворов применяли фосфатную (с pH 7.35) буферную систему, приготовленную по методике [11], точное значение pH которой контролировали с помощью иономеров И-160МИ (Россия). Диметилсульфоксид (ДМСО) очищали по известной методике [12].

Кинетические исследования

Для изучения кинетики взаимодействия **I–XXVII** с DPPH \cdot при 293 ± 2 К были использованы ДМСО, буфер с физиологическим pH 7.35 и их смеси в разных соотношениях. Применение ДМСО было необходимо, поскольку радикал DPPH \cdot нерастворим в воде, а также для снижения скорости исследуемой реакции за счет подавления диссоциации фенольных соединений. Реакцию HOOCaOH и AcOH с DPPH \cdot проводили в растворителях, из которых предварительно

удаляли кислород путем барботирования аргона в течение 15–20 мин, что позволило исключить возможные реакции фенолов 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 оптическую плотность смеси и с помощью молярного коэффициента светопоглощения ($\epsilon_{\text{ДМСО}} = 1.6 \times 10^3$ л моль $^{-1}$ мм $^{-1}$) по закону Бугера–Ламберта–Бера рассчитывали концентрацию радикала DPPH \cdot . Соотношение фенол-кислоты и радикала составляло 1 : 1 при определении как общего порядка (n), так и константы скорости (k) реакции. Для этого кинетические данные обрабатывали нелинейным методом обобщенного приведенного градиента (ОПГ) [13], 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 определяли тем значением, при котором относительный разброс S константы скорости реакции, вычисленной из исходных данных (концентрация и время) по этому порядку, имеет наименьшее значение. Кинетические кривые, смоделированные на основе констант реакции второго порядка ($n = 2$), рассчитанных в Solver MS Excel, хорошо согласуются с экспериментальными данными, отклонения наблюдаются при степени превращения радикала более 80%, что может быть вызвано влиянием вторичных

продуктов превращения гидроксibenзойных кислот – димерных фенолов [14]. В связи с этим расчет порядков реакции и констант скорости проводили до момента времени, соответствующего 60–70% расходу DPPH[•]. Частный порядок по DPPH[•], равный единице ($n_{\text{DPPH}^{\bullet}} = 1$), установлен при 10–20-кратном недостатке радикала.

Реакцию HOOCArOH и AcArOH с 2-амидинопропан-2-пероксильными радикалами (APOO[•]), генерируемыми при термическом распаде AAPH в водной среде, изучали методом хемилюминесценции (ХЛ) [15]. Фенольные соединения растворяли в диметилсульфоксиде, а затем аликвоту этого раствора (0.1 мл) вводили в буфер (4.9 мл), содержащий AAPH и Rd6G. Окисляющуюся смесь помещали в термостатированную кювету хемилюминометра и барботировали воздухом для ее насыщения кислородом и перемешивания. Температура проведения эксперимента $T = 323 \pm 2$ К соответствовала температуре, при которой используемый инициатор распадается на радикалы APOO[•] с постоянной скоростью. Значения константы скорости реакции распада AAPH на радикалы ($k_d = 7.1 \times 10^{-6} \text{ c}^{-1}$) и выхода радикала из клетки ($e = 0.48$) при pH 7.4 и $T = 323$ К взяты из работ [16, 17]. Скорость иницирования (генерирования) пероксирадикалов рассчитывали по формуле $W_i = 2ek_d[AAPH]$ [16]. Измерения проводили с помощью хемилюминесцентной установки (фотоумножитель ФЭУ-38), принципиальная схема которой описана в работе [15, 18], с цифровой обработкой сигнала посредством АЦП “LCARD” (Россия). Активатор Rd6G усиливает интенсивность хемилюминесценции (ХЛ), но не влияет на кинетику ее снижения.

Квантово-химический расчет

Квантово-химические расчеты выполняли с использованием пакета Gaussian 09 [19] в рамках теории функционала плотности (DFT) с гибридным функционалом B3LYP, выбор которого обусловлен опубликованными данными об успешном его применении для соединений фенольного типа [14, 20]. Поиск стабильных конформеров предварительно осуществляли полуэмпирическим методом PM6. Структуры с минимальной энергией использовали в качестве начального приближения для расчетов на уровне B3LYP/6-311++G(d,p) – для систем с закрытыми оболочками (синглетное основное состояние) и UB3LYP/6-311++G(d,p) – для систем с открытыми оболочками (дублетное основное состояние). Геометрия всех структур реагентов и продуктов реакций была оптимизирована по всем независимым переменным и без ограничений по симметрии для водной среды.

Влияние растворителя учитывали в рамках модели поляризуемого континуума PCM [21]. Для построения полости растворенного вещества задавали радиусы атомных сфер из модели силового поля UFF [22]. Характер всех стационарных точек определяли расчетом матрицы Гессе. Частоты нормальных колебаний (в гармоническом приближении) и тепловые поправки к свободной энергии (с использованием немасштабированных частот) были рассчитаны теми же методами. Все полученные результаты относятся к нормальным условиям ($T = 298$ К, $P = 1$ атм) в водной среде.

Значения потенциалов ионизации карбоксилат-($PI_{\text{-OOCArOH}}$) и фенолят-ионов ($PI_{\text{-OOCArOH}^-}$) кислот рассчитывали по формулам:

$$PI_{\text{-OOCArOH}} = (E_{\text{tot}} + E_{\text{ZPE}} + H_{\text{corr}})_{\text{OOCArOH}^{\bullet}} - (E_{\text{tot}} + E_{\text{ZPE}} + H_{\text{corr}})_{\text{-OOCArOH}},$$

$$PI_{\text{-OOCArO}^-} = (E_{\text{tot}} + E_{\text{ZPE}} + H_{\text{corr}})_{\text{-OOCArO}^{\bullet}} - (E_{\text{tot}} + E_{\text{ZPE}} + H_{\text{corr}})_{\text{-OOCArO}^-},$$

где $PI_{\text{-OOCArOH}}$ – адиабатический потенциал ионизации карбоксилат-иона фенолокислоты (или молекулы эфира кислоты), E_{tot} – полная электронно-ядерная энергия частицы, E_{ZPE} – энергия нулевых колебаний частицы, H_{corr} – температурная поправка к энтальпии, $PI_{\text{-OOCArO}^-}$ – адиабатический потенциал ионизации фенолят-иона, образовавшегося по II ступени диссоциации фенолокислоты (или по I ступени диссоциации эфира кислоты).

Расчет методом QSPR

Путем моделирования методом QSPR [23] в программном пакете Marvin 18.14 [24] оценивали pK_a соединений по первой и второй ступеням диссоциации (для эфиров кислот и гидроксиацетофенонов – по первой ступени диссоциации), а также вычисляли распределение их молекулярной и ионных форм в зависимости от pH водной среды при 298 К. Модуль для расчета Protonation интегрирован в MarvinSketch и способен предсказывать pK_a для органических молекул, смоделированных в MarvinSketch.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В смешанном растворителе ДМСО–буфер в присутствии всех исследуемых HOOCArOH (I–XX) происходит расходу DPPH[•], которое можно зафиксировать в приемлемом временном интервале при низком содержании буфера, до 20–25 об. %. Видно (рис. 1а), что при добавлении даже небольшого количества буфера в ДМСО, когда полярность среды изменяется незначительно, ре-

Таблица 1. Экспериментальные константы скоростей (k) реакции соединений I–XXVII с DRRH⁺ и APOO⁺, а также значения потенциалов ионизации их моно- и бионных форм (PI_{-OOSaO}^+ , PI_{-OOSaO}^-), рассчитанные методом DFT B3LYP/6-311++G(d,p), РСМ

