Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «ЮЖНЫЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи

BAR.

Белая Наталья Ивановна

РЕГРЕССИОННО-КЛАССИФИКАЦИОННАЯ МОДЕЛЬ «ДЕСКРИПТОР – АКТИВНОСТЬ» В КИНЕТИКЕ РАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ПРИРОДНЫХ ФЕНОЛОВ

02.00.04 – Физическая химия (химические науки)

ΑΒΤΟΡΕΦΕΡΑΤ

диссертации на соискание ученой степени доктора химических наук

Ростов-на-Дону – 2021

Работа выполнена на кафедре физической и коллоидной химии имени профессора В.А. Когана химического факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Южный федеральный университет».

Научный консультант:	Щербаков Игорь Николаевич
	доктор химических наук, доцент, заведующий
	кафедрой физической и коллоидной химии имени
	профессора В.А. Когана химического факультета
	ФГАОУ ВО «Южный фелеральный университет»
	(г. Ростов-на-Дону)
Официальные оппоненты:	Кустова Татьяна Петровна
	доктор химических наук, профессор, директор
	Института математики, информационных
	технологий и естественных наук, заведующая
	кафедрой фундаментальной и прикладной химии
	ФГБОУ ВО «Ивановский госуларственный
	университет» (г. Иваново)
	Ланкратов Алексай Николаевии
	HARKPATOB AJERCEN HAVE Inotheccon Inotheccon
	доктор химических наук, профессор, профессор
	кафедры аналитической химии и химической
	экологии Института химии ФІБОУ ВО
	«Саратовский национальный исследовательский
	государственный университет имени
	Н.Г. Чернышевского» (г. Саратов)
	Хайруллина Вероника Радиевна
	доктор химических наук, доцент, профессор
	кафедры физической химии и химической

кафедры физической химии и химической экологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет» (г. Уфа)

Защита состоится «28» октября 2021 г. в 14.00 ч. на заседании диссертационного совета ЮФУ02.01 по химическим наукам при Южном федеральном университете по адресу: 344090 г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, д.194/2, НИИ физической и органической химии ЮФУ.

С диссертацией можно ознакомиться в Зональной научной библиотеке Южного федерального университета по адресу: г. Ростов-на-Дону, ул. Зорге, д. 21-Ж, 2 этаж и на сайте https://hub.lib.sfedu.ru/diss/show/1287407/

Отзыв (в нем укажите дату, а также полностью свои фамилию, имя, отчество, ученую степень со специальностью, звание, организацию, подразделение, должность, адрес, телефон, e-mail) с заверенной подписью рецензента и печатью учреждения просим направлять простым письмом в 2 экз. ученому секретарю диссертационного совета ЮФУ02.01 при ЮФУ по адресу: 344090 г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, д.194/2, НИИ физической и органической химии ЮФУ, ученому секретарю диссертационного совета ЮФУ02.01 Душенко Галине Анатольевне (а также в формате .pdf – на e-mail: gadushenko@sfedu.ru)

Автореферат разослан «____ » ____ 2021 г.

Ученый секретарь диссертационного совета ЮФУ02.01, доктор химических наук

Душенко Галина Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень её разработанности. Радикал и антиоксидант – два неразрывно связанных понятия. Именно антиоксиданты способны контролировать важнейшие радикальные процессы, начиная от цепных реакций окисления органических веществ и материалов на их основе и заканчивая радикальными превращениями с участием активных форм кислорода в окружающей среде и организме человека. Эти вещества даже в ничтожно малых количествах могут изменять механизм реакций с участием радикалов, позволяя химику-экспериментатору не только управлять ходом и направлением процесса, но и оптимизировать условия его проведения. По удобству в использовании, экспрессности и мобильности ни один физический способ подавления радикальной активности в системе (пониженные температуры, упаковка, среда инертных газов) не сравнится с применением антиоксидантов.

К настоящему времени в качестве антиоксидантов испытаны тысячи химических веществ различных классов, но первостепенное значение как наиболее эффективные ингибиторы окисления уже долгое время сохраняют фенольные соединения. Наиболее изученными в качестве ингибиторов радикальных процессов являются пространственно-затрудненные фенолы, которые в основном и составляют группу лабораторных и промышленных антиоксидантов. Что касается неэкранированных фенолов, то их изучению уделялось значительно меньше внимания. Интерес к таким веществам возрос в последние десятилетия в связи с более глубоким изучением природных антиоксидантов, которые относятся к этой группе фенолов. Среди природных фенольных соединений обнаружены вещества, значительно превышающие по своей активности известные синтетические антиоксиданты.

