

ФЕНОЛКАРБОНОВЫЕ КИСЛОТЫ В РЕАКЦИИ С ЭЛЕКТРОГЕНЕРИРОВАННЫМ ГИДРОПЕРОКСИЛЬНЫМ РАДИКАЛОМ

© 2020 г. Н. И. Белая^{а,*}, А. В. Белый^а, О. М. Заречная^б,
И. Н. Щербаков^с, В. С. Дорошкевич^а

^а Донецкий национальный университет, ул. Университетская 24, Донецк, 83001 Украина

^б Институт физико-органической химии и углехимии имени Л.М. Литвиненко, Донецк, 83114 Украина

^с Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, 344006 Россия

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

Поступило в Редакцию 21 мая 2020 г.

После доработки 21 мая 2020 г.

Принято к печати 1 июня 2020 г.

Исследование методом хроновольтамперометрии показало, что восстановление кислорода на ртутном электроде в кислой среде в присутствии фенолкарбонновых кислот протекает, как обратимый электродный процесс с последующей лимитирующей реакцией гидропероксильного радикала. Константы скорости взаимодействия фенолкарбонновых кислот с радикалом $\text{HOO}^\bullet$ рассчитаны в рамках теории электродного процесса с последующей химической реакцией. Возможный механизм реакции – перенос электрона от молекулярной формы кислоты к радикалу – подтверждается корреляцией между экспериментальными константами скорости и потенциалами ионизации кислот, рассчитанными методом DFT.

Ключевые слова: фенолкарбонная кислота, гидропероксильный радикал, антиоксидант, потенциал ионизации

DOI: 10.31857/S0044460X20100029

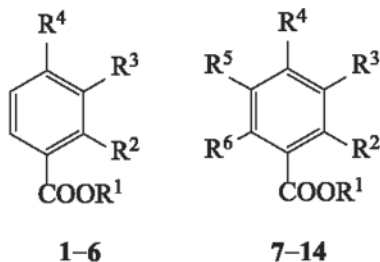
Фенолкарбонные кислоты относятся к одной из наиболее многочисленных групп растительных фенольных соединений. Их важнейший структурный элемент – фенольная группа OH , ответственная за антирадикальную и антиоксидантную активность [1, 2]. Благодаря карбоксигруппе COOH , диссоциирующей при низких значениях pH , фенолкарбонные кислоты реагируют с радикалами в кислых средах в форме карбоксилат-ионов, более активных, чем нейтральные молекулы [3, 4].

В широком спектре биологической активности фенолкарбонных кислот наиболее важное место занимает их способность дезактивировать активные формы кислорода, такие как $\text{O}_2^{\bullet-}$, $\text{HOO}^\bullet$, $\text{HO}^\bullet$ и т. д. [5–7]. Активные формы кислорода участвуют в важнейших физиологических процессах, но при повышенной концентрации могут негативно влиять на организм человека. Для регулирования негативных последствий существует защитный

механизм, в котором важную роль играют природные антиоксиданты, в том числе фенолкарбонные кислоты и их производные. Изучение кинетики и механизма их радикального окисления, установление молекулярных дескрипторов, ответственных за скорость протекания этого процесса, а также оптимизация условий его проведения – перспективные направления исследований в области химии, биохимии, медицины и фармации.

Нами проведено хроновольтамперометрическое и квантово-химическое исследование антирадикальной активности фенолкарбонных кислот (HOOCArOH) и их эфиров (ROOCArOH) в реакции с электрогенерированным гидропероксильным радикалом $\text{HOO}^\bullet$. Реакция протекла при электровосстановлении O_2 до H_2O_2 на ртутном пленочном электроде при $\text{pH} = 2$. Объекты исследования – моно- (1–6) и дигидроксibenзойные кислоты и их эфиры (7–14), относящиеся к груп-

Схема 1.



$R^2 = OH, R^1 = R^3 = R^4 = H$ (1); $R^2 = OH, R^3 = CH_3, R^1 = R^4 = H$ (2); $R^2 = OH, R^1 = R^3 = CH_3, R^4 = H$ (3); $R^3 = OH, R^1 = R^2 = R^4 = H$ (4); $R^4 = OH, R^1 = R^2 = R^3 = H$ (5); $R^4 = OH, R^2 = R^3 = H, R^1 = C_2H_5$ (6); $R^2 = R^3 = OH, R^1 = R^4 = R^5 = R^6 = H$ (7); $R^2 = R^4 = OH, R^1 = R^3 = R^5 = R^6 = H$ (8); $R^2 = R^4 = OH, R^1 = OCH_3, R^3 = R^5 = R^6 = H$ (9); $R^2 = R^5 = OH, R^1 = R^3 = R^4 = R^6 = H$ (10); $R^2 = R^6 = OH, R^1 = R^3 = R^4 = R^5 = H$ (11); $R^3 = R^4 = OH, R^1 = R^2 = R^5 = R^6 = H$ (12); $R^3 = R^5 = OH, R^1 = R^2 = R^4 = R^6 = H$ (13); $R^3 = OCH_3, R^4 = OH, R^1 = R^3 = R^5 = R^6 = H$ (14).

