

## ФАКТОРНЫЙ АНАЛИЗ СВЯЗИ ХИМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ И АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПРИРОДНЫХ ФЕНОЛОВ

© Н. И. Белая

Донецкий национальный университет,  
83001, г. Донецк, ул. Университетская, д. 24  
E-mail: nat.iv.belaya@gmail.com

Поступила в Редакцию 21 июня 2019 г.  
После доработки 5 сентября 2019 г.  
Принята к публикации 27 сентября 2019 г.

*Методами линейного многофакторного регрессионного анализа установлена связь между антирадикальной активностью различных классов растительных фенолов и дескрипторами их электронного строения в виде полуэмпирических линейных одно- и двухфакторных уравнений. Проведена оценка предсказательной способности полученной модели на контрольной выборке, средняя ошибка аппроксимации составила не более 6.5%. Полученная взаимосвязь дескриптор–активность является основой для прогнозирования антирадикальных свойств природных фенолов различной структуры в полярных средах.*

Ключевые слова: антирадикальная активность; природные фенолы; антиоксидант

DOI: 10.31857/S0044461820010144

Изучение антиоксидантов природного и синтетического происхождения проводится по двум направлениям: 1) расширение ассортимента (синтез) соединений, обладающих выраженными антиоксидантными свойствами; 2) поиск и исследование кинетических моделей для оценки эффективности антиоксидантов и изучения механизмов их действия. Для физикохимиков принципиально важно второе направление, развитие которого позволит надежно определять эффективные ингибиторы радикальных процессов среди постоянно возрастающего количества новых антиоксидантов.

Особое место среди методов оценки реакционной способности веществ и изучения механизма их действия занимают полуэмпирические модели прогнозирования различных видов биологической активности на основе качественной взаимосвязи структура–реакционная способность вещества SAR (Structure–

Activity Relationships) [1] и количественной взаимосвязи структура–реакционная способность вещества QSAR/QSPR (Quantitative Structure–Activity/Property Relationships) [2, 3] в виде линейных регрессионных уравнений. В случае QSAR/QSPR при выборе антиоксиданта используют 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 активности антиоксиданта от показателя его структуры есть сложная комплексная задача, которая требует учета ряда факторов: выбора модельной реакции (или реакций), экспериментального определения показателя реакционной способности антиоксиданта, установления

возможного антирадикального механизма действия вещества, выбора дескриптора структуры, который определяется тем, в какой форме антиоксидант участвует в лимитирующей стадии реакции. Очевидно, что все перечисленные факторы взаимосвязаны между собой и требуют обязательного учета при составлении полуэмпирической модели скрининга, основанной на одно- или многофакторных зависимостях реакционной способности вещества от его структуры.

Цель данной работы — проведение факторного анализа связи дескрипторов электронного строения природных фенолов (ArOH) и их антирадикальной активности (АРА) в реакции со стабильным радикалом 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразилом (DPPH<sup>•</sup>), а также оценка прогностической способности полученной линейной многофакторной модели.

### Экспериментальная часть

В качестве объектов исследования использовались соединения № 9–43, 8 без предварительной очистки (производства Fluka, Швейцария; Merck, Германия; Panreac, Испания), гидроксibenзола № 1–7 марки х.ч. (производство Merck, Германия), которые подвергались многократной перекристаллизации из этилового спирта и сушились при 40°C в атмосфере азота, после чего сублимировались в вакууме. Подбор природных антиоксидантов осуществлялся таким образом, чтобы вещества каждого предыдущего класса были структурными элементами более сложных последующих групп фенолов. Модельным радикалом являлся свободный стабильный радикал DPPH<sup>•</sup> (производство Sigma-Aldrich, США). Растворитель — 96%-ный этанол — предварительно деоксигенировался путем барботирования аргоном в течение 15–20 мин для предотвращения побочных реакций

с участием кислорода воздуха. Спектральные исследования проводили при  $T = 293 \pm 2$  К и концентрации реагирующих веществ  $10^{-4}$ – $10^{-5}$  моль·л<sup>-1</sup> при  $\lambda_{\text{max}} = 520$  нм на спектрофотометре Specord S300 UV-VIS (производство Analytik Jena AG, Германия). Константы скоростей реакции ArOH с DPPH<sup>•</sup> определяли из зависимости изменения концентрации радикала во времени. Для этого реагенты смешивали 1:1, затем измеряли оптическую плотность смеси (1:1) и с помощью молярного коэффициента светопоглощения ( $\epsilon = 1.2 \cdot 10^3$  л·моль<sup>-1</sup>·мм<sup>-1</sup>) по закону Бугера–Ламберта–Бера рассчитывали концентрацию радикала DPPH<sup>•</sup>. Для поддержания постоянного pH водных растворов использовали солянокислую (с pH 1.5) и борно-щелочную (с pH 9) буферные системы. pH приготовленных буферных растворов контролировали с помощью иономера И-160МИ (производства ООО Измерительная техника, Россия).

### Обсуждение результатов

Нами изучались только начальные участки (до 15–60 с) кинетических кривых расходования концентрации DPPH<sup>•</sup> (рис. 1, а), позволяющие оценить активность ArOH в элементарной реакции с радикалом. Установлен первый псевдопорядок по ArOH при условии, что его концентрация в реакционной смеси была в 20 раз меньше по сравнению с DPPH<sup>•</sup>. Аналогично определен первый псевдопорядок по радикалу. Общий порядок реакции (при эквивалентном соотношении реагентов) подтверждался путем спрямления данных в координатах реакции 2-го порядка (рис. 1, б). АРА фенолов характеризовалась величиной константы скорости исследуемой реакции  $k$ , рассчитанной по угловому параметру полученных анаморфоз.