Большой интерес в этом плане представляют фенолы растительного происхождения, которые в значительном количестве поступают в организм человека, поскольку являются обязательным компонентом почти любого растительного продукта питания. В растениях все эти вещества находятся в определенных соотношениях, которые создались в процессе эволюции при взаимодействии с окружающей средой. Это и обусловливает преимущества растительных препаратов, полученных, как правило, экстракцией из растительного сырья, по сравнению с веществами, полученными путем химического синтеза. Природные фенолы как естественные агенты обмена веществ не нарушают химический гомеостаз организма и не вызывают ответной реакции со стороны иммунной системы. Большое значение имеет их

низкая токсичность, а значит, и возможность применения в течение длительного времени. Кроме того, неэкранированные фенолы способны образовывать феноксильные радикалы, обладающие способностью вступать в реакции передачи цепи окисления, выполняя таким образом роль буфера, поддерживающего скорость окисления на определенном уровне. В связи с этим постоянно проводится целенаправленный поиск эффективных ингибиторов радикальных процессов среди объектов растительной природы, что позволяет открыть как новые классы антиоксидантов, так и новые природные источники известных ингибиторов окисления. Многие структуры, обнаруженные в результате выбора природных объектов, в последующем получают синтетическим путем.

На данный момент можно сказать, что изучение антиоксидантов природного происхождения проводится по двум направлениям:

1) расширение ассортимента соединений, обладающих выраженными антиоксидантными свойствами;

2) поиск и исследование кинетических моделей для оценки эффективности антиоксидантов и изучения механизмов их действия.

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

Довольно широко проводят моделирование механизма действия антиоксидантов путем расчета констант скоростей реакций вещества с радикалами различной природы неэмпирическими методами теории функционала плотности (DFT). Предлагаются алгоритмы расчета антирадикальной активности веществ QM-ORSA (Quantum Mechanics based test for Overall free Radical Scavenging Activity). Их применение позволяет в десятки раз сократить временные и материальные затраты на поиск и требует обязательного скрининговые испытания, но все равно экспериментального подтверждения на доклинической стадии.

Эмпирические кинетические модели безусловно более надежны для оценки эффективности антиоксидантов, но по сравнению с неэмпирическими методами являются более трудо- и времяемкими. В эту группу стоит отнести классические модельные реакции радикально-цепного окисления органических веществ; реакции генерирования свободных радикалов путем электровосстановления кислорода, радиолиза и фотолиза воды; процессы

распада генераторов свободных радикалов; реакции с участием стабильных радикалов и др.

Особое место занимают полуэмпирические модели прогнозирования различных видов биологической активности на основе количественной взаимосвязи «структура – реакционная способность вещества» QSAR/ QSPR (Quantitative Structure – Activity/Property Relationships) в виде регрессионных уравнений. В этом случае при выборе антиоксиданта сочетаются как квантовохимические 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 регрессионных зависимостей параметров антирадикальной активности антиоксиданта от показателя его структуры есть сложная комплексная задача, которая требует учета ряда факторов. Отметим наиболее важные из них:

- выбор модельной реакции (или реакций), приводящей к образованию такого свободного радикала, который способен активно реагировать с потенциальным антиоксидантом;
- установление возможного антирадикального механизма действия вещества;
- выбор набора механизм-зависимых дескрипторов, необходимого для описания искомой активности;
- экспериментальное определение показателя реакционной способности антиоксиданта, поскольку адекватность полученных полуэмпирических регрессионных уравнений часто зависит от того, какой параметр антиоксидантной активности был выбран экспериментатором.

Очевидно, что все перечисленные факторы взаимосвязаны между собой и требуют обязательного учета при составлении полуэмпирической модели скрининга, основанной на одно- или многофакторных зависимостях реакционной способности природных фенолов от их структуры. К сожалению, на данный момент чаще всего учитывается только часть указанных параметров или вообще связь «структура–реакционная способность» строится спонтанно для соединений разных классов и приводит лишь к качественным выводам. Количественные зависимости антирадикальной активности природных фенолов от параметров их строения встречаются редко, как правило, для малого числа веществ с низким уровнем статистической обработки данных.

Целью диссертационной работы является создание прогностической регрессионно-классификационной модели на основе исследования кинетики

радикального окисления природных фенольных соединений и формирования систем многофакторных регрессий между механизм-зависимыми молекулярными дескрипторами и реакционной способностью фенолов.