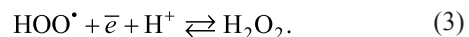
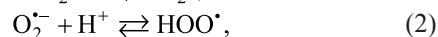
пе растительных фенолкарбонновых кислот [8] (схема 1).

В качестве радикала выступала протонированная форма супероксид-анион-радикала кислорода $O_2^{\cdot-}$ – гидропероксильный радикал $HO_2^{\cdot}$, генерируемый при электровосстановлении кислорода до пероксида водорода при $pH = 2$ в цитратно-фосфатном буфере при 293 ± 2 К. Применение сильно-кислой среды необходимо для образования протонированной формы $O_2^{\cdot-}$ и подавления диссоциации фенолкарбонновых кислот.

Поляризацию рабочего ртутного пленочного электрода проводили линейно изменяющимся напряжением с амплитудой от 0.02 до 0.08 В/с. Характерные поляризационные кривые имеют максимумы (рис. 1), обусловленные нестационарной диффузией вещества к электроду [9]. Пик электровосстановления O_2 до H_2O_2 (рис. 1) идентифицировали при барботировании аргона через исследуемый раствор в течение 20 мин, после чего на хроновольтамперограмме он исчезал полностью. Величину полученного остаточного тока исключали при определении потенциала полувольты ($E_{1/2}$) восстановления O_2 .

Потенциал восстановления H_2O_2 до H_2O на ртутном электроде значительно отрицательнее потенциала его образования [10–12]. Это позволяет наблюдать на поляризационных кривых две волны электровосстановления O_2 , изучать кинетику восстановления O_2 и H_2O_2 в отдельности. На ртутном пленочном электроде восстановление при $pH < 8$ необратимо, при $pH = 8-9$ – квазиобратимо, при $pH \geq 9$ – обратимо с замедленной стадией присоеди-

динения электрона к молекуле кислорода (1) [13]. Нами проведено восстановление кислорода только до пероксида водорода [реакции (1)–(3)]; образование в системе в кислых средах интермедиата $HO_2^{\cdot}$ подтверждали экспериментальными и расчетными методами.



Вначале методом QSPR в программном пакете Marvin 18.14 рассчитывали распределение доли протонированной и депротонированной форм $O_2^{\cdot-}$

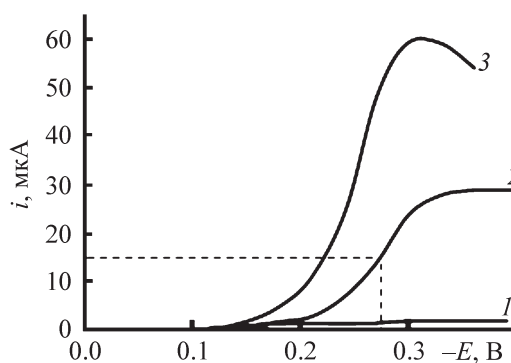


Рис. 1. Хроновольтамперометрические кривые электровосстановления O_2 до H_2O_2 на ртутном пленочном электроде в цитратно-фосфатном буфере при $pH = 9$ (293 ± 2 К): 1 – после 15 мин барботирования Ag (соответствует величине остаточного тока); 2 – после 15 мин барботирования O_2 в постоянно-токовом режиме при $v = 0.002$ В/с; 3 – после 15 мин барботирования O_2 с разверткой напряжения $v = 0.04$ В/с.

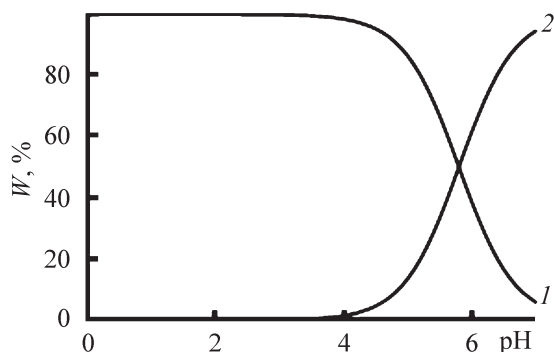


Рис. 2. Распределение доли (W) депротонированной (2) и протонированной (1) форм супероксид анион-радикала кислорода $O_2^{\bullet-}$ при различных значениях pH среды, рассчитанное методом QSPR в программе Marvin 18.14.

при изменении pH среды [14]. В кислых средах до pH = 3 присутствует только радикал $HO_2^{\bullet}$ (рис. 2), а начиная с pH = 3 и выше – $O_2^{\bullet-}$. Присутствие $O_2^{\bullet-}$ подтверждали исследованием реакционной смеси с индикатором тетразолием нитросиним (NBT) [15]. При электровосстановлении O_2 с увеличением pH среды (от 7 и выше) возрастает максимум поглощения на спектре реакционной смеси при 530 нм, принадлежащий продукту взаимодействия $O_2^{\bullet-}$ и индикатором NBT (формазану). В кислом буфере добавка индикатора не вызывает изменения окраски раствора, что свидетельствует о присутствии в растворе только $HO_2^{\bullet}$. Таким образом, при электровосстановлении O_2 до H_2O_2 на ртутном пленочном электроде в кислых средах в качестве интермедиата генерируется протонированная форма супероксид анион-радикала кислорода $HO_2^{\bullet}$, а в щелочных – его депротонированная форма $O_2^{\bullet-}$.