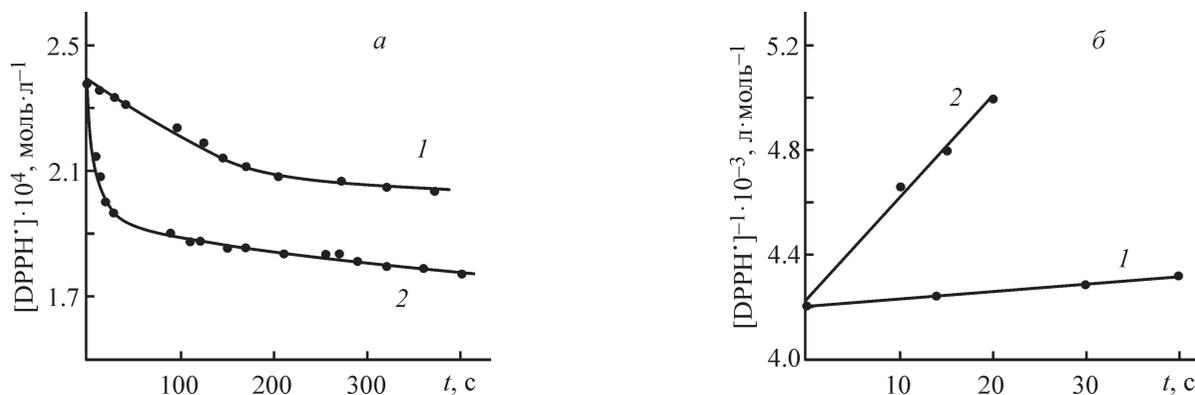


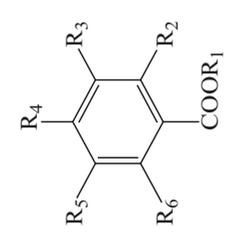
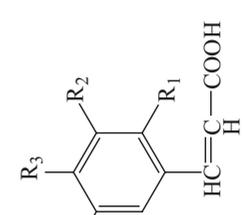
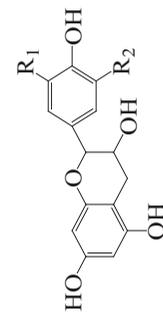
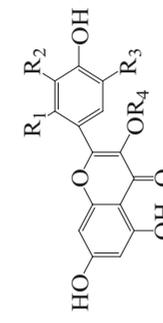
Рис. 1. Кинетические кривые расходования DPPH<sup>•</sup> в реакции с природными фенолами (а) и их анаморфозы в координатах реакции второго порядка (б).

1 — резорцин ( $c = 2.38 \cdot 10^{-4}$  моль·л<sup>-1</sup>), 2 — кемферол ( $c = 2.38 \cdot 10^{-4}$  моль·л<sup>-1</sup>).

Таблица 1

Экспериментальные значения констант скоростей ( $k$ ) реакции  $\text{AgOH}$  с  $\text{DRPH}^*$  и расчетные величины потенциалов ионизации молекул фенолов ( $\text{PI}_{\text{AgOH}}$ ) и соответствующих фенолят-ионов ( $\text{PI}_{\text{AgO}^{(2-+)}}$ ), образующихся по I или II ступени диссоциации  
Среда — этанол, модель Polarizable Continuum Model

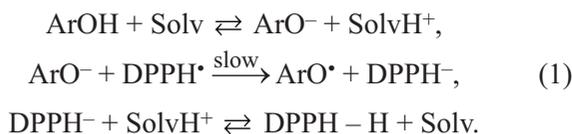
№ соединения	Соединение	Заместитель	Структура	$k$ , л·моль <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup>	O—H*	$\text{PI}_{\text{AgO}^{(2-)}}$	
						кДж·моль <sup>-1</sup>	$\text{PI}_{\text{AgOH}}$
Гидроксибензолы							
1	Пирокатехин	$\text{R}_1=\text{OH}, \text{R}_2=\text{R}_3=\text{R}_4=\text{H};$		$(5.55 \pm 0.26) \cdot 10^2$	1	405	581
2	Резорцин	$\text{R}_2=\text{OH}, \text{R}_1=\text{R}_3=\text{R}_4=\text{H};$		$5.85 \pm 0.27$	1	428	592
3	Ордин	$\text{R}_1=\text{R}_3=\text{H}, \text{R}_2=\text{OH}, \text{R}_4=\text{CH}_3;$		$10.2 \pm 0.5$	1	425	587
4	Гидрохинон	$\text{R}_3=\text{OH}, \text{R}_1=\text{R}_2=\text{R}_4=\text{H};$		$(1.65 \pm 0.04) \cdot 10^3$	1	393	559
5	4-Метоксифенол	$\text{R}_3=\text{OCH}_3, \text{R}_1=\text{R}_2=\text{R}_4=\text{H};$		$(2.48 \pm 0.14) \cdot 10^3$	1	390	550
6	Пирогаллол	$\text{R}_1=\text{R}_2=\text{OH}, \text{R}_3=\text{R}_4=\text{H};$		$(1.47 \pm 0.03) \cdot 10^3$	2	403	579
7	Флороглоцин	$\text{R}_2=\text{R}_4=\text{OH}, \text{R}_1=\text{R}_3=\text{H};$		$3.92 \pm 0.21$	1	434	594
8	Оксигидрохинон	$\text{R}_1=\text{R}_3=\text{OH}, \text{R}_2=\text{R}_4=\text{H}$		$(2.19 \pm 0.14) \cdot 10^3$	2	399	556
Гидроксибензойные кислоты							
Моногидроксибензойные кислоты							
9	Салициловая	$\text{R}_2=\text{OH}, \text{R}_1=\text{R}_3=\text{R}_4=\text{H};$		$22.5 \pm 1.5$	2	420	592
10	3-Метилсалициловая	$\text{R}_2=\text{OH}, \text{R}_3=\text{CH}_3, \text{R}_1=\text{R}_4=\text{H};$		$27 \pm 1.6$	2	419	590
11	Метил-3-метилсалицилат	$\text{R}_2=\text{OH}, \text{R}_3=\text{CH}_3, \text{R}_1=\text{CH}_3, \text{R}_4=\text{H};$		$33.1 \pm 1.9$	2	419	589
12	3-Гидроксибензойная	$\text{R}_3=\text{OH}, \text{R}_1=\text{R}_2=\text{R}_4=\text{H};$		$84 \pm 4$	3	417	584
13	4-Гидроксибензойная	$\text{R}_4=\text{OH}, \text{R}_1=\text{R}_2=\text{R}_3=\text{H};$		$54 \pm 3$	4	418	581
14	Этил-4-гидроксибензоат	$\text{R}_4=\text{OH}, \text{R}_2=\text{R}_3=\text{H}, \text{R}_1=\text{C}_2\text{H}_5$		$62 \pm 3$	4	418	580
Дигидроксибензойные кислоты							
15	Пирокатеховая	$\text{R}_2=\text{R}_3=\text{OH}, \text{R}_1=\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_6=\text{H};$		$(9.6 \pm 0.3) \cdot 10^2$	3	403	562
16	$\beta$ -Резорциловая	$\text{R}_2=\text{R}_4=\text{OH}, \text{R}_1=\text{R}_3=\text{R}_5=\text{R}_6=\text{H};$		$17.2 \pm 1.2$	4	426	578
17	Метил- $\beta$ -резорцилат	$\text{R}_2=\text{R}_4=\text{OH}, \text{R}_1=\text{OCH}_3, \text{R}_3=\text{R}_5=\text{R}_6=\text{H};$		$20.8 \pm 1.2$	4	426	576
18	Гентизиновая	$\text{R}_2=\text{R}_5=\text{OH}, \text{R}_1=\text{R}_3=\text{R}_4=\text{R}_6=\text{H};$		$(2.32 \pm 0.14) \cdot 10^3$	5	393	555
19	$\gamma$ -Резорциловая	$\text{R}_2=\text{R}_6=\text{OH}, \text{R}_1=\text{R}_3=\text{R}_4=\text{R}_5=\text{H};$		$4.43 \pm 0.25$	2	435	593
20	Протокатеховая	$\text{R}_3=\text{R}_4=\text{OH}, \text{R}_1=\text{R}_2=\text{R}_5=\text{R}_6=\text{H};$		$(2.04 \pm 0.14) \cdot 10^3$	3	401	561
21	$\alpha$ -Резорциловая	$\text{R}_3=\text{R}_5=\text{OH}, \text{R}_1=\text{R}_2=\text{R}_4=\text{R}_6=\text{H};$		$14.1 \pm 1.1$	3	427	586
22	Ванилиновая	$\text{R}_3=\text{OCH}_3, \text{R}_4=\text{OH}, \text{R}_1=\text{R}_3=\text{R}_5=\text{R}_6=\text{H}$		$10.3 \pm 0.5$	4	428	585