Для реализации поставленной цели решались следующие задачи:

- разработать регрессионно-классификационный алгоритм скрининга природных фенольных антиоксидантов на основе систем взаимосвязанных одно- и многофакторных регрессий «дескриптор – антирадикальная активность»; выявить механизм-зависимые молекулярные дескрипторы, важные в контексте заданного типа активности;
- 2) исследовать кинетику и механизм реакции различных групп растительных мономерных фенолов с N- и О-центрированными радикалами в средах с разной полярностью и протоноакцепторной способностью; определить стехиометрические, кинетические, активационные параметры реакций; рассчитать квантово-химическими методами геометрические, характеристики электронные И реактантов, термохимические предреакционных комплексов, переходных состояний, постреакционных комплексов и продуктов реакции; составить представительные ряды реакционной способности веществ на основе экспериментальных констант скоростей реакций фенолов с радикалами;
- идентифицировать продукты вторичного радикального превращения природных фенолов, принимающих участие в дальнейших окислительных реакциях с радикалами;
- сформировать кинетические схемы реакций, отражающие особенности кинетики радикального превращения природных фенолов и позволяющие разделить их на группы веществ с разной реакционной способностью;
- 5) провести поиск, идентификацию и квантово-химические расчеты молекулярных дескрипторов ArOH, связанных с лимитирующей стадией механизма исследуемой реакции; установить статистически значимые одно- и многофакторные регрессионные зависимости «дескриптор активность»;
- 6) проверить прогностическую способность предложенной регрессионноклассификационной модели путем исследования кинетики реакций О- и Nцентрированных радикалов с контрольной группой веществ в разных средах с расчетом абсолютной и относительной погрешности прогнозируемой константы скорости.

Научная новизна. В первые на основе систем взаимосвязанных одно- и двухфакторных линейных уравнений «дескриптор – активность» создана новая прогностическая регрессионно-классификационная модель

скрининга природных фенолов по антирадикальной активности. Применение специализированных кинетических схем и комбинация нескольких линейных регрессий на каждом этапе скрининга дает возможность одновременно количественно оценить активность фенолов и разделить их на группы веществ с высокой, средней и низкой антирадикальной активностью.

При разработке прогностической модели было реализовано не традиционное соотношение «структура – активность», а комплексная взаимосвязь «среда – механизм – дескриптор – активность», что позволяет решить главную проблему методологии QSAR – учет данных о механизме проявления активности вещества.

Идентифицированы и рассчитаны квантово-химические молекулярные дескрипторы природных фенолов, связанные с механизмом их действия в реакции с N- и О-центрированными радикалами в разных средах. Получены статистически значимые одно- и двухфакторные линейные регрессионные зависимости экспериментальных констант скоростей реакций от величин дескрипторов, вычисленных методом DFT.

Рационализирована методология идентификации продуктов вторичного радикального превращения природных фенолов – димерных фенольных соединений, принимающих участие в дальнейших окислительных реакциях с радикалами.

В первые теория электродного процесса с последующей необратимой химической реакцией хроновольтамперометрического применена для реакций определения скоростей природных фенолов констант С протонированной и депротонированной формами супероксид анион-радикала кислорода, генерируемых в процессе электровосстановления кислорода до пероксида водорода на ртутном пленочном электроде.

Сформированы кинетические схемы в разных средах, отражающие особенности окисления фенолов N- и О-центрированными радикалами и позволяющие классифицировать природные антиоксиданты по эффективности их действия.

путем комбинации Впервые кинетических, спектральных И квантово-химических методов установлено, что в неполярных средах (бензол) при окислении различных групп природных фенольных соединений 2,2'дифенил-1-пикрилгидразилом реакция протекает, как И В случае С пероксирадикалами, по РСЕТ-механизму согласованного (одностадийного) переноса протона и электрона с фенола на радикал.

Показано, что в реакции ArOH с 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразилом, 2циано-, 2-амидиноизопропанпероксилами и гидропероксилами *в полярных неионизирующих средах* (ДМСО, водная среда с pH = 2) реакция протекает по

одинаковому ЕТ–РТ-механизму переноса электрона с последующей потерей протона образующимся катион-радикалом фенола.

В рамках теории Маркуса и на основании одно- и двухфакторной регрессионной зависимости «дескриптор – активность» доказано, что *в* ионизирующих средах (водная среда с pH = 7–9) реакция ArOH с 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразилом, 2-амидиноизопропанпероксилами, HOO[•] и $O_2^{\bullet-}$ протекает либо по SPLET-механизму последовательной потери протона с переносом электрона от образующегося фенолят-иона, либо реализуется комбинация механизмов SPLET и ET–PT.