При введении в систему фенолкарбоновой кислоты – потенциального акцептора $HO_2^{\bullet}$ – наблюдается смещение потенциала пика электровосстановления O_2 (E_p^k) в положительную область в результате изменения механизма электрохимической реакции (рис. 3). На основании литературных данных [16, 17, 13] можно предположить, что исследуемая реакция протекает как электродный процесс с последующей лимитирующей химической реакцией. Для упрощения исследования кинетики реакции концентрацию фенолокси кислоты увеличивали в 20 и более раз против концентрации кислорода. В таком случае химическая реакция имеет псевдопервый порядок, и электровосстанов-

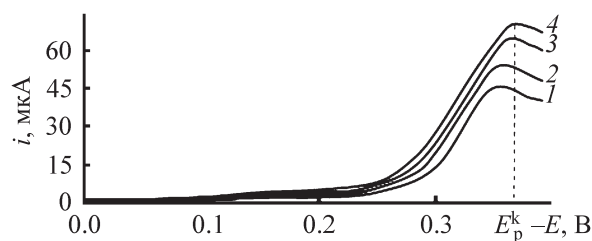
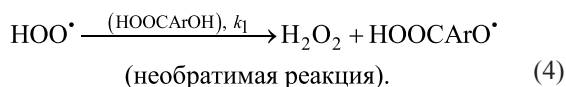


Рис. 3. Хроновольтамперограммы электровосстановления O_2 до H_2O_2 на ртутном пленочном электроде в цитратно-фосфатном буфере при pH = 2 (293 ± 2 К) в присутствии салициловой кислоты ($c = 5 \times 10^{-4}$ моль/л) при разных скоростях развертки потенциала (В/с): 1 – 0.02; 2 – 0.04; 3 – 0.06; 4 – 0.08.

ление O_2 в присутствии фенолкарбоновой кислоты протекает как обратимый электродный процесс с последующей необратимой реакцией (4).

$O_2 + e^- + H^+ \rightleftharpoons HO_2^{\bullet}$ (электродная обратимая реакция)



Влияние химической реакции, следующей за переносом электрона, заметно только, когда перенос заряда на электроде протекает быстро и обратимо. Потенциал обратимого электрода в этом случае, согласно уравнению Нернста, определяется отношением между концентрациями O_2 и $HO_2^{\bullet}$ у его поверхности. Если скорость химического превращения $HO_2^{\bullet}$ в H_2O_2 близка по порядку величины к скорости удаления радикала от электрода или превышает ее, то протекание химической реакции $HO_2^{\bullet}$ с $HOOCArOH$ будет сопровождаться изменением потенциала. При необратимом восстановлении концентрация продукта электродной реакции $HO_2^{\bullet}$ не влияет на электродный потенциал. Поэтому изменение концентрации $HO_2^{\bullet}$, вызванное последующей реакцией, также не влияет на потенциал [18].

Согласно теории обратимого электродного процесса с последующей химической реакцией [19], для реакций первого порядка (4) четко сформулированы основные диагностические критерии [20, 21]: зависимость (5) потенциала кинетического пика (E_p^k) от логарифма развертки потенциала [$\ln(1/v)$] линейна с наклоном $RT/2nF$.

Таблица 1. Экспериментальные кинетические и стехиометрические параметры реакции (4), а также расчетные значения pK_a фенолкарбонновых кислот и их эфиров 1–14

Соединение	k_1 , 1/с	Число электронов, n	k , л/(моль·с)	Порядок реакции по кислоте, $n_{\text{НООСArOH}}$	pK_a
1	$(1.01 \pm 0.03) \times 10^{-2}$	0.99	20.1 ± 0.6	1.02	2.79
2	$(3.25 \pm 0.11) \times 10^{-2}$	1.01	64.9 ± 1.6	1.00	2.80
3	$(4.05 \pm 0.13) \times 10^{-2}$	1.00	81.2 ± 2.4	1.02	10.10
4	$(7.51 \pm 0.23) \times 10^{-3}$	1.00	14.8 ± 0.4	1.03	3.85
5	$(2.55 \pm 0.11) \times 10^{-3}$	0.99	5.13 ± 0.15	1.01	4.38
6	$(4.05 \pm 0.13) \times 10^{-3}$	0.99	8.09 ± 0.29	1.02	8.5
7	$(11.9 \pm 0.4) \times 10^{-2}$	1.02	240 ± 6	1.00	2.56
8	$(1.42 \pm 0.04) \times 10^{-2}$	0.99	28.2 ± 0.8	1.02	3.10
9	$(1.78 \pm 0.05) \times 10^{-2}$	0.98	35.8 ± 1.2	1.03	8.58
10	$(4.1 \pm 1.2) \times 10^{-2}$	1.02	820 ± 21	1.00	2.53
11	$(8.5 \pm 0.3) \times 10^{-2}$	1.01	170 ± 5	1.00	1.65
12	$(3.85 \pm 0.12) \times 10^{-2}$	1.00	77.3 ± 2.2	1.03	4.16
13	$(2.06 \pm 0.06) \times 10^{-2}$	1.00	50.7 ± 1.5	1.01	3.61
14	$(10.08 \pm 0.3) \times 10^{-2}$	0.98	200 ± 6	1.02	4.16