		Тригидроксibenзойные кислоты					
23	3-Пирогаллолкарбоновая	$R_2=R_3=R_4=OH, R_5=R_1=R_6=H;$		$(2.96 \pm 0.15) \cdot 10^3$	3	389	559
24	Галловая	$R_3=R_4=R_5=OH, R_2=R_1=R_6=H;$		$(2.53 \pm 0.14) \cdot 10^3$	4	392	560
25	Сиреневая	$R_3=R_5=OCH_3, R_4=OH, R_2=R_1=R_6=H;$		$(1.49 \pm 0.03) \cdot 10^3$	4	406	571
26	Метилгаллат	$R_3=R_4=R_5=OH, R_2=R_6=H, R_1=OCH_3;$		$(2.66 \pm 0.14) \cdot 10^3$	4	391	559
27	Этилгаллат	$R_3=R_4=R_5=OH, R_2=R_6=H, R_1=OCH_2CH_3;$		$(2.97 \pm 0.15) \cdot 10^3$	4	391	558
28	Флороглюцинкарбоновая	$R_2=R_4=R_6=OH, R_5=R_1=R_3=H$		$12.9 \pm 1.1$	4	427	582
Гидроксикоричные кислоты							
29	o-Кумаровая	$R_1=OH, R_2=R_3=R_4=H;$		$(1.83 \pm 0.04) \cdot 10^2$	2	412	582
30	m-Кумаровая	$R_2=OH, R_1=R_3=R_4=H;$		$(2.32 \pm 0.14) \cdot 10^2$	3	410	580
31	n-Кумаровая	$R_3=OH, R_1=R_2=R_4=H;$		$(2.08 \pm 0.13) \cdot 10^2$	4	411	581
32	Кофейная	$R_2=R_3=OH, R_1=R_4=H;$		$(2.42 \pm 0.14) \cdot 10^3$	3	393	565
33	Феруловая	$R_2=OCH_3, R_3=OH, R_1=R_4=H;$		$(2.02 \pm 0.13) \cdot 10^3$	4	396	564
34	Синаповая	$R_2=R_4=OCH_3, R_3=OH, R_1=H$		$(1.58 \pm 0.03) \cdot 10^3$	4	402	569
Флавоноиды и их гликозиды							
Флаванолы-3 (катехины)							
35	Катехин	$R_1=OH, R_2=H;$		$59 \pm 3$	3'	413	578
36	Галлокатехин	$R_1=R_2=OH$		$65 \pm 3$	4'	412	576
Флавонолы							
37	Кемпферол	$R_1=R_2=R_3=R_4=H;$		$(3.26 \pm 0.21) \cdot 10^2$	7	409	571
38	Кверцетин	$R_2=OH, R_1=R_4=R_3=H;$		$(7.9 \pm 0.3) \cdot 10^2$	7	410	569
39	Изорафлетин	$R_2=OCH_3, R_1=R_3=R_4=H;$		$(7.6 \pm 0.3) \cdot 10^2$	7	411	571
40	Морин	$R_1=OH, R_2=R_3=R_4=H;$		$(1.47 \pm 0.03) \cdot 10^3$	7	406	561
41	Мирицетин	$R_2=R_3=OH, R_1=R_4=H;$		$(8.4 \pm 0.4) \cdot 10^2$	7	410	566
42	Кверцигрин	$R_2=OH, R_1=R_3=H, R_4=L$ -рамноза;		$(7.4 \pm 0.3) \cdot 10^2$	7	411	567
43	Рутин	$R_2=OH, R_1=R_3=H, R_4=r$ рутиноза		$(6.9 \pm 0.3) \cdot 10^2$	7	412	564

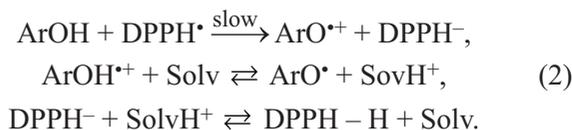
\* Положение O-N-группы в молекуле фенола, по которой образуется фенолят-ион при диссоциации по I (для гидроксibenзолов и флавоноидов) или II (для гидроксibenзойных и гидроксикоричных кислот) ступени.