Соединение	$k_{\text{DRRH}^+}(\text{дмсо})^a$, л моль ⁻¹ с ⁻¹	$k_{\text{DRRH}^+}(\text{рн7})^a$, л моль ⁻¹ с ⁻¹	$\left(\frac{k_{\text{DRRH}^+}(\text{рн7})}{k_{\text{DRRH}^+}(\text{рн7})}\right)^a$	$k_{\text{APOO}^+}(\text{рн7})^b$, л моль ⁻¹ с ⁻¹	$\left(\frac{k_{\text{APOO}^+}(\text{рн7})}{k_{\text{APOO}^+}(\text{рн7})}\right)^b$	p <i>K</i> _{a1} (p <i>K</i> _{a2})	PI_{-OOSaO}^+ , эВ	PI_{-OOSaO}^- , эВ
I	<0.01	(2.50 ± 0.08) × 10 ⁴	4.17	(9.5 ± 0.4) × 10 ⁵	9.5	2.79 (13.23)	5.33	4.22
II	(1.11 ± 0.05) × 10 ²	(2.50 ± 0.08) × 10 ⁴	4.17	(1.39 ± 0.04) × 10 ⁶	14.0	2.8 (13.89)	5.21	4.11
III	(1.21 ± 0.05) × 10 ²	60.0 ± 2.5	0.01	(2.85 ± 0.15) × 10 ²	0.0029	10.1	6.23 ^c	4.65 ^d
IV	<0.01	(9.5 ± 0.4) × 10 ²	0.16	(1.70 ± 0.06) × 10 ⁴	0.17	3.85 (9.55)	5.92	4.32
V	<0.01	(5.00 ± 0.21) × 10 ²	0.083	(4.50 ± 0.21) × 10 ³	0.045	4.38 (9.67)	5.83	4.38
VI	1.61 ± 0.05	12.0 ± 0.6	0.0020	25 ± 0.9	0.00025	8.5	6.54 ^c	4.88 ^d
VII	(3.00 ± 0.09) × 10 ²	(9.1 ± 0.4) × 10 ⁴	15.17	(1.60 ± 0.05) × 10 ⁶	16.0	2.56 (9.7)	5.05	3.97
VIII	58 ± 2	(3.9 ± 0.18) × 10 ³	0.65	(1.28 ± 0.05) × 10 ⁵	1.28	3.1 (9.81)	5.33	4.44
IX	12 ± 0.5	30.0 ± 1.6	0.005	25 ± 0.9	0.00025	8.58	6.35 ^c	5.00 ^d
X	(5.8 ± 0.16) × 10 ²	(1.31 ± 0.04) × 10 ⁵	21.88	(3.51 ± 0.18) × 10 ⁶	35.1	2.53 (10.02)	5.01	3.85
XI	(1.51 ± 0.05) × 10 ²	(1.50 ± 0.04) × 10 ³	0.25	(4.09 ± 0.18) × 10 ⁴	0.41	1.65 (13.26)	5.56	4.16
XII	(5.11 ± 0.15) × 10 ²	(1.90 ± 0.08) × 10 ³	0.32	(8.00 ± 0.4) × 10 ⁴	0.8	4.16 (9.4)	5.64	4.26
XIII	(1.18 ± 0.05) × 10 ²	(5.05 ± 0.21) × 10 ²	0.084	(1.01 ± 0.04) × 10 ⁴	0.10	3.61 (9.29)	5.94	4.35
XIV	< 0.01	(2.43 ± 0.16) × 10 ³	0.4	(7.00 ± 0.28) × 10 ⁴	0.7	4.16 (10.14)	5.57	4.16
XV	(2.5 ± 0.09) × 10 ²	(7.97 ± 0.29) × 10 ⁴	13.28	(3.00 ± 0.18) × 10 ⁶	30.0	2.88 (9.07)	5.09	3.98
XVI	(8.5 ± 0.4) × 10 ²	(3.40 ± 0.08) × 10 ³	0.57	(1.59 ± 0.07) × 10 ⁵	1.6	3.94 (9.04)	5.64	4.18
XVII	(7.5 ± 0.3) × 10 ²	(8.1 ± 0.3) × 10 ³	1.35	(1.20 ± 0.04) × 10 ⁵	1.2	3.93 (9.55)	5.59	4.12
XVIII	(2.31 ± 0.09) × 10 ²	80 ± 3	0.013	(1.20 ± 0.04) × 10 ³	0.012	8.11	6.20 ^c	4.63 ^d
XIX	(2.62 ± 0.09) × 10 ²	150 ± 8	0.025	(2.00 ± 0.08) × 10 ³	0.02	8.11	6.18 ^c	4.62 ^d
XX	(1.17 ± 0.05) × 10 ²	(2.80 ± 0.08) × 10 ³	0.47	(1.10 ± 0.04) × 10 ⁴	0.11	1.96 (9.94)	5.40	4.53
XXI	11 ± 0.4	92 ± 4	0.015	(1.39 ± 0.04) × 10 ³	0.014	9.15	6.40 ^c	4.39 ^d
XXII	7.1 ± 0.3	67 ± 2	0.011	(2.00 ± 0.08) × 10 ³	0.020	8.91	6.47 ^c	4.31 ^d
XXIII	6.5 ± 0.3	61 ± 2	0.010	(1.15 ± 0.04) × 10 ³	0.012	7.79	6.53 ^c	4.34 ^d
XXIV	9.6 ± 0.4	101 ± 4	0.017	(1.80 ± 0.06) × 10 ³	0.018	7.88	6.39 ^c	4.36 ^d
XXV	58.5 ± 2.1	(1.16 ± 0.04) × 10 ³	0.193	(4.63 ± 0.21) × 10 ⁴	0.463	9.22	5.89 ^c	4.16 ^d
XXVI	15.5 ± 0.5	301 ± 16	0.050	(9.9 ± 0.5) × 10 ³	0.099	7.91	6.23 ^c	4.19 ^d
XXVII	23.1 ± 1.6	270 ± 16	0.045	(3.20 ± 0.08) × 10 ³	0.032	8.28	6.12 ^c	4.44 ^d

^aКонстанта скорости реакции тролокса с DRRH⁺ при рН 7.35, $T = 298$ К равна $k_{\text{DRRH}^+}^{\text{Tx}} = (6.00 \pm 0.25) \times 10^3$ л моль⁻¹ с⁻¹. ^bКонстанта скорости реакции тролокса с APOO⁺ при рН 7.35, $T = 323$ К равна $k_{\text{APOO}^+}^{\text{Tx}} = (1.00 \pm 0.04) \times 10^5$ л моль⁻¹ с⁻¹. ^cПотенциал ионизации молекулярной формы. ^dПотенциал ионизации моноионной формы.