$$E_p^k = E_{1/2} - 0.78 \frac{RT}{nF} + \frac{RT}{2nF} \ln \frac{RT}{nF} + \frac{RT}{2nF} \ln \frac{k_1}{v}, \quad (5)$$

$$E_p^k = \left(E_{1/2} - 0.78 \frac{RT}{nF} + \frac{RT}{2nF} \ln \frac{RT}{nF} + \frac{RT}{2nF} \ln k_1 \right) + \frac{RT}{2nF} \ln \frac{1}{v}.$$

Здесь E_p^k – потенциал тока пика электровосстановления O_2 до H_2O_2 в присутствии фенолкарбонновой кислоты, В; $E_{1/2}$ – обратимый потенциал полуволны электровосстановления O_2 до H_2O_2 , В; k_1 – константа скорости последующей химической реакции $HO_2^{\bullet}$ с $HOOCArOH$ первого порядка (при условии избытка фенолоксида), 1/с; n – число электронов, участвующих в лимитирующей стадии; v – скорость развертки потенциала, В/с.

Из уравнения (5) следует, что при восстановлении потенциал пика E_p^k смещается относительно обратимого потенциала полуволны $E_{1/2}$ в направлении положительных значений (рис. 3). Это смещение тем больше, чем выше константа скорости последующей химической реакции первого порядка k_1 и чем меньше скорость развертки напряжения поляризации v . Указанные закономерности выполняются при $n = 1$.

Строгая линейная зависимость E_p^k от $\ln(1/v)$ (с коэффициентом корреляции $r > 0.99$) соблюдается только в диапазоне скоростей развертки потенциалов от 0.02 до 0.08 В/с. При $v < 0.01$ В/с скорость последующей реакции высока, достигается состо-

яние равновесия, и потенциал пика не изменяется. При больших значениях $v > 0.08$ В/с потенциал пика E_p^k изменяется незначительно, поскольку химическая реакция не влияет на концентрацию первичного продукта ($HO_2^{\bullet}$) электродной реакции, и электровосстановление, согласно литературным данным [18, 20], становится необратимым.

Определение константы скорости k_1 химической реакции псевдопервого порядка в координатах зависимости E_p^k от $\ln(1/v)$ не представляет больших трудностей, если известно значение обратимого потенциала полуволны ($E_{1/2}$). Такая зависимость была успешно применена при исследовании кинетики образования интерметаллических соединений в ртути [20]. По аналогии с указанной работой мы впервые применили теорию электродного процесса с последующей необратимой химической реакцией для расчета констант скоростей реакций с участием активных форм кислорода. Величину $E_{1/2}$ определяли в отдельном эксперименте при электровосстановлении O_2 до H_2O_2 (без добавки $HOOCArOH$) в постоянно-токовом режиме при $v = 0.002$ В/с (рис. 1) в щелочной среде. При $pH = 9$ (в цитратно-фосфатном буфере) восстановление кислорода на ртутном пленочном электроде становится обратимым, что подтверждается как литературными данными [13], так и экспериментальными результатами: потенциал пика опережает потенциал полуволны на 28 мВ (рис. 1), что

характерно для обратимых процессов при $n = 1$ [18, 20]. Полученное значение $E_{1/2} = -0.27$ В можно использовать и в кислых средах, поскольку потенциал полуволны электровосстановления O_2 до H_2O_2 на ртутных электродах не изменяется в диапазоне $pH = 1-9$ [11].

В другой серии измерений при $v = 0.02-0.08$ В/с восстановление O_2 проводили в присутствии $HOOCArOH$ (рис. 2, а). Методом линейного регрессионного анализа из зависимости $E_p^k - \ln v$ по величине углового параметра вычисляли число электронов (n), участвующих в лимитирующей стадии, а по свободному параметру – величину k_1 (табл. 1).

Вычисленные значения k_1 коррелировали с кинетическим критерием оценки общей антиоксидантной активности вещества $[K, \text{мкмоль}/(\text{л} \cdot \text{мин})]$ [13, 16, 22], определявшимся при электровосстановлении O_2 в аналогичных условиях методом вольтамперометрии по измерению предельного тока восстановления кислорода при разных концентрациях антиоксиданта. Для моногидроксibenзойных кислот и их эфиров наблюдается симбатное изменение указанных величин, что свидетельствует об адекватности полученных констант.

Из значений k_1 для разных начальных концентраций $[HOOCArOH]_0$ (при условии, что $[HOOCArOH]_0 \gg [O_2]_0$) рассчитывали порядок реакции по фенолкарбоновой кислоте ($n_{HOOCArOH}$) и константу скорости реакции второго порядка (k) в координатах уравнения (6).