В этаноле при 293 К все изученные соединения в той или иной мере проявляют антирадикальную активность (табл. 1). Наибольшее количество соединений, активных в реакции с DPPH•, принадлежит к группе фенольных кислот с двумя и тремя OH-группами: № 18, 20, 23–27, 32–34. Слабо реагируют с радикалом все моногидроксibenзойные кислоты № 9–14, *m*-гидроксibenзолы № 2, 3, 7, а также флаваны № 35, 36.

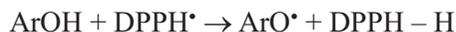
В этаноле (Solv) представленные фенольные соединения частично диссоциируют с последующей лимитирующей (slow) стадией переноса электрона от образующегося фенолят-иона (ArO<sup>-</sup>) (Sequential Proton Loss Electron Transfer, SPLET) [4, 5]:



Непродиссоциировавшие молекулы ArOH могут дезактивировать DPPH• по механизму последовательного переноса электрона с последующей потерей протона (Electron Transfer–Proton Transfer, ET–PT) [6]:



Механизм переноса атома H (Hydrogen Atom Transfer, HAT) с участием ArOH



не рассматривался, поскольку вероятность его реализации велика только в неполярных средах, что подтверждается как литературными данными [5, 7], так и проведенными ранее исследованиями [8].

Определить, какой из двух параллельных механизмов — SPLET или ET–PT является доминирующим и определяет скорость реакции в целом, можно путем добавки к реакционной смеси в этаноле буферного раствора с низким pH.

На примере галловой кислоты показано (рис. 2), что при проведении реакции в этаноле с добавкой солянокислого буферного раствора (pH 1.5) скорость исследуемой реакции резко уменьшается вследствие подавления процесса диссоциации ArOH и снижения концентрации ионных форм, более активных в реакции с гидразильным радикалом, чем нейтральные молекулы [9]. Напротив, замена кислого на борно-щелочной (с pH 9) буферный раствор приводит к резкому увеличению скорости расходования радикала в присутствии ArOH.

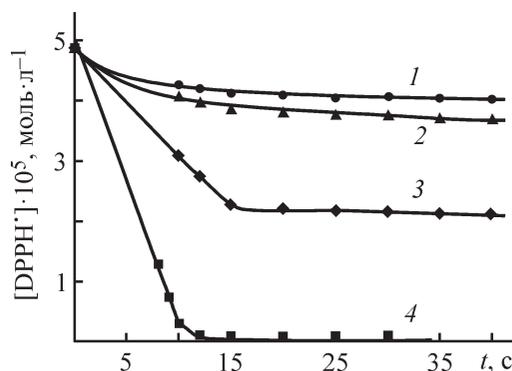


Рис. 2. Влияние добавок солянокислого буферного раствора с pH 1.5 на кинетику расходования DPPH• в реакции с галловой кислотой ( $c = 4.9 \cdot 10^{-5}$  моль · л<sup>-1</sup>) в этаноле.

Содержание этанола (об%): 1 — 60, 2 — 50, 3 — 20, 4 — 0.

Таким образом, зависимость скорости исследуемой реакции ArOH с DPPH• от pH среды подтверждает, что в этаноле преобладает механизм SPLET (1).

Квантово-химическим дескриптором, связанным с реализацией механизма SPLET, является потенциал ионизации фенолят-иона, который непосредственно участвует в лимитирующей стадии реакции (2). Концентрация такого фенолята в реакционной смеси должна быть максимальна по сравнению с другими ионными формами, а значит, он образуется либо по I ступени (ArO<sup>-</sup> для собственно фенольных соединений — гидроксibenзолы, гидроксiacетофеноны, флавоноиды), либо по II ступени диссоциации (ArO<sup>2-</sup> для карбоксилсодержащих фенолов — гидроксibenзойные и гидроксикоричные кислоты).

Нередко при исследовании механизма SPLET рассчитывается энтальпия ионизации аниона антиоксиданта без учета его доли в системе [10] либо для прогнозирования АРА вещества используется только его константа диссоциации [11], что не позволяет полностью учесть все факторы, влияющие на реакционную способность соединения.

В данной работе поиск и расчет структуры фенолята, участвующего в лимитирующей стадии реакции, осуществлялся следующим образом: вначале методом QSPR в программном пакете Marvin 16.1.11 рассчитывали отрицательные десятичные логарифмы констант диссоциации изученных веществ  $pK_a = -\lg K_a$  (водная среда,  $T = 298$  К), по величинам которых определяли группы O–H, диссоциирующие по I или II ступени, а затем квантово-химическим методом рассчитывали значения адиабатических потенциалов ионизации образующихся ионов в среде этанола:

$$PI_{ArO^{-(et)}} = H_{ArO^{\bullet}} - H_{ArO},$$

где  $H_{ArO^{\bullet}}$ ,  $H_{ArO}$  — полные энтальпии фенокислородного радикала и соответствующего фенолят-иона;

$$PI_{ArO^{2-(et)}} = H_{ArO^{\bullet-}} - H_{ArO^{2-}},$$

где  $H_{ArO^{\bullet-}}$ ,  $H_{ArO^{2-}}$  — полные энтальпии анион-радикала и соответствующего биона фенольной кислоты.

Скорость реакции молекул ArOH с радикалом, протекающей по механизму ET-PT (2), будет зависеть от их потенциала ионизации, рассчитанного по формуле

$$PI_{ArOH} = H_{ArOH^{+\bullet}} - H_{ArOH},$$

где  $H_{ArOH^{+\bullet}}$ ,  $H_{ArOH}$  — полные энтальпии катион-радикала и молекулы фенола.

Термохимические характеристики реагентов и продуктов реакции DPPH $\cdot$  с ArOH рассчитывали в рамках теории функционала плотности (DFT) с использованием гибридного функционала B3LYP в программе Gaussian 09. Выбор B3LYP обусловлен опубликованными данными [8, 12] об успешном применении этого функционала для соединений фенольного типа. Поиск основных конформеров предварительно осуществлялся в рамках полумпирического метода PM6. Структуры с самой низкой

электронной энергией использовались в качестве начального приближения для расчета на уровне B3LYP/6-311++G(d,p). Геометрия всех структур была оптимизирована по всем независимым переменным без ограничений по симметрии. Все полученные результаты относятся к основному состоянию и стандартным условиям ( $T = 298$  К,  $P = 1$  атм). Первичные расчеты проводились в газовой фазе, а затем использовались в качестве основы для полной оптимизации геометрии реагентов и продуктов реакции с учетом влияния растворителя (этанола) с применением подхода поляризуемого континуума PCM [13]. Для всех равновесных структур был проведен гармонический колебательный анализ с целью тестирования на соответствие минимуму.