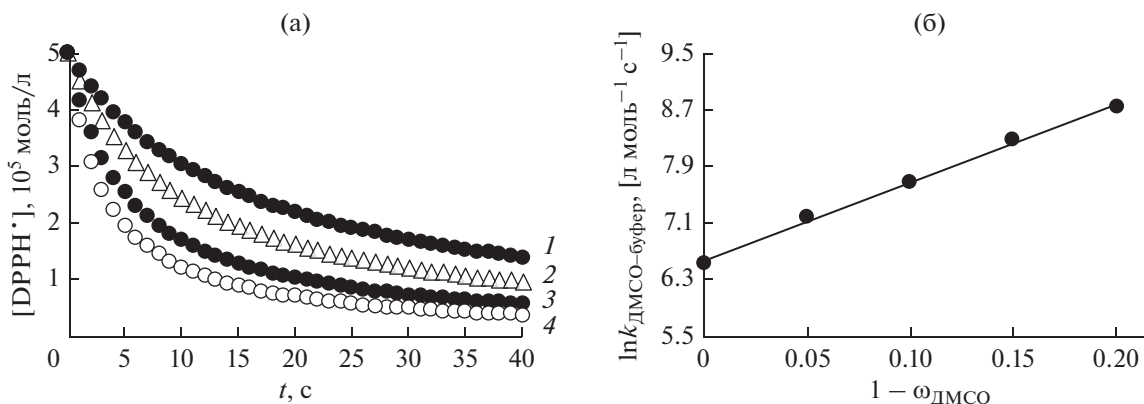


Рис. 1. (а) – Кинетические кривые расщедования DPPH• в реакции с 3-пирогаллолкарбоновой кислотой ($C = 5 \times 10^{-5}$ моль/л) при $T = 298 \pm 2$ К в смеси ДМСО с добавками фосфатного буфера с рН 7.35 (об. %): 1 – 5; 2 – 10; 3 – 15; 4 – 20. (б) – Расчет константы скорости реакции в чистом растворителе ($k_{\text{DPPH}^{\bullet}(\text{pH}7)}$) из зависимости (1): $\ln k_{\text{ДМСО-буфер}} = (6.56 \pm 0.04) + (11.28 \pm 0.33)(1 - \omega_{\text{ДМСО}})$, где $\omega_{\text{ДМСО}}$ – доля ДМСО в смеси ДМСО–буфер.

акционная способность HOOCArOH увеличивается.

Поскольку гидразильный радикал нерастворим в воде, а скорость исследуемой реакции при большом содержании буфера настолько велика, что не позволяет корректно оценить начальные участки кинетических кривых, то величину антирадикальной активности кислот в чистом буфере ($k_{\text{DPPH}^{\bullet}(\text{pH}7)}$) определяли из линейной зависимости (1) $\ln k_{\text{ДМСО-буфер}}$ от объемной доли буфера, вводимого в реакционную смесь:

$$\ln k_{\text{ДМСО-буфер}} = \ln k_{\text{DPPH}^{\bullet}(\text{ДМСО})} \omega_{\text{ДМСО}} + \ln k_{\text{DPPH}^{\bullet}(\text{pH}7)} (1 - \omega_{\text{ДМСО}}), \quad (1)$$

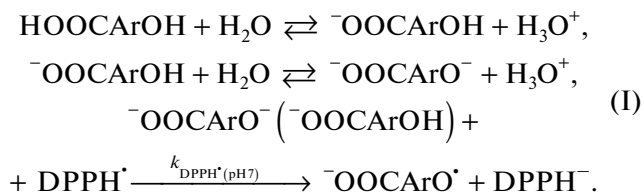
где $\omega_{\text{ДМСО}}$, $(1 - \omega_{\text{ДМСО}})$ – доля ДМСО и буфера в смешанном растворителе.

Из углового параметра линейных регрессий (рис. 1б), полученных в координатах уравнения (1), рассчитывали константы скорости реакции $k_{\text{DPPH}^{\bullet}(\text{pH}7)}$ в буфере с физиологическим рН. Отношение константы исследуемого вещества к константе для тролокса $\left(\frac{k_{\text{DPPH}^{\bullet}(\text{pH}7)}}{k_{\text{DPPH}^{\bullet}(\text{pH}7)}^{\text{Тх}}}\right)$ показывает, во сколько раз АРА изученного соединения выше активности реперного АО [25].

Вычисленные значения $k_{\text{DPPH}^{\bullet}(\text{pH}7)}$ (табл. 1) указывают на то, что в нейтральной среде наиболее активны с гидразильным радикалом соединения групп ди- и тригидроксibenзойных кислот (VII, X, XV) с тролоксовым эквивалентом $T_{\text{E(DPPH}^{\bullet})}$ больше 10. Низкие константы характерны для гидроксibenзойных кислот с одной гид-

роксигруппой или О–Н-группами в *meta*-положении, а также для эфиров кислот (III, V, VI, IX, XIII, XVIII, XIX).

Примечательно, что при переходе от ДМСО к буферному раствору величины констант в среднем возрастают на 1–2 порядка, что обусловлено усилением диссоциации HOOCArOH в водной среде. Из распределения молекулярной и ионных форм фенолкарбоновых кислот и их эфиров (рис. 2), рассчитанных методом QSPR в программе Marvin 18.14 на основе величин рK_a (табл. 1), видно, что в буферном растворе с рН 7.35 все фенолкарбоновые кислоты присутствуют в виде активных карбоксилат- и фенолят-ионов (эфиры находятся только в молекулярной и моноионной формах), способных реагировать со свободными радикалами [25]:



Антирадикальная активность фенолокислот, установленная в реакции со стабильным N-центрированным радикалом, была подтверждена при взаимодействии с лабильными O-центрированными радикалами, имитирующими пероксильные радикалы органических субстратов.

Согласно классическим представлениям метода хемилюминесценции [15], в реакции рекомбинации пероксирадикалов (APOO•), генерируемых при распаде азосоединения (в настоящей работе гидрофильный AAPH), может возникать ХЛ,

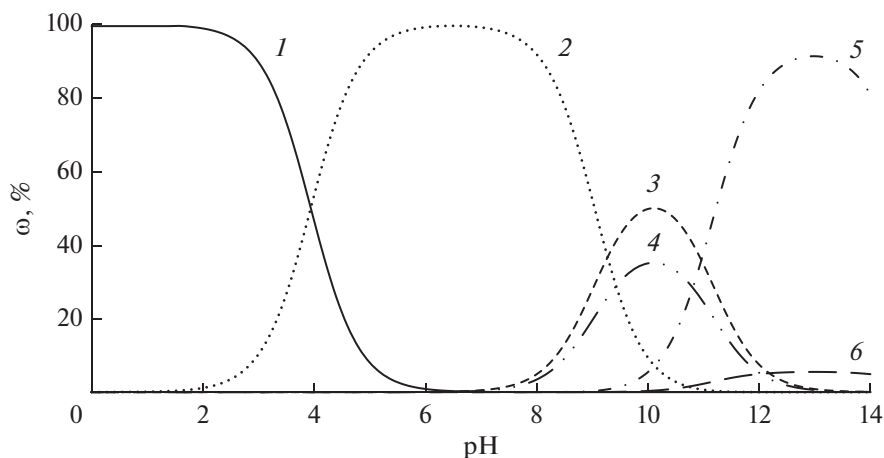
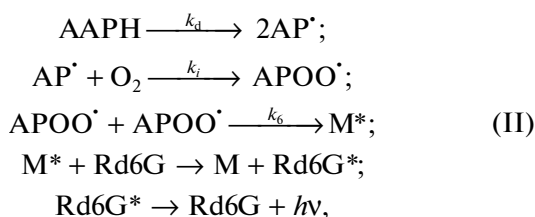


Рис. 2. Распределение доли ионных форм (ω) галловой кислоты в зависимости от pH среды: 1 – HOOCArOH ; 2 – OOCArOH^- ; 3 – OOCAr-4-O^- ; 4 – OOCAr-3-O^- ; 5 – OOCAr-3,5-O^- ; 6 – OOCAr-3,4-O^- . Расчеты проведены методом QSPR в программе Marvin 18.14, $T = 298 \text{ K}$, растворитель – вода.

которая в случае необходимости усиливается активатором свечения Rd6G :



где M^* – электронно-возбужденное состояние карбонильного соединения; $h\nu$ – квант света (хемилюминесценция). Нумерация констант скоростей реакций соответствует принятым в работах [15, 18].