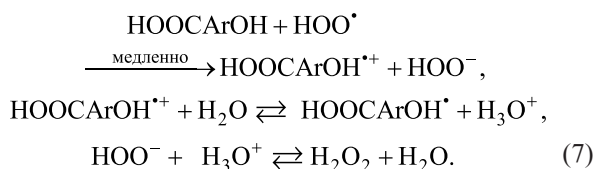
$$\ln k_1 = \ln k + n_{HOOC-ArOH} \ln [HOOC-ArOH]. \quad (6)$$

Если $W = k_1[HOO^\bullet]$, так как $[HOOCArOH]_0 \gg [O_2]_0$, то $k_1 = k [HOOCArOH]^{n_{HOOCArOH}} [W - \text{скорость химической реакции (4)}]$.

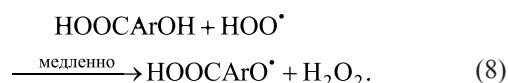
Поскольку путем линеаризации данных в координатах уравнения (5) установлен первый порядок реакции по радикалу $HOO^\bullet$ и порядок по кислоте также не выше первого (табл. 1), общий порядок реакции $HOOCArOH$ с $HOO^\bullet$ является вторым. Вычисленные константы скорости реакции второго порядка k могут быть характеристикой антирадикальной активности фенолкарбоновых кислот. Наиболее реакционноспособны по отношению к радикалу гентизиновая **10**, пирокатеховая **7** и ванилиновая **14** кислоты. Для всех соединений число электронов, участвующих в реакции, не превыша-

ет 1 (табл. 1), что свидетельствует о протекании элементарного химического акта $HOOCArOH$ с $HOO^\bullet$ и об отсутствии влияния на кинетику реакции (4) продуктов превращения кислот.

Из величин pK_a фенолкарбоновых кислот и их эфиров (по первой ступени диссоциации), рассчитанных методом QSPR в программе Marvin 18.14, следует (табл. 1), что при $pH = 2$ в системе присутствуют только молекулярные формы реагентов. В этом случае химическая реакция $HOOCArOH$ с $HOO^\bullet$ может протекать по механизму (7) переноса электрона с кислоты на гидропероксильный радикал с последующей потерей протона (ET-PT) [23, 24] образующимся катион-радикалом $HOOCArOH^{+\bullet}$.



Механизм (НАТ) (8) отрыва атома Н с участием молекулярной формы для данных реакций не рассматривался, поскольку вероятность его протекания в полярных средах крайне мала, что подтверждается как литературными данными [25, 26], так и проведенными ранее исследованиями [27].



Один из способов подтверждения механизма реакции – поиск и установление зависимости реакционной способности вещества от его молекулярных дескрипторов, рассчитанных квантово-химическим методом. Квантово-химические вычисления проводили с использованием пакета Gaussian 09 [28]. Поиск стабильных конформеров фенолкарбоновых кислот предварительно устанавливали полуэмпирическим методом PM6. Структуры с минимальной энергией использовали в качестве начального приближения для расчетов в рамках теории функционала электронной плотности (DFT) с набором базисных функций 6-311++G(d,p) и с гибридными функционалами M06-2X и B3LYP, выбор которых обусловлен опубликованными данными об успешном их применении для фенольных антиоксидантов [29, 27]. При расчетах использовали ультратонкую сетку интегрирования (integral-ultrafine). Для систем с открытыми оболочками катион-радикалов (дублетное

основное состояние) применяли соответствующий спин-неограниченный метод (UB3LYP и UM06-2X). Геометрия всех структур оптимизирована по всем независимым переменным и без ограничений по симметрии для водной среды. Характер всех стационарных точек определялся расчетом матрицы Гессе. Частоты нормальных колебаний, энергия нулевых колебаний и тепловые поправки к энтальпии рассчитаны теми же методами в гармоническом приближении. Влияние растворителя учитывали в рамках континуальных моделей сольватации SMD (Solvation Model of Density) [30] и PCM (Polarizable Continuum Model) [31]. Первые адиабатические потенциалы ионизации (PI) вычисляли как разность сумм полных электронно-ядерных энергий (E_{tot}), энергий нулевых колебаний (E_{ZPE}) и температурных поправок к энтальпии (H_{corr}) катион-радикалов и соответствующих нейтральных молекул (9). Все полученные результаты относятся к температуре 298 К и давлению 1 атм в водной среде.

$$PI = (E_{\text{tot}} + E_{\text{ZPE}} + H_{\text{corr}})_{\text{HOOCArOH}^{\bullet+}} - (E_{\text{tot}} + E_{\text{ZPE}} + H_{\text{corr}})_{\text{HOOCArOH}} \quad (9)$$

Мы оценили возможность протекания механизма ЕТ–РТ с участием в лимитирующей стадии молекулярной формы HOOCArOH [реакция (7)]. Электронодонорные свойства антиоксиданта и реализация указанного механизма связаны с потенциалом ионизации фенолкарбонновых кислот [29].