В этаноле как амфипротонном растворителе, склонном к ионизации веществ, а также при низких рабочих концентрациях антиоксидантов фенолят-ионы будут образовываться в количестве, достаточном для участия в лимитирующей стадии по механизму SPLET (1). Об этом свидетельствует как зависимость скорости исследуемой реакции от pH среды (рис. 2), так и более высокая корреляция (рис. 3) антирадикальной активности ( $\ln k$ ) изученных фенолов с расчетными значениями  $PI_{ArO^{(2-)}}$  [уравнение (3)] по сравнению с  $PI_{ArOH}$  [уравнение (4)]:

$$\ln k = (71 \pm 3) - (15.9 \pm 0.8) \cdot 10^{-2} PI_{ArO^{(2-)}},$$

$$n = 43, r = 0.946, r^2 = 0.895, F = 349, p < 0.0000, S_{est} = 0.7, \quad (3)$$

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 истинно-

го углового коэффициента уравнения регрессии);  $S_{est}$  — стандартная ошибка оценки (или стандартное отклонение ошибок предсказания), является мерой точности величин, предсказанных по предложенной модели:

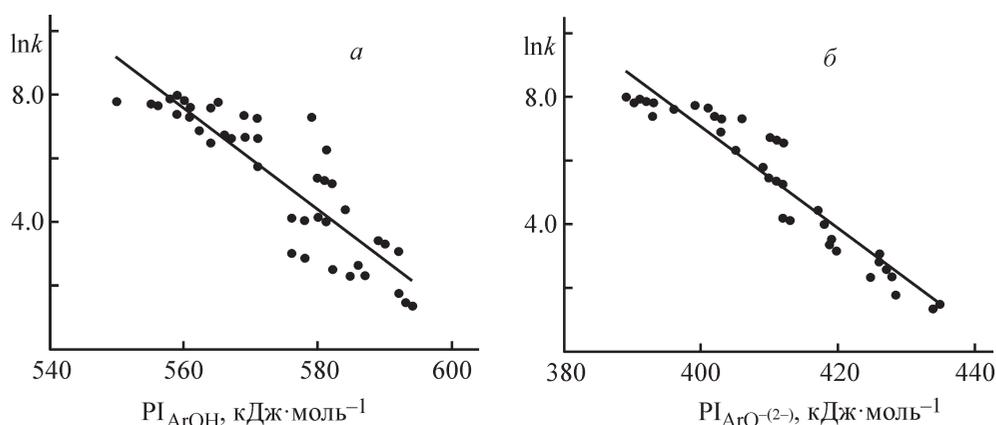


Рис. 3. Однофакторная линейная регрессионная зависимость логарифма экспериментальной константы скорости реакции DPPH $\cdot$  с ArOH от потенциала ионизации молекулы  $PI_{ArOH}$  (а) и биона  $PI_{ArO^{(2-)}}$  (б) фенола.

$$\ln k = (97 \pm 7) - (16.0 \pm 1.3) \cdot 10^{-2} \text{PI}_{\text{ArOH}},$$

$$n = 43, r = 0.888, r^2 = 0.789, F = 153, p < 0.0000, S_{\text{est}} = 1. \quad (4)$$

С ростом потенциалов ионизации фенолят-ионов реакционная способность антиоксидантов закономерно падает (рис. 3, б), что обусловлено, с точки зрения доминирования механизма SPLET, замедлением переноса электрона с иона на радикал. При этом по величине коэффициента корреляции  $r$  видно, что в этаноле влияние потенциала ионизации молекулы ArOH как дескриптора электронной структуры, определяющего механизм реакции, явно ниже, а значит, ET-PT можно считать параллельным конкурирующим, но не доминирующим механизмом.

Поскольку взаимосвязь между величинами потенциалов ионизации молекул и фенолят-ионов не превышает 0.8, был проведен множественный линейный

$$\ln k = (83 \pm 5) - (4.9 \pm 1.1) \cdot 10^{-2} \text{PI}_{\text{ArOH}} - (11.9 \pm 1.5) \cdot 10^{-2} \text{PI}_{\text{ArO}^{(2-)}}, \quad (5)$$

$n = 43; r = 0.960; r^2 = 0.922; F = 211; p < 0.0000; S_{\text{est}} = 0.6$ ; бета-коэффициенты:  $\text{PI}_{\text{ArOH}}\text{-beta} = 0.273$ ,  $\text{PI}_{\text{ArO}^{(2-)}}\text{-beta} = 0.709$ ; полные парные коэффициенты:  $r_{\ln k\text{-PI}_{\text{ArOH}}} = 0.888$ ,  $r_{\ln k\text{-PI}_{\text{ArO}^{(2-)}}} = 0.946$ ; частные коэффициенты:  $r_{(\text{partical})\ln k\text{-PI}_{\text{ArOH}}} = 0.419$ ,  $r_{(\text{partical})\ln k\text{-PI}_{\text{ArO}^{(2-)}}} = 0.768$ .

При этом значения бета-коэффициентов, позволяющих сравнить относительный вклад каждой независимой переменной в предсказание зависимой переменной, являются статистически значимыми и соответственно равны  $\text{PI}_{\text{ArOH}}\text{-beta} = 0.273$  и  $\text{PI}_{\text{ArO}^{(2-)}}\text{-beta} = 0.709$  [уравнение (5)]. Видно, что переменная  $\text{PI}_{\text{ArO}^{(2-)}}$  вносит больший вклад в изменение  $\ln k$ .