Если считать, что ХЛ возбуждается лишь в реакции рекомбинации APOO^\bullet , то ее интенсивность (I_0) должна быть пропорциональна квадрату концентрации перекисных радикалов: $I_0 \sim [\text{APOO}^\bullet]^2$. При добавлении в систему HOOCArOH как акцепторов пероксирадикалов наблюдается уменьшение интенсивности ХЛ-свечения (I) по реакции:

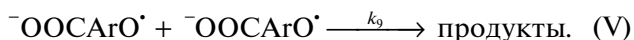
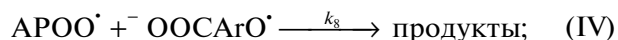


При этом ХЛ в присутствии АО не ослабляется до нуля. Это, вероятно, обусловлено возбуждением ХЛ в каких-либо нерадикальных (молекулярных) реакциях ($I_{\text{мол}}$), на которые перехватчик радикалов HOOCArOH не влияет. В отдельной серии экспериментов было установлено, что появление молекулярной ХЛ связано с воздействием активатора свечения. Относительную интенсивность $I_{\text{мол}}$ определяли, когда в реакционной смеси присутствовал только растворитель и

активатор свечения, при этом ее величина не превышала 0.18.

Константы скорости реакции (III) k_7 находили в фосфатном буфере при pH 7.35 методом, предложенным в работе [15], при условии низких скоростей иницирования (W_i) и достаточно высоких концентрациях антиоксиданта. Метод расчета констант k_7 позволяет исключить влияние на кинетику реакции продуктов превращения HOOCArOH , а также не требует знания величины константы скорости k_6 , определение которой возможно только после детального изучения ХЛ реакций самого инициатора и образующихся при его распаде радикалов.

Расчет k_7 проводили в начальный момент времени, когда концентрация OOCArO^\bullet крайне мала и реакциями (VI), (V) можно пренебречь:



С учетом реакций (II), (III), (IV) изменение концентрации перекисных радикалов описывается дифференциальным уравнением:

$$\begin{aligned} \frac{d[\text{APOO}^\bullet]}{dt} &= W_i - k_6 [\text{APOO}^\bullet]^2 - \\ &- k_7 [\text{APOO}^\bullet] [\text{HOOCArOH}]_0 - \\ &- k_8 [\text{APOO}^\bullet] [\text{OOCArO}^\bullet]. \end{aligned} \quad (2)$$

В начальный момент, когда $[\text{OOCArO}^\bullet] \rightarrow 0$, последним членом в уравнении (2) можно пренебречь. Тогда его решение при условии $k_7 [\text{HOOCArOH}]_0 \gg \sqrt{k_6 W_i}$ и после преобразований будет иметь вид [15]:

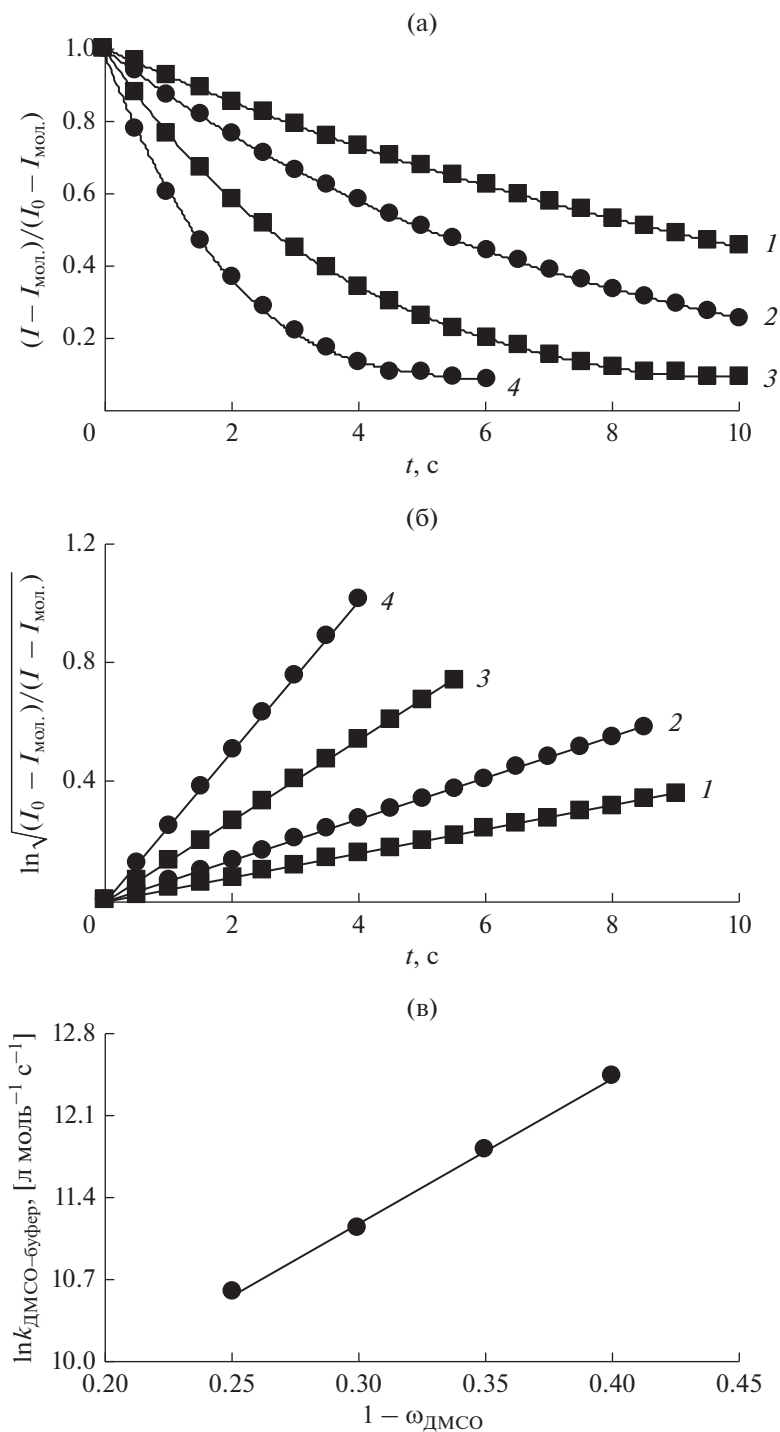


Рис. 3. (а) – Кинетика относительной интенсивности ХЛ при термоллизе ААРН в присутствии галловой кислоты ($C = 1 \times 10^{-6}$ моль/л) в фосфатно-цитратном буфере с рН 7.35 с добавками ДМСО (об. %): 1 – 75; 2 – 70; 3 – 65; 4 – 60. (б) – Полулогарифмические анаморфозы кинетических кривых ХЛ. (в) – Расчет константы ($k_{\text{АРОО}^{\cdot}(\text{pH}7)}$) в чистом растворителе из зависимости (1): $\ln k_{\text{ДМСО-буфер}} = (7.45 \pm 0.12) + (11.98 \pm 0.4)(1 - \omega_{\text{ДМСО}})$. $W_i = 5 \times 10^{-9}$ моль л $^{-1}$ с $^{-1}$, $[\text{Rd6G}] = 3 \times 10^{-3}$ моль/л. $T = 323$ К. W_i – скорость иницирования пероксирадикалов.