Теоретическая и практическая значимость работы. Создана новая прогностическая регрессионно-классификационная модель скрининга природных фенолов по антирадикальной активности в разных средах, основанная на системах одно- и двухфакторных линейных уравнений, связанных с соответствующими специализированными кинетическими схемами реакций.

Идентификация и расчет квантово-химических молекулярных дескрипторов, зависимых от механизма антирадикального действия природных фенолов, а также наличие большого объема экспериментальных констант скоростей реакций позволили описать количественную зависимость «дескриптор – активность» в виде статистически значимых линейных регрессий.

С применением кинетических схем, состоящих из модельных реакций ArOH с N- и O-центрированными радикалами, изученные антиоксиданты были разделены на группы с высокой, средней и низкой антирадикальной активностью. Такая классификация стала возможной, поскольку установлено, что акцепторы пероксирадикалов не всегда проявляют себя в реакции с 2,2'дифенил-1-пикрилгидразилом, в то время как вещества активные с гидразильным радикалом, эффективны и с пероксирадикалами.

Использование в кинетических схемах реакций нескольких Оцентрированных радикалов позволяет легко модифицировать модель путем замены уравнений регрессий на определенном этапе оценивания. В водных средах на втором уровне скрининга замена амидиноизопропанпероксилов на разные формы супероксид анион-радикала кислорода дает возможность максимально приблизить условия прогнозирования к реальным объектам.

Разработанная модель решает проблему одновременного оценивания реакционной способности природных мономерных фенолов И дифференцирования эффективности Ee ИХ действия. ПО высокая прогностическая способность доказана путем исследования констант

скоростей реакций радикального окисления контрольной группы веществ (гидроксиацетофенонов) с расчетом относительной погрешности аппроксимации, величина которой не превышает 10–12 %.

Предложенный комплексный подход «среда – механизм – дескриптор – активность» дает возможность расширить область традиционного моделирования «структура – активность» и улучшить прогностическую способность получаемых моделей.

Впервые разработанная методология определения констант скоростей реакций природных фенолов с HOO^{\bullet} и $O_2^{\bullet-}$ в рамках теории электродных процессов с последующими химическими реакциями позволила исследовать кинетику и механизм антирадикального действия веществ в процессе электровосстановления O_2 до H_2O_2 на ртутном электроде, протекающем аналогично превращениям кислорода в организме человека.

Оптимизированная методология идентификации димерных фенольных соединений как вторичных продуктов превращения природных фенолов дает возможность определять наиболее вероятные структуры димеров, которые принимают участие в дальнейших окислительных превращениях с радикалами, тем самым обеспечивая пролонгированное действие исходного антиоксиданта.

Методология и методы исследования. Для достижения поставленных целей использовались методы фотоколориметрии, хемилюминесценции, хроновольтамперометрии, полярографии, потенциометрии, УФ-, ИК-Фурье- и ЯМР-спектроскопии; QSPR-метод в программе Marvin 18.14; метод теории функционала плотности с использованием гибридного функционала B3LYP в сочетании с базисными наборами 6-311G и 6-311++G(d,p) в программе Gaussian 09. Анализ распределения электронной плотности в рамках квантовой теории атомов в молекулах (QTAIM) осуществлялся в Multiwfn 3.3.9. Константы скоростей реакций определялись методом Гира в программном пакете Kinet (версия 0.8). Статистическая обработка результатов эксперимента, одно- и двухфакторный линейный регрессионный анализ проводились в системе Statistica Demo 6.0.

На защиту выносятся следующие положения:

регрессионно-классификационная новая прогностическая модель фенолов скрининга природных ПО антирадикальной активности, основанная на системах одно- и двухфакторных линейных уравнений активность», связанных С соответствующими «дескриптор кинетическими схемами реакций;

- методология определения эмпирического параметра антирадикальной активности природных фенолов, связанного с лимитирующей стадией исследуемой реакции и определяющего статистическую значимость зависимости «дескриптор – активность»;
- оптимизированная методология идентификации фенольных димеров продуктов вторичного радикального превращения фенолов, принимающих участие в дальнейших окислительных превращениях с радикалами, путем комбинации кинетических, спектральных и квантовохимических методов;
- составление представительных рядов реакционной способности веществ на основе экспериментальных констант скоростей реакций фенолов (гидроксибензолов, гидроксибензойных и гидроксикоричных кислот, флавоноидов) с N- и О-центрированными радикалами в средах, имитирующих биологические системы на органической и водной основах;
- формирование кинетических схем реакций, отражающих особенности кинетики радикального окисления природных фенолов и позволяющих дифференцировать их по эффективности действия в разных средах;
- методология поиска молекулярных дескрипторов ArOH, связанных с лимитирующей стадией механизма реакции фенолов с N- и Оцентрированными радикалами в средах с разной полярностью и протоноакцепторной способностью;
- алгоритм проверки прогностической способности предложенной регрессионно-классификационной модели путем исследования константы скорости реакции N- и О-центрированных радикалов с контрольной группой веществ (гидроксиацетофенонов) с расчетом абсолютной и относительной погрешности прогнозируемой константы скорости.