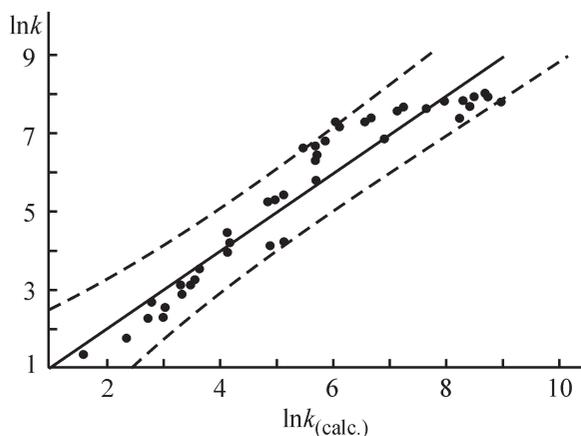


Рис. 4. Линейная регрессионная зависимость логарифма экспериментальной константы скорости реакции  $\text{DP RH} \cdot$  с ArOH от рассчитанного  $\ln k_{(\text{calc.})}$  по уравнению (5) при доверительной вероятности 95%.

регрессионный анализ в программе Statistica Demo 6.0, позволяющий установить корреляцию между двумя квантово-химическими дескрипторами и антирадикальной активностью фенолов.

Как видно [уравнение (5)] из значений множественного коэффициента корреляции ( $r = 0.960$ ) и детерминации ( $r^2 = 0.922$ ), выбранная линейная модель с двумя факторами  $\text{PI}_{\text{ArOH}}$  и  $\text{PI}_{\text{ArO}^{(2-)}}$  (независимыми переменными) адекватно описывает экспериментальные данные (рис. 4), и вариация зависимой переменной ( $\ln k$ ) на 96% может быть обусловлена вариацией независимых переменных.  $F$ -критерий Фишера проверки значимости линейной модели регрессии имеет высокое значение  $F = 211$ .

Далее проводили анализ частных коэффициентов корреляции, отражающих степень линейной взаимосвязи между двумя переменными, рассчитанную после устранения влияния всех других переменных. При этом следует учитывать, что если между двумя величинами частный коэффициент корреляции равен нулю или уменьшается по сравнению с полным парным коэффициентом корреляции, то 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. Как видно [уравнение (5)], при исключении переменной  $\text{PI}_{\text{ArO}^{(2-)}}$  коэффициент корреляции между зависимой переменной  $\ln k$  и независимой  $\text{PI}_{\text{ArOH}}$  уменьшается: полный и частный коэффициенты корреляции соответственно равны  $r_{\ln k\text{-PI}_{\text{ArOH}}} = 0.888$  и  $r_{\ln k\text{-PI}_{\text{ArO}^{(2-)}}} = 0.419$ . Такая же закономерность наблюдается и при исключении влияния переменной  $\text{PI}_{\text{ArOH}}$  на зависимую переменную  $\ln k$ : полный и частный коэффициенты корреляции соответственно равны  $r_{\ln k\text{-PI}_{\text{ArO}^{(2-)}}} = 0.946$  и  $r_{(\text{partical})\ln k\text{-PI}_{\text{ArO}^{(2-)}}} = 0.768$ . Таким образом, можно утверждать о наличии выраженной связи между  $\text{PI}_{\text{ArOH}}$ ,  $\text{PI}_{\text{ArO}^{(2-)}}$  и  $\ln k$ , об отсутствии маскирующего влияния независимых переменных одной на другую, а также о статистической значимости параметров уравнения регрессии. Высокий частный коэффициент корреляции между зависимой переменной  $\ln k$  и независимой  $\text{PI}_{\text{ArO}^{(2-)}}$  подтверждает вывод о большем влиянии этой переменной по сравнению с  $\text{PI}_{\text{ArOH}}$ ,

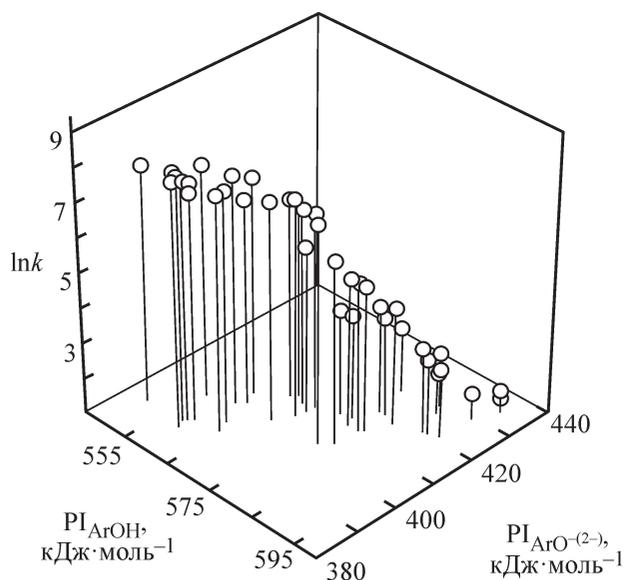


Рис. 5. Трехмерный график зависимости логарифма экспериментальной константы скорости реакции  $\text{DPPH}^\bullet$  с  $\text{ArOH}$  от потенциала ионизации молекулы  $\text{PI}_{\text{ArOH}}$  и биона  $\text{PI}_{\text{ArO}^{(2-)}}$  фенола, построенный в системе Statistica Demo 6.0.

сделанный на основе анализа *бета*-коэффициентов [уравнение (5)].

Величина толерантности для независимых переменных ( $1 - R^2$ , где  $R^2$  — квадрат коэффициента корреляции между  $\text{PI}_{\text{ArO}^{(2-)}}$  и  $\text{PI}_{\text{ArOH}}$ ), характеризующая их избыточный вклад в уравнение регрессии, равна 0.302, что отлично от нуля, а значит, указанные независимые переменные нельзя исключить из уравнения как лишние величины. Анализ остатков показал, что остатки имеют нормальное распределение, не наблюдается их упорядоченной зависимости от величин зависимой или независимых переменных, среднее остатков приближается к нулю ( $\approx 1.3 \cdot 10^{-8}$ ).

Для выбранной и статистически аргументированной модели можно построить трехмерный график зависимости между параметром антирадикальной активности фенолов ( $\ln k$ ) и их структурными квантово-химическими дескрипторами ( $\text{PI}_{\text{ArOH}}$  и  $\text{PI}_{\text{ArO}^{(2-)}}$ ) (рис. 5).

С учетом того что  $\text{PI}_{\text{ArOH}}$  является дескриптором для механизма  $\text{ET-PT}$ , а  $\text{PI}_{\text{ArO}^{(2-)}}$  — для  $\text{SPLET}$ , полученную многофакторную зависимость можно интерпретировать как дополнительное подтверждение протекания реакции  $\text{ArOH}$  с  $\text{DPPH}^\bullet$  в этаноле по двум параллельным механизмам  $\text{ET-PT}$  и  $\text{SPLET}$  с доминированием последнего.