Таблица 2. Прогнозируемые величины тролоксового эквивалента и константы скорости реакции гидроксиацетофенонов с DPPH^{\cdot} и APOO^{\cdot} , рассчитанные по уравнению (8) и (9)

Соединение	$k_{\text{DPPH}^{\cdot}(\text{pH}7)}^{\text{расч}}$, л моль ⁻¹ с ⁻¹	$\left(\frac{k_{\text{DPPH}^{\cdot}(\text{pH}7)}}{k_{\text{DPPH}^{\cdot}(\text{pH}7)}^{\text{Tx}}}\right)_{\text{расч}}$	$\Delta_{k(\text{DPPH}^{\cdot})}^{\text{a}}$, %	$k_{\text{APOO}^{\cdot}(\text{pH}7)}^{\text{расч}}$, л моль ⁻¹ с ⁻¹	$\left(\frac{k_{\text{APOO}^{\cdot}(\text{pH}7)}}{k_{\text{APOO}^{\cdot}(\text{pH}7)}^{\text{Tx}}}\right)_{\text{расч}}$	$\Delta_{k(\text{APOO}^{\cdot})}^{\text{a}}$, %
XXI	83	0.014	9.8	1.6×10^3	0.016	11.2
XXII	74	0.012	10.8	1.9×10^3	0.019	7.2
XXIII	54	0.009	12.0	1.2×10^3	0.012	7.4
XXIV	90	0.015	10.7	1.9×10^3	0.019	3.7
XXV	1.3×10^3	0.22	11.8	4.5×10^4	0.45	3.5
XXVI	275	0.046	8.5	9.5×10^3	0.095	3.3
XXVII	243	0.041	10.0	3.6×10^3	0.036	11.1

^aОтносительная погрешность расчета $\Delta_k = \left(\frac{k_{(\text{эксп})} - k_{(\text{расч})}}{k_{(\text{эксп})}}\right) \times 100\%$.

$$\ln \sqrt{\frac{I_0}{I}} = k_7 [\text{HOOCArOH}]_0 t, \quad (3)$$

где $k_7 [\text{HOOCArOH}]_0 = k'$ – угловой параметр линейной зависимости (3), равный константе скорости реакции первого порядка, с⁻¹; $[\text{HOOCArOH}]_0$ – начальная концентрация гидроксibenзойной кислоты, моль/л; t – время, с.

Начальный участок ХЛ-кривой (рис. 3а) спрямляли (рис. 3б) в полулогарифмических координатах кинетического уравнения (3) первого порядка. С использованием линейного регрессионного анализа, проведенного в системе Statistica Demo 6.0 [26], из величины k' рассчитывали значения k_7 , а затем по полученным в координатах уравнения (1) зависимостям вычисляли константы скорости реакции $k_{\text{APOO}^{\cdot}(\text{pH}7)}$ в буфере с физиологическим рН (рис. 3в).

В отличие от реакции с DPPH^{\cdot} , АРА относительно тролокса $T_{\text{E}(\text{APOO}^{\cdot})}$ всех исследованных веществ I–XX при взаимодействии с APOO^{\cdot} явно возрастает (табл. 1). Сравнительный анализ

$\frac{k_{\text{DPPH}^{\cdot}(\text{pH}7)}}{k_{\text{DPPH}^{\cdot}(\text{pH}7)}^{\text{Tx}}}$ и $\frac{k_{\text{APOO}^{\cdot}(\text{pH}7)}}{k_{\text{APOO}^{\cdot}(\text{pH}7)}^{\text{Tx}}}$ свидетельствует о том, что

модельная реакция с DPPH^{\cdot} позволяет провести первичный отбор веществ с антирадикальными свойствами и выявить самые эффективные АО. Более чувствительна в этом плане реакция с цианоизопропанпероксилами, по величинам констант скоростей которой можно определить вещества с меньшей реакционной способностью. Так (табл. 1), с гидразильным радикалом актив-

ность выше или как у тролокса $\left(\frac{k_{\text{DPPH}^{\cdot}(\text{pH}7)}}{k_{\text{DPPH}^{\cdot}(\text{pH}7)}^{\text{Tx}}} \geq 1\right)$

проявили соединения I, II, VII, X, XV и XVII (эффективные антиоксиданты), а в реакции с APOO^{\cdot}

$\left(\frac{k_{\text{APOO}^{\cdot}(\text{pH}7)}}{k_{\text{APOO}^{\cdot}(\text{pH}7)}^{\text{Tx}}} \geq 1\right)$ к указанным веществам добавились еще VIII и XVI (вещества со средней АРА). Для оставшихся фенолкарбонновых кислот в обо-

их случаях $\frac{k_{\text{DPPH}^{\cdot}(\text{pH}7)}}{k_{\text{DPPH}^{\cdot}(\text{pH}7)}^{\text{Tx}}}$ и $\frac{k_{\text{APOO}^{\cdot}(\text{pH}7)}}{k_{\text{APOO}^{\cdot}(\text{pH}7)}^{\text{Tx}}}$ меньше единицы (вещества с низкой АРА).

Таким образом, исследование кинетики реакции HOOCArOH с N- и O-центрированными радикалами позволило сформировать кинетическую схему (реакции (I), (III)), позволяющую классифицировать природные фенолы на группы веществ с высокой, средней и низкой антирадикальной активностью.

Следующий этап разработки прогностической модели был направлен на выбор неэмпирической составляющей, то есть молекулярных дескрипторов фенолов, связанных с лимитирующей стадией механизма реакции.

Рассматривая гидроксibenзойные как АО с фенольной функциональной группой, можно выделить несколько известных механизмов их антирадикального действия. В водных средах имеет место последовательный перенос электрона и протона. Если потеря протона предшествует лимитирующей стадии переноса электрона, то механизм именуется SPLET (Sequential Proton Loss–Electron Transfer) [25, 27], и в реакции непосредственно участвует ионизированная форма антиоксиданта ($^-\text{OOCArO}^-$). Это характерно для щелочных сред с $\text{pH} \geq 7$. Если потеря протона следует за медленной стадией переноса электрона, то имеет место механизм ET–PT (Electron Transfer–Pro-

ton Transfer) (также упоминается как SET–PT или SEPT) [27]. Тогда в реакции с радикалом принимает участие молекулярная форма фенольного антиоксиданта (HOOCArOH и ⁻OOCArOH), что характерно для водных сред с низким значением pH ≤ 3. В нейтральных средах, где присутствуют и молекулярная, и ионная формы антиоксиданта, будут реализовываться оба механизма, на что указывают исследования, проводимые в области изучения механизмов действия фенольных антиоксидантов [27, 28].

ET–PT- и SPLET-зависимым дескриптором является, как правило, потенциал ионизации молекулярной и ионной форм фенольного антиоксиданта соответственно [27, 28]. Поиск и расчет дескрипторов осуществляли путем комбинирования двух методов. Вначале методом QSPR в программе Marvin 18.14 определяли ионы, доля которых в системе при заданном pH достаточно велика, чтобы влиять на скорость лимитирующей стадии. Затем для выбранных ионов методом DFT рассчитывали значения потенциалов ионизации карбоксилат- ($PI_{-OOCArOH}$) и фенолят-ионов ($PI_{-OOCArO^-}$) кислот.