Личный вклад автора. Основная часть включенных в диссертацию результатов получена автором лично или в соавторстве с коллегами. Автором осуществлены выбор и обоснование темы, постановка исследований, формирование массивов экспериментальных кинетических данных, вычисления, анализ и интерпретация полученных результатов, формулировка выводов и научных положений.

Степень достоверности и апробация результатов. Работа выполнена с использованием современных методов химической кинетики, квантовой химии и математической статистики, что обеспечивает достоверность полученных результатов. Материалы диссертационной работы были представлены на международных конференциях: International Conference «Modern physical chemistry for advanced materials» (Харьков, 2007); VIII, IX Международная конференция «Биоантиоксидант» (Москва, 2010, 2015); V, IV International Conference «Modern problems of physical chemistry» (Донецк, 2011, 2013); I, II Международная конференция «Химическая термодинамика и кинетика» (Донецк, 2011, 2012); Международная научно-практическая конференция «Перспективы развития научно-практических исследований в сфере естественных и медицинских наук» (Киев, 2014); VI, VIII, IX Международная научная конференция «Химическая термодинамика И кинетика» (Тверь, 2016, 2018, 2019); Х Международный Симпозиум «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты» (Москва, 2018); III, V, VII, X Международная научная конференция «Химическая термодинамика и кинетика» (Великий Новгород, 2013, 2015, 2017, 2020).

Публикации по теме диссертации. Основные научные результаты работы изложены в 29 научных статьях, которые опубликованы в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, а также входящих в базы данных международных индексов научного цитирования Scopus и/или Web of Science, 2 патентах и 16 тезисах.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, литературного обзора, шести глав основного содержания, выводов, списка литературы (348 ссылок). Материал работы изложен на 323 страницах и содержит 69 рисунков и 62 таблицы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. Литературный обзор

В первом разделе проведен анализ литературных данных по активности фенолов растительного происхождения разных групп В реакции co свободными радикалами. Наиболее распространенные механизмы ИХ антирадикального действия в органических и водных средах рассмотрены во втором разделе. Как показано в разделе третьем, антиоксидантные свойства природных фенолов зависят не только от способности их молекул реагировать с радикалами, но и от активности образующихся из них продуктов. Проведенный в четвертом разделе анализ современных литературных одно ведущих данных показал, что ИЗ мест В прогнозировании антирадикальной активности веществ занимают полуэмпирические модели на основе количественной взаимосвязи «структура – реакционная способность».

ГЛАВА 2. Экспериментальная часть

В работе использованы традиционные для данной области химической кинетики методики синтеза, очистки и подготовки реагентов, которые широко применяются, хорошо отработаны и дают надежные результаты.

Стехиометрические, кинетические и активационные параметры реакции фенольных антиоксидантов с 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразилом (DPPH[•]) определялись фотоколориметрическим методом в апротонных и водных T = 298 - 318К. хемилюминесценции средах при Методом (ХЛ). 6Ж И 9,10-дибромантраценом активированной родамином (DBA), ArOH исследовались кинетические параметры скорости реакции С пероксирадикалами – 2-амидино- (АРОО•) и 2-цианоизопропанпероксилами (NPO0[•]), образующимися при термическом распаде 2,2'-азобис(2амидинопропан) дигидрохлорида (ААРН) в буферном растворе с pH = 2-9 и азодиизобутиронитрила (AIBN) в бензоле и диметилсульфоксиде при T = 323±2 К. Методом хроновольтамперометрии определялись константы скорости реакции ArOH с HOO[•] и $O_2^{\bullet-}$, генерируемыми в процессе катодного электровосстановления (ЭВ) O₂ до H₂O₂ на ртутном пленочном электроде в буферных растворах с pH = 2-9 при $T = 298\pm 2$ К.

Дейтеропроизводные фенольных соединений (ArOD) синтезировались путем изотопного обмена между ArOH и диоксидом дейтерия (D₂O). Для этого ArOH (C = 0.025 моль·л⁻¹) и D₂O, объемная доля которого в реакционной системе составляла 20 об.%, смешивались в ДМСО-d₆, а затем

термостатировались в течение 10 минут при 