Анализ взаимосвязи дескриптор–активность растительных фенолов показал, что в этаноле все изученные вещества способны дезактивировать ги-

дразильный радикал, что, по-видимому, связано с участием в реакции активных фенолят-ионов. При этом карбоксилсодержащие фенольные соединения с более выраженными кислотными свойствами проявляют наиболее высокую реакционную способность по отношению к  $\text{DPPH}^\bullet$ . Это обусловлено не только низкими потенциалами ионизации их молекул и фенолят-ионов (рис. 5), но и лучшей способностью к диссоциации. В зависимости от структуры фенолокислот их потенциалы ионизации изменяются следующим образом:

— величина  $k$  гидроксикоричных кислот выше, а  $\text{PI}_{\text{ArO}^{(2-)}}$  ниже, чем у соответствующих фенолкарбоновых кислот, за счет большей удаленности электроакцепторной 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 тригидроксibenзойные кислоты и их эфиры, фенолят-ионы которых имеют низкие значения потенциалов ионизации (№ 24, 23, 26, 27). Исключение составляет флороглюцинкарбоновая кислота (№ 28) с высоким  $\text{PI}_{\text{PhO}^{(2-)}}$ .

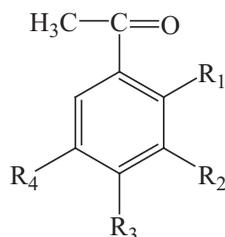
Большинство флавоноидов менее эффективны, чем тригидроксibenзойные кислоты. Особенно низкой АРА обладают флаваны, потенциалы ионизации их фенолят-ионов выше, чем у флавонолов, а значит, ионы соединений № 35 и 36 будут медленнее отдавать электрон в реакции с радикалом  $\text{DPPH}^\bullet$  по механизму  $\text{SPLET}$ .

При использовании методологии QSAR важно контролировать прогностическую способность построенных моделей. Один из наиболее надежных подходов к решению этой задачи состоит в использовании контрольной выборки. Последняя необходима для независимого контроля предсказательной способности моделей. Такой подход позволяет в большинстве случаев избежать случайных корреляций.

В качестве такой группы были использованы гидроксиацетофеноны № 44–50 (табл. 2) как соединения, относящиеся к природным растительным фенолам [14] и имеющие близкую с ними химическую структуру и одинаковый антирадикальный механизм действия. Гидроксиацетофеноны редко встречаются в растительных тканях, но при этом используются при исследовании окислительно-восстановительных свойств флавоноидов [15], поскольку моделируют

Таблица 2

Расчетные значения потенциалов ионизации молекул ( $PI_{ArOH}$ ) гидроксиацетофенонов и их фенолят-ионов ( $PI_{ArO^-}$ ), диссоциирующих по I ступени, а также экспериментальные ( $k$ ) и прогнозируемые константы ( $k_{calc}$ ) скорости их реакции с радикалом DPPH•



№ соединения	Соединение	$PI_{ArOH}$	$PI_{ArO^-}$ *	$k_{calc}^{**}$	$k$	$\Delta k$	$\bar{\Delta k}$
		кДж·моль <sup>-1</sup>		л·моль <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup>		%	
44	2-Гидроксиацетофенон ( $R_1=OH, R_2=R_3=R_4=H$ )	587	417	$1 \cdot 10^2$	$(1.13 \pm 0.03) \cdot 10^2$	10.3	6.5
45	3-Гидроксиацетофенон ( $R_2=OH, R_1=R_3=R_4=H$ )	580	411	$2.9 \cdot 10^2$	$(3.05 \pm 0.15) \cdot 10^2$	4.8	
46	4-Гидроксиацетофенон ( $R_3=OH, R_1=R_2=R_4=H$ )	583	413	$2 \cdot 10^2$	$(2.19 \pm 0.13) \cdot 10^2$	10.1	
47	2,4-Дигидроксиацетофенон ( $R_1=R_3=OH, R_2=R_4=H$ )	574	414a	$2.7 \cdot 10^2$	$(2.91 \pm 0.13) \cdot 10^2$	6.2	
48	2,5-Дигидроксиацетофенон ( $R_1=R_4=OH, R_2=R_3=H$ )	554	394b	$7.8 \cdot 10^3$	$(8.0 \pm 0.3) \cdot 10^3$	1.8	
49	3,4-Дигидроксиацетофенон ( $R_2=R_3=OH, R_1=R_4=H$ )	558	398c	$4 \cdot 10^3$	$(4.08 \pm 0.15) \cdot 10^3$	1.7	
50	3-Метокси-4-Гидроксиацетофенон ( $R_2=OCH_3, R_3=OH, R_1=R_4=H$ )	581	420	95	$(1.06 \pm 0.03) \cdot 10^2$	10.6	

\* a, b, c — величины потенциалов ионизации фенолят-ионов, образующихся по I ступени диссоциации в положении 4, 5 и 4 ароматического цикла молекулы гидроксиацетофенона соответственно.

\*\* Значения рассчитаны по уравнению (5).

фрагменты молекулы флавонолов, которые формируют кольца А и С (табл. 1).

По расчетным дескрипторам ( $PI_{ArOH}$  и  $PI_{ArO^-}$ ) электронного строения молекул и ионов гидроксиацетофенонов были спрогнозированы константы скорости ( $k_{calc}$ ) их реакции с DPPH• по уравнению (5). Для проверки адекватности прогнозируемых  $k_{calc}$  эти же величины были определены экспериментально ( $k$ ) в этаноле при  $T = 293 \pm 2$  К.

Установленная линейная зависимость [уравнение (6)] между прогнозируемыми и эмпирическими константами имеет высокие значения коэффициента корреляции ( $r = 0.996$ ) и критерия Фишера, что подтверждает адекватность предложенного двухфакторного уравнения (5) для прогнозирования АРА природных фенолов в этаноле по отношению к DPPH•:

$$k_{calc} = -(11.4 \pm 2.4) + (98.3 \pm 0.1) \cdot 10^{-2} k,$$

$$n = 7, r = 0.999, r^2 = 0.998, F = 1998, p < 0.00000, S_{est} = 5.22. \quad (6)$$

Чтобы иметь более наглядное суждение о качестве предложенной модели из относительных отклонений

$$\text{для каждой константы } \left( \Delta k = \left| \frac{(k - k_{calc})}{k} \right| \cdot 100\% \right),$$

определяли среднюю ошибку аппроксимации ( $\bar{\Delta k} = 1/n \sum \Delta k$ ), которая не должна превышать 8–10%.