Между вычисленными SPLET- и ET–PT-зависимыми дескрипторами (табл. 1) и экспериментальными константами скоростей ($k_{DPPH'(pH7)}$ и $k_{APOO'(pH7)}$) устанавливали одно- и двухфакторные линейные регрессионные зависимости (уравнения (4)–(7)), по коэффициентам корреляции которых видно, что влияние $PI_{-OOCArOH}$ (как ET–PT-зависимого дескриптора) соизмеримо с $PI_{-OOCArO^-}$ (как SPLET-зависимого дескриптора), а значит, в системе перенос электрона с фенолкарбоновой кислоты на радикал, вероятно, представляет собой комбинацию SPLET- и ET–PT-механизмов:

$$\begin{aligned} \ln k_{DPPH'(pH7)} &= \\ &= (40.2 \pm 1.8) - (5.8 \pm 0.3) PI_{-OOCArOH}, \quad (4) \\ n &= 20; \tilde{r} = 0.975; \tilde{r}^2 = 0.950; F = 343; \\ p &< 0.00000; S_{est} = 0.62; \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \ln k_{DPPH'(pH7)} &= (43 \pm 4) - (8.1 \pm 0.8) PI_{-OOCArO^-}, \\ n &= 20; \tilde{r} = 0.915; \tilde{r}^2 = 0.837; F = 93; \quad (5) \\ p &< 0.00000; S_{est} = 1.12; \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \ln k_{APOO'(pH7)} &= (52 \pm 3) - (7.4 \pm 0.6) PI_{-OOCArOH}, \\ n &= 20; \tilde{r} = 0.946; \tilde{r}^2 = 0.896; F = 155; \quad (6) \\ p &< 0.00000; S_{est} = 1.18; \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \ln k_{APOO'(pH7)} &= (58 \pm 4) - (11.1 \pm 0.9) PI_{-OOCArO^-}, \\ n &= 20; \tilde{r} = 0.944; \tilde{r}^2 = 0.892; F = 148; \quad (7) \\ p &< 0.00000; S_{est} = 1.2, \end{aligned}$$

где n – число опытов; \tilde{r} – полный парный коэффициент корреляции; 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 линейной модели.

Поскольку линейная связь между значениями потенциалов ионизации карбоксилат- и фенолят-ионов (табл. 1) не превышает 0.9 ($\tilde{r} = 0.868$), то разрешить сложившуюся двойственную ситуацию можно путем установления двухфакторных линейных регрессионных зависимостей АРА фенолов в реакции с DPPH' и APOO' одновременно со SPLET- и ET–PT-зависимыми дескрипторами:

$$\begin{aligned} \ln k_{DPPH'(pH7)} &= (42.9 \pm 1.6) - \\ &- (4.3 \pm 0.5) PI_{-OOCArOH} - (2.5 \pm 0.8) PI_{-OOCArO^-}, \\ n &= 20, \tilde{r} = 0.984, \tilde{r}^2 = 0.969, F = 268, \quad (8) \\ p &< 0.00000, S_{est} = 0.5, \end{aligned}$$

$$r_{part(PI_{-OOCArOH})} = 0.901, r_{part(PI_{-OOCArO^-})} = 0.619;$$

$$\begin{aligned} \ln k_{APOO'(pH7)} &= (58.4 \pm 2.6) - \\ &- (4.0 \pm 0.8) PI_{-OOCArOH} - (5.8 \pm 1.2) PI_{-OOCArO^-}, \\ n &= 20, \tilde{r} = 0.978, \tilde{r}^2 = 0.957, F = 188, \quad (9) \\ p &< 0.00000, S_{est} = 0.78, \end{aligned}$$

$$r_{part(PI_{-OOCArOH})} = 0.776, r_{part(PI_{-OOCArO^-})} = 0.765,$$

где r_{part} – частный коэффициент корреляции.

Как видно (уравнения (8), (9)) из значений множественного коэффициента корреляции ($\tilde{r} = 0.984$ и 0.978) и детерминации ($\tilde{r}^2 = 0.969$ и 0.957), выбранная линейная модель с двумя факторами $PI_{ArOH(PI_{-OOCArOH})}$ и $PI_{ArO(PI_{-OOCArO^-})}$ более адекватно описывает экспериментальные данные в отличие от однофакторных регрессий, и вариация $\ln k_{DPPH'(pH7)}$ на 96.9 и 95.7% может быть обусловлена вариацией независимых переменных. Критерий Фишера F проверки значимости линейной модели регрессии высокий при уровне значимости $p < 0.0000$.

Обязательным элементом многофакторного анализа является вычисление частных коэффициентов

коэффициентов корреляции r_{part} , отражающих степень линейной взаимосвязи между двумя переменными (зависимой и независимой), рассчитанную после устранения влияния всех других независимых переменных [26]. Установлено, что частный коэффициент корреляции уменьшается по сравнению с полным парным коэффициентом корреляции (уравнения (4), (5), (8) и (6), (7), (9)), а следовательно, один аргумент, который исключили из регрессии, не маскирует истинную взаимосвязь между функцией и вторым аргументом,

оставшимся в линейной зависимости. Для выбранной и статистически аргументированной модели построен трехмерный график зависимости между параметром АРА фенолов и их квантово-химическими дескрипторами (рис. 4).

На этапе формирования прогностической модели двухфакторные регрессии объединяли в систему уравнений, связанную с кинетической схемой, которая реализуется в заданной реакционной среде. Полученная комплексная взаимосвязь в общем виде представлена на схеме 1:

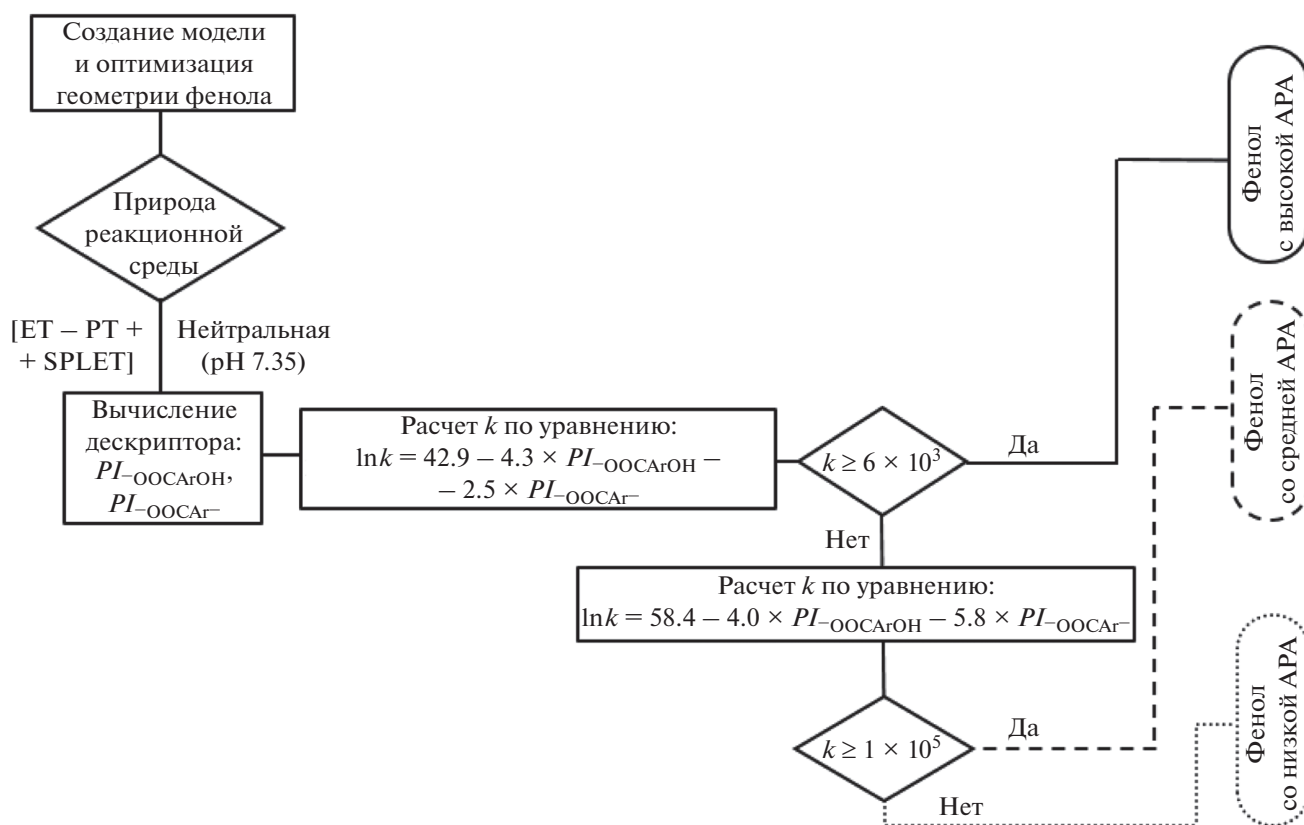


Схема 1. Алгоритм скрининга природных фенольных антиоксидантов в средах с физиологическим рН на основе прогностической регрессионно-классификационной модели “дескриптор–активность”.

Такой подход в области исследования природных фенольных антиоксидантов был реализован впервые и позволил сформировать новую регрессионно-классификационную модель скрининга фенолкарбоновых кислот по АРА.

Рассмотрим принцип отбора антиоксидантов в рамках предложенной регрессионно-классификационной модели. Вначале проводят неэмпирический расчет химической структуры фенольного антиоксиданта в нейтральной водной среде. За-

тем по вычисленному механизм-зависимому дескриптору с помощью уравнений регрессии прогнозируют константу скорости реакции с различными радикалами. На первом этапе оценки применяют уравнение для расчета константы скорости реакции фенолов с радикалом DPPH^{\cdot} . Если прогнозируемая величина константы больше, чем у эталонного АО тролокса, то исследуемое соединение относится к группе веществ с высокой активностью. На втором этапе антирадикальные

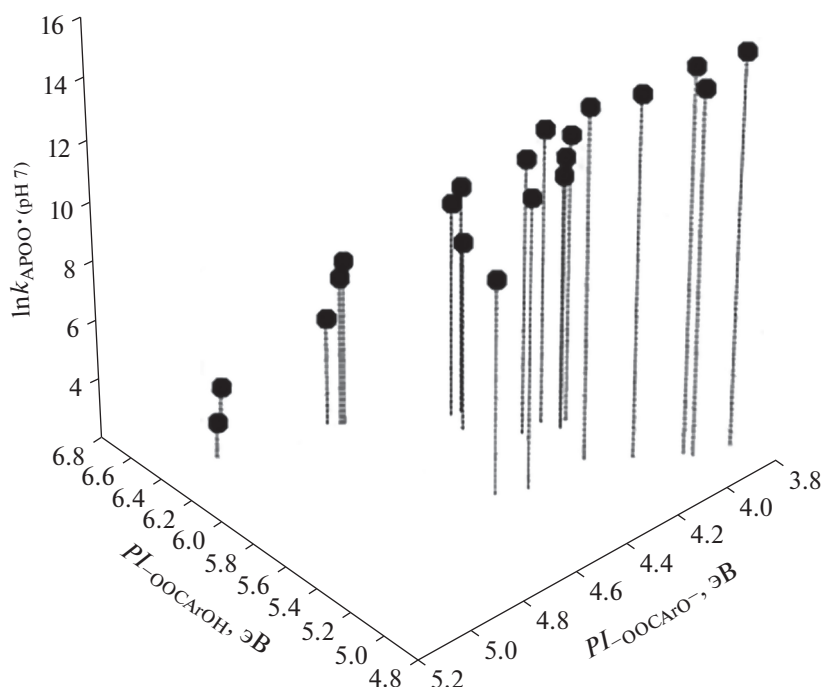


Рис. 4. 3D-график зависимости $\ln k_{APOO\cdot(pH7)}$ от $PI_{-OOCAsO\cdot}$, $PI_{-OOCAsO\cdot}^{\ominus}$, построенный в системе Statistica Demo 6.

свойства оставшихся соединений проверяют с О-центрированным радикалом $APOO\cdot$ и по результатам сравнения с тролоксом фенолы разбивают еще на две группы – вещества со средней и низкой АРА.

Прогностическую способность предложенной модели проверяли на контрольной группе веществ, коими являются гидроксиацетофеноны – растительные фенолы, которые имеют близкую к фенолкарбоновыми кислотами структуру, не относятся к известным антиоксидантам и не входят в исследованную ранее группу веществ.

Следуя логике алгоритма (схема 1), по рассчитанным SPLET- и ET-PT-зависимым дескрипторам с помощью двухфакторного уравнения (8) были вычислены константы $k_{DPPH\cdot(pH7)}^{расч}$ скорости реакции $AsAgOH$ с $DPPH\cdot$ (табл. 2).

Для всех изученных $AsAgOH$ значения констант $k_{DPPH\cdot(pH7)}^{расч}$ низкие, они менее активны, чем эталонный антиоксидант – тролокс $\left(\left(\frac{k_{DPPH\cdot(pH7)}}{k_{Tx}^{расч}} \right) < 1 \right)$, а значит, среди них нет фенолов с высокой АРА.

Тогда, согласно предложенной модели, исследуемая выборка в полном объеме переходит на

второй этап скрининга в реакции с $APOO\cdot$ (табл. 2). В этом случае прогнозируемая константа $k_{APOO\cdot(pH7)}^{расч}$ значительно возрастает по сравнению с константой для гидразильного радикала $k_{DPPH\cdot(pH7)}^{расч}$, но по-прежнему ни один из представленных $AsAgOH$ по своей АРА не превышает таковую у тролокса. Только одно соединение **XXV** (2,5-гидроксиацетофенон) потенциально может проявить активность в два раза ниже, чем у тролокса. Результаты прогноза таковы, что с большой долей вероятности в средах с физиологическим рН гидроксиацетофеноны будут обладать низкой активностью в реакции со свободными радикалами. Примечательно, что прогностическая (табл. 2) и эмпирическая (табл. 1) оценки совпадают. Хорошие сходимости предсказанных и экспериментальных констант, а также низкие погрешности аппроксимации, не выше 10–12%, подтверждают высокую прогностическую способность предложенной регрессионно-классификационной модели.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе путем комбинирования методов DFT и QSPR предложены алгоритмы поиска и расчета механизм-зависимых дескрипторов молекулярных и ионных форм фенолкарбо-

новых кислот. Эмпирический параметр активности вещества, то есть константы скоростей реакций фенолов с радикалами, определяли по специально выбранным методологиям, повышающим точность измеряемых величин. Впервые получены готовые системы полуэмпирических уравнений, связанные с кинетическими схемами и позволяющие одновременно количественно оценить АРА природных фенолов и разделить их на группы веществ с разной реакционной способностью. При создании новой регрессионно-классификационной модели с высокой прогностической способностью использовали комплексный подход “среда–механизм–дескриптор–активность”, что позволяет решить одну из главных проблем методологии QSAR – учет данных о механизме проявления активности вещества, а также найти новые направления в области традиционного моделирования “структура–активность” и улучшить прогностическую способность получаемых моделей.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Перевозкина М.Г.* Тестирование антиоксидантной активности полифункциональных соединений кинетическими методами. Новосибирск: СибАК, 2014. 240 с.
2. *Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А.* Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. Москва: Слово, 2006. 556 с.
3. *Galano A., Perez-Gonzalez A.* // *Theor. Chem. Accounts.* 2012. V. 131. № 9. Art. 1265.
4. *Marković Z., Đorović J., Dimitrić Marković J.M., Živić M., Amić D.* // *Monatsh. Chem.* 2014. V. 145. № 6. P. 953.
5. *Xiao Z., Wang Y., Wang J., Li P., Ma F.* // *Food Chem.* 2019. V. 275. P. 354.
6. *Chen J., Yang J., Ma L., Li J., Shahzad N., Kim C.K.* // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. Art. 2611.
7. *Habibpour E., Ahmadi S.* // *Curr. Comput.-Aid. Drug.* 2017. V. 13. № 2. P. 143.
8. *Jorge E.G., Rayar A.M., Barigye S.J., Rodríguez M.E.J., Veitia M.S.-I.* // *Int. J. Mol. Sci.* 2016. V. 17. № 6. Art. 881.
9. *Todeschini R., Consonni V.* *Molecular descriptors for chemoinformatics.* Weinheim: Wiley-VCH, 2009. 967 p.
10. *Белая Н.И., Белый А.В., Щербаков И.Н.* // *Кинетика и катализ.* 2020. Т. 61. № 3. С. 334. (*Belaya N.I., Belyi A.V., Shcherbakov I.N.* // *Kinet. catal.* 2020. V. 61. № 3. P. 360.)
11. *Рабинович В.А., Хавин З.Я.* *Краткий химический справочник.* Ленинград: Химия, 1991. 432 с.
12. *Armarego W.L.F., Chai C.L.L.* *Purification of Laboratory Chemicals.* Burlington: Elsevier Science, 2003. 608 p.
13. *Сухарев А.Г., Тимохов А.В., Федоров В.В.* *Курс методов оптимизации.* Москва: ФИЗМАТЛИТ, 2005. 368 с.
14. *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. (*Belaya N.I., Belyi A.V., Zarechnaya O.M., Shcherbakov I.N., Pomeshchenko A.I., Gorban' O.A.* // *Kinet. Catal.* 2019. V. 60. № 1. P. 28.)
15. *Шляпникох В.Я., Карпунин О.Н., Постников Л.М., Захаров И.П., Вичутинский А.А., Цепалов В.Ф.* *Хемилюминесцентные методы исследования медленных химических процессов.* Москва: Наука, 1966. 300 с.
16. *Stefek M., Kyselova Z., Rackova L., Krizanova L.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 2005. V. 1741. P. 183.
17. *Rackova L., Stefek M., Majekova M.* // *Redox Report.* 2002. V. 7. P. 207.
18. *Беляков В.А., Васильев Р.Ф., Федорова Г.Ф.* // *Кинетика и катализ.* 2004. Т. 45. № 3. С. 355.
19. *Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B., Scuseria G.E., Robb M.A., Cheeseman J.R., Scalmani G., Barone V., Mennucci B., Petersson G.A., Nakatsuji H., Caricato M., X.Li, Hratchian H.P., Izmaylov A.F. et al.* *Gaussian 09, Revision B.01* Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2010.
20. *Weinberg D.R., Gagliardi C.J., Hull J.F., Murphy C.F., Kent C.A., Westlake B., Paul A., Ess D.H., McCafferty G.D., Meyer T.J.* // *Chem. Rev.* 2007. V. 107. № 11. P. 5004.
21. *Tomasi J., Mennucci B., Cammi R.* // *Chem. Rev.* 2005. V. 105. № 8. P. 2999.
22. *Rappe A.K., Casewit C.J., Colwell K.S., Goddard W.A., Skiff W.M.* // *J. Am. Chem. Soc.* 1992. V. 114. № 25. P. 10024.
23. *Elyashberg M., Williams A., Blinov K.* *Contemporary Computer-Assisted Approaches to Molecular Structure Elucidation.* Cambridge: RSCPublishing, 2012. 469 p.
24. Marvin 18.14.0. ChemAxon (<https://www.chemaxon.com>).
25. *Tošović J., Marković S.* // *Food Chem.* 2019. V. 278. P. 469.
26. *Боровиков В.П.* *Популярное введение в современный анализ данных в системе STATISTICA.* Москва: Горячая линия–Телеком, 2013. 288 с.
27. *Galano A., Alvarez-Idaboy J.R.* // *Int. J. Quantum. Chem.* 2019. V. 119. № 2. Art. e25665.
28. *Belaya N.I., Belyi A.V., Zarechnaya O.M., Shcherbakov I.N., Doroshkevich V.S.* // *Russ. J. Gen. Chem.* 2020. V. 90. № 1. P. 23.

Two-Factor Predictive Model of the Antiradical Activity of Hydroxybenzoic Acids in Media with Physiological pH

N. I. Belaya¹, *, A. V. Belyi¹, I. N. Shcherbakov², and E. A. Budnikova¹

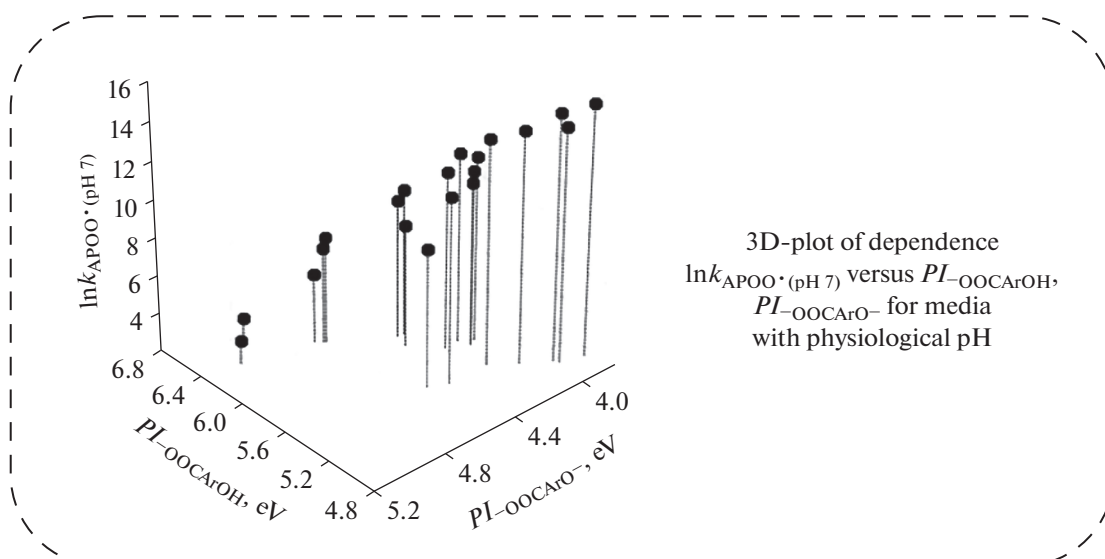
¹Donetsk National University, Universitetskaya str., 24, Donetsk, 283001 Ukraine

²Southern Federal University, Bolshaya Sadovaya str. 105/42, Rostov-on-Don, 344006 Russia

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

A regression classification algorithm for the screening of natural hydroxybenzoic acids on the antiradical activity in media with physiological pH is proposed. Model is based on the combination of two-factor linear regressions “descriptor–activity” and specialized kinetic reaction scheme. The developed model solves the problem of simultaneous quantitative assessment of the activity of phenolcarboxylic acids and their separation into groups of substances with high, medium and low reactivity. Its high predictive ability was proved by studying the rate constants of radical oxidation reactions of the control group of substances (hydroxyacetophenones) with nitrogen- and oxygen-centered radicals, the relative approximation error does not exceed 12%.

Graphic abstract



Keywords: hydroxybenzoic acids, antioxidant, 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl, amidinoisopropane peroxy