Потенциалы, рассчитанные с использованием континуальной модели SMD (табл. 2), имеют более низкие значения при расчете с использованием функционала B3LYP и лучше коррелируют с антирадикальной активностью ($\ln k_1$) фенолкарбонновых кислот (10), чем полученные на основе M062X (11).

$$\ln k = (59.9 \pm 1.7) - (7.8 \pm 0.3) PI (\text{B3LYP, SMD}), \\ n = 14; r = 0.992; r^2 = 0.984; F = 731; \\ p < 0.00001; S_{\text{est}} = 0.18, \quad (10)$$

$$\ln k = (51.6 \pm 2.1) - (7.6 \pm 0.3) PI (\text{M062X, SMD}), \\ n = 14; r = 0.988; r^2 = 0.977; F = 508; \\ p < 0.00001; S_{\text{est}} = 0.22, \quad (11)$$

$$\ln k = (51.5 \pm 1.7) - (7.52 \pm 0.26) PI (\text{B3LYP, PCM}), \\ n = 14; r = 0.993; r^2 = 0.986; F = 819; \\ p < 0.00001; S_{\text{est}} = 0.17. \quad (12)$$

Здесь 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); S_{est} – стандартная ошибка оценки (или стандартное отклонение ошибок предсказания) является мерой точности величин, предсказанных по предложенной линейной модели. Статистические показатели рассчитаны в системе Statistica Demo 6.0.

Сравнивая расчеты с использованием гибридного функционала B3LYP в разных сольватационных моделях (SMD и PCM), можно увидеть фактически одинаковый коэффициент корреляции r зависимости $\ln k_1$ от PI [уравнения (10) и (12)], но при этом по величине критерия Фишера F и стандартной ошибки оценки S_{est} статистически более значимой является линейная модель с расчетами в PCM (12).

Проведенный однофакторный регрессионный анализ связи антирадикальной активности с потенциалами ионизации фенолкарбонновых кислот показал, что с увеличением PI реакционная способность антиоксиданта закономерно снижается, что обусловлено замедлением переноса электрона от молекулы к радикалу (по механизму ЕТ–РТ). Изменение потенциала ионизации зависит от структуры фенолкарбонновой кислоты. Уменьшение величины PI и соответственно увеличение антирадикальной активности наблюдаются при увеличении количества групп OH , при их взаимном *орто*- и *пара*-положении, а также при их *мета*-положении относительно электроноакцепторной карбоксильной группы. Наиболее реакционноспособны дигидроксизойные кислоты **7**, **10**, **14** с относительно низкими расчетными потенциалами ионизации (табл. 2).

Полученная зависимость $\ln k_1$ от PI подтверждает не только возможность протекания реакции HOOCArOH с $\text{HOO}^\bullet$ в кислых средах по механизму ЕТ–РТ, но и применимость представленного в данной работе способа расчета констант скоростей.

Таким образом, восстановление кислорода на ртутном пленочном электроде при $\text{pH} = 2$ в присутствии природных фенолкарбонновых кислот может служить моделью *in vitro* для исследования кинетики и механизма их антирадикального действия в реакции с гидропероксильным радикалом. Кинетические параметры реакции хорошо коррелируют с величинами потенциалов ионизации молекул

Таблица 2. Потенциалы ионизации фенолкарбоновых кислот и их эфиров **1–14**, рассчитанные на уровне B3LYP/6-311++G(d,p) и M062X/6-311++G(d,p) в рамках моделей SMD и PCM, растворитель – вода

Соединение	PI, эВ		
	M06-2X, SMD	B3LYP, SMD	B3LYP, PCM
1	6.40	6.19	6.48
2	6.23	6.01	6.29
3	6.21	5.98	6.23
4	6.40	6.20	6.53
5	6.52	6.31	6.62
6	6.48	6.25	6.54
7	6.04	5.84	6.13
8	6.38	6.14	6.43
9	6.35	6.10	6.35
10	5.88	5.68	5.96
11	6.10	5.88	6.17
12	6.17	5.97	6.28
13	6.23	5.99	6.31
14	6.11	5.88	6.16

фенолкарбоновых кислот, рассчитанными на уровне B3LYP/6-311++G(d,p) и M062X/6-311++G(d,p) с учетом эффектов неспецифической сольватации в рамках континуальных моделей растворителя PCM и SMD, что позволяет прогнозировать антирадикальную активность фенолкарбоновых кислот и идентифицировать механизм их действия в реакции с $\text{HO}\cdot$ в водных средах, имитирующих биологические объекты.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Гидроксibenзойные кислоты **1–14** производства Fluka (Швейцария), Merck (Германия), Panreac (Испания), Aldrich-Sigma (США) использовали без предварительной очистки. Диметилсульфоксид очищали по известной методике [32].

Идентификацию $\text{O}_2^{\cdot-}$ проводили путем измерения оптической плотности цитратно-фосфатного буферного раствора при pH = 7–8 (через 2 ч электровосстановления O_2) в присутствии тетразолия синего (Aldrich-Sigma, США) при 530 нм на спектрофотометре Specord S300 UV-VIS (Carl Zeiss Jena, Германия) при 293 ± 2 К.

Электровосстановление O_2 проводили в герметичной ячейке с контролем атмосферы и подачи вещества в реакционную смесь. Электродом сравнения служила донная ртуть, рабочим электродом – ртутный пленочный электрод, приготовленный по

ГОСТ 32937–2014 [33]. Хроновольтамперограммы снимали на полярографе ПУ-1 с пакетом программного обеспечения АЦП PowerGraph фирмы «LCARD» (Россия). Обработку хроновольтамперограмм, вычисление величин потенциала пика тока E_p^k и потенциала полуволны $E_{1/2}$ проводили, как указано в работе [34]. Концентрацию растворенного кислорода в цитратно-фосфатном буфере при pH = 2 контролировали с помощью анализатора кислорода с термоэлектрическим преобразователем Эксперт-001 (Россия).

Перед началом эксперимента цитратно-фосфатный буферный раствор 15 мин насыщали кислородом при постоянном перемешивании. Для изменения концентрации кислорода в растворе, вплоть до его полного удаления, подавали газообразный аргон.

При определении кинетических параметров концентрация кислорода в реакционной смеси составляла от 5×10^{-6} до 7×10^{-6} моль/л, концентрация фенолкарбоновых кислот – от 4×10^{-3} до 5×10^{-4} моль/л. Фенолкарбоновые кислоты растворяли в диметилсульфоксиде, затем аликвоту этого раствора (0.5 мл) вводили в цитратно-фосфатный буферный раствор (19.5 мл) с pH = 2 и с заданной концентрацией кислорода. Так как добавки кислот были достаточно малы по сравнению с объемом фонового электролита, то изменениями концентрации молекулярного кислорода при добавке раствора с антиоксидантом можно пренебречь. Полученную смесь перемешивали 5 с, затем через 10 с снимали катодную хроновольтамперограмму электровосстановления O_2 (не менее 3 повторов при заданной скорости развертки).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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., Кандалицева Н.В.* Фенольные антиоксиданты в биологии и медицине. Строение, свойства, механизмы действия. Saarbrücken: Lap Lambert Academic Publishing, 2012. 488 с.

3. Galano A., Perez-Gonzalez A. // *Theor. Chem. Accounts*. 2012. Vol. 131. N 9. P. 1. doi 10.1007/s00214-012-1265-0
4. Marković Z., Đorović J., Dimitrić Marković J.M., Živić M., Amić D. // *Monatsh. Chem.* 2014. Bd 145. H. 6. S. 953. doi 10.1007/s00706-014-1163-3
5. Marino T., Galano A., Russo N. // *J. Phys. Chem.* 2014. Vol. 118. N 35. P. 10380. doi 10.1021/jp505589b
6. Sevgi K., Tepe B., Sarikurkcü C. // *Food Chem. Toxicol.* 2015. Vol. 77. P. 12.
7. Medina M.E., Galano A., Trigos Á. // *J. Phys. Chem. (B)*. 2018. Vol. 122. N 30. P. 7514. doi 10.1021/acs.jpcc.8b04619
8. Vermerris W., Nicholson R. *Phenolic Compound Biochemistry*. Dodrecht: Springer, 2006. 275 p.
9. Будников Г.К., Майстренко В.Н., Вяселев М.Р. Основы современного электрохимического анализа. М.: Мир: Бином ЛЗ, 2003. 592 с.
10. Heyrovský M., Vavříčka S. // *J. Electroanal. Chem.* 1993. Vol. 353. P. 335.
11. Heyrovský M., Vavříčka S. // *J. Electroanal. Chem.* 1992. Vol. 332. P. 309.
12. Hayyan M., Hashim M.A., Alnashef I.M. // *Chem. Rev.* 2016. Vol. 116. N 5. P. 3029. doi 10.1021/acs.chemrev.5b00407
13. Tur'yan Y.I., Gorenbein P., Kohen R. // *J. Electroanal. Chem.* 2004. Vol. 571. N 2. P. 183. doi 10.1016/j.jelechem.2004.05.008
14. Marvin 18.14. ChemAxon. <https://www.chemaxon.com>
15. Bo-Tao Z., Li-Xia Z., Jin-Ming L. // *J. Environ. Sci.* 2008. Vol. 20. N 8. P. 1006. doi 10.1016/s1001-0742(08)62200-7
16. Korotkova E.I., Karbainov Y.A., Avramchik O.A. // *Anal. Bioanal. Chem.* 2003. Vol. 375. P. 465. doi 10.1007/s00216-002-1687-y
17. Сажина Н.Н., Мусин В.М., Короткова Е.И. // *Химия растительного сырья*. 2010. № 4. С. 77.
18. Майрановский С.Г. Каталитические и кинетические токи в полярографии. М.: Наука, 1966. 288с.
19. Nicholson R. S., Shain I. // *Anal. Chem.* 1964. Vol. 36. N 4. P. 706. doi 10.1021/ac60210a007
20. Галюс З. Теоретические основы электрохимического анализа. М.: Мир, 1974. 552 с.
21. Горюховская В.И., Горюховский В.М. Практикум по электрохимическим методам анализа. М.: Высшая школа, 1983. 191 с.
22. Короткова Е.И. Автореф. дис. ... док. хим. наук. Томск, 2009. 44 с.
23. Galano A., Mazzone G., Alvarez-Diduk R., Marino T., Alvarez-Idaboy J.R., Russo N. // *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 2016. Vol. 7. P. 335. doi 10.1146/annurev-food-041715-033206
24. Milenković D., Yorović J., Jeremić S., Marković J.M.D., Avdović E.H., Marković Z. // *J. Chem.* 2017. Vol. 2017. P. 1. doi 10.1155/2017/5936239
25. Волков В.А., Мусин В.М. // *Кинетика и катализ*. 2015. Т. 56. № 1. С. 48; Volkov V.A., Misin V.M. // *Kinetics and Catalysis*. 2015. Vol. 56. N 1. P. 43. doi 10.1134/S0023158415010139
26. Mazzone G., Russo N., Toscano M. // *Comput. Theoret. Chem.* 2016. Vol. 1077. P. 39. doi 10.1016/j.comptc.2015.10.011
27. Белая Н.И., Белый А.В., Заречная О.М., Щербakov И.Н., Дорошкевич В.С. // *ЖОХ*. 2018. Т. 88. № 7. С. 1057; Belaya N.I., Belyi A.V., Zarechnaya O.M., Scherbakov I.N., Doroshkevich V.S. // *Russ. J. Gen. Chem.* 2018. Vol. 88. N 7. P. 1351. doi 10.1134/S1070363218070010
28. 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., Li X., Hratchian H.P., Izmaylov A.F., Bloino J., Zheng G., Sonnenberg J.L., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Vreven T., Montgomery J.A., Jr., Peralta J.E., Ogliaro F., Bearpark M., Heyd J.J., Brothers E., Kudin K.N., Staroverov V.N., Keith T., Kobayashi R., Normand J., Raghavachari K., Rendell A., Burant J.C., Iyengar S.S., Tomasi J., Cossi M., Rega N., Millam J.M., Klene M., Knox J.E., Cross J.B., Bakken V., Adamo C., Jaramillo J., Gomperts R., Stratmann R.E., Yazyev O., Austin A.J., Cammi R., Pomelli C., Ochterski J.W., Martin R.L., Morokuma K., Zakrzewski V.G., Voth G.A., Salvador P., Dannenberg J.J., Dapprich S., Daniels A.D., Farkas O., Foresman J.B., Ortiz J.V., Cioslowski J., Fox D.J. Gaussian 09, Revision B.01 Gaussian, Inc., WallingfordCT, 2010.
29. Galano A., Alvarez-Idaboy J.R. // *Int. J. Quantum. Chem.* 2019. Vol. 119. P. 1. doi 10.1002/qua.25665
30. Marenich A.V., Cramer C.J., Truhlar D.G. // *J. Phys. Chem. (B)*. 2009. Vol. 113. P. 6378. doi 10.1021/jp810292n
31. Tomasi J., Mennucci B., Cammi R. // *Chem. Rev.* 2005. Vol. 105. N 8. P. 2999. doi 10.1021/cr9904009
32. Armarego W.L.F., Chai C.L.L. *Purification of Laboratory Chemicals*. Burlington: Elsevier Science, 2003. 608 p.
33. ГОСТ 32937–2014. Продукция парфюмерно-косметическая. Инверсионно-вольтамперометрический метод определения свинца. М.: Стандартинформ, 2016. 15 с.
34. Хенце Г. Полярография и вольтамперометрия. Теоретические основы и аналитическая практика. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2008. 284 с.

Phenolcarboxylic Acids in the Reaction with Electrogenenerated Hydroperoxyl Radical

N. I. Belaya^{a,*}, A. V. Belyi^a, O. M. Zarechnaya^b, I. N. Shcherbakov^c, and V. S. Doroshkevich^a

^a Donetsk National University, Donetsk, 83001 Ukraine

^b L.M. Litvinenko Institute of Physical and Organic Chemistry and Coal Chemistry, Donetsk, 83114 Ukraine

^c Southern Federal University, Rostov-on-Don, 344006 Russia

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

Received May 21, 2020; revised May 21, 2020; accepted June 1, 2020

Using the chronovoltammetric method, it was shown that on a mercury electrode in an acidic medium the reduction of oxygen at the presence of phenolcarboxylic acids occurs as a reversible electrode process with the subsequent limiting chemical reaction involving the product of the electrode reaction – the hydroperoxyl radical. The rate constants of the reaction of phenolcarboxylic acids with radicals were calculated using the theory of the electrode process followed by a chemical reaction. A possible reaction mechanism, electron transfer from the acid molecular form to the radical, was confirmed by the correlation between the experimental rate constants and the ionization potentials of phenolcarboxylic acids calculated by the DFT method.

Keywords: phenolcarboxylic acid, hydroperoxyl radical, antioxidant, ionization potential