Установлено (табл. 2), что единичные относительные отклонения предсказанных констант не превыша-

ют 11%, а средняя ошибка аппроксимации составляет 6.5%, что свидетельствует о хорошем подборе модели [уравнение (5)].

### Выводы

Применение факторного анализа позволяет получить модельную линейную функцию с минимальным набором дескрипторов электронного строения вещества, достаточным для описания антирадикальной активности растительных фенольных соединений разных классов. Адекватный подбор дескрипторов зависит от полярности и ионизирующей способности среды, а также механизма окислительных превращений антиоксиданта в реакции с радикалом. Полученная количественная взаимосвязь дескриптор–активность не только представляет собой готовое полуэмпирическое двухфакторное уравнение для подбора эффективных антиоксидантов, но и является основой скрининга антирадикальной активности природных фенольных соединений.

### Благодарности

Расчеты в рамках теории функционала плотности выполнены в Центре коллективного пользования «Высокопроизводительные вычисления» Южного Федерального университета. Автор выражает признательность заведующему кафедрой физической и коллоидной химии Южного Федерального университета профессору И. Н. Щербаккову за оказанную помощь при квантово-химических расчетах.

### Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

### Информация об авторах

Белая Наталья Ивановна, к.х.н., доцент, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3359-3239>

### Список литературы

- [1] Javan A. J., Javan M. J. Electronic structure of some thymol derivatives correlated with the radical scavenging activity: Theoretical study // *Food Chem.* 2014. V. 165. P. 451–459. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.073>
- [2] Xue C. X., Zhang R. S., Liu H. X., Yao X. J., Liu M. C., Hu Z. D., Fan B. T. QSAR models for the prediction of binding affinities to human serum albumin using the heuristic method and a support vector machine // *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 2004. V. 44. N 5. P. 1693–1700. <https://doi.org/10.1021/ci049820b>
- [3] Lagunin A., Zakharov A., Filimonov D., Poroikov V. QSAR modelling of rat acute toxicity on the basis of PASS prediction // *Mol. Inform.* 2011. V. 30. N 2–3. P. 241–250. <https://doi.org/10.1002/minf.201000151>
- [4] Galano A., Mazzone G., Alvarez-Diduk R., Marino T., Alvarez-Idaboy J. R., Russo N. Food antioxidants: chemical insights at the molecular level // *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 2016. V. 7. P. 335–352. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-041715-033206>
- [5] Mazzone G., Russo N., Toscano M. Antioxidant properties comparative study of natural hydroxycinnamic acids and structurally modified derivatives: Computational insights // *Comput. Theoret. Chem.* 2016. V. 1077. P. 39–47. <https://doi.org/10.1016/j.comptc.2015.10.011>
- [6] Litwinienko G., Ingold K. U. Solvent effects on the rates and mechanisms of reaction of phenols with free radicals // *Acc. Chem. Res.* 2007. V. 40. N 3. P. 222–230. <https://doi.org/10.1021/ar0682029>
- [7] Volkov V. A., Misin V. M. Kinetics of reactions of antioxidants from some food and medicinal plants with the stable radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl // *Kinet. Catal.* 2015. V. 56. N 1. P. 43–48. <https://doi.org/10.1134/S0023158415010139> [Волков В. А., Мисин В. М. Кинетика взаимодействия антиоксидантов ряда пищевых и лекарственных растений со стабильным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом // *Кинетика и катализ.* 2015. Т. 56. № 1. С. 48–54].
- [8] Белая Н. И., Белый А. В., Заречная О. М., Щербakov И. Н., Дорошкевич В. С. Структура переходного состояния и механизм реакции гидроксибензолов с N-центрированным радикалом в неионизирующих средах // *ЖОХ.* 2018 Т. 88 № 7 С. 1057–1069 [Belaya N. I., Belyi A. V., Zarechnaya O. M., Scherbakov I. N., Doroshkevich V. S. Transition state structure and mechanism of the reaction of hydroxybenzenes with N-centered radical in non-ionizing media // *Russ. J. Gen. Chem.* 2018. V. 88. N 7. P. 1351–1362. <https://doi.org/10.1134/S013434751807001X>].
- [9] Musialik M., Litwinienko G. Scavenging of dpph• radicals by vitamin E is accelerated by its partial ionization: the role of sequential proton loss electron transfer // *Org. Lett.* 2005. V. 7. N 22. P. 4951–4954. <https://doi.org/10.1021/ol051962j>
- [10] Marković Z., Đorović J., Petrović Z. D., Petrović V. P., Simijonović D. Investigation of the antioxidant and radical scavenging activities of some phenolic Schiff bases with different free radicals // *J. Mol. Model.* 2015. V. 21. P. 293–1003. <https://doi.org/10.1007/s00894-015-2840-9>

- [11] *Pérez-González A., Galano A., Alvarez-Idaboy J. R.* Dihydroxybenzoic acids as free radical scavengers: mechanisms, kinetics, and trends in activity // *New J. Chem.* 2014. V. 38. P. 2639–2652. <https://doi.org/10.1039/C4NJ00071D>
- [12] *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.* Proton-coupled electron transfer // *Chem Rev.* 2007. V. 107. N 11. P. 5004. <https://doi.org/10.1021/cr0500030>
- [13] *Tomasi J., Mennucci B., Cammi R.* Quantum mechanical continuum solvation models // *Chem. Rev.* 2005. V. 105. N 8. P. 2999–3093. <https://doi.org/10.1021/cr9904009>
- [14] *Барабой В. А.* / Растительные фенолы и здоровье человека. М.: Наука, 1984. С. 25–38.
- [15] *Черников Д. А., Пальшин В. А., Баженов Б. Н., Сафронов А. В.* Гидроксиацетофеноны — новые модели при изучении электроокисления кверцетина // *Изв. вузов. Химия и хим. технология.* 2012. Т. 55. № 8. С. 43–47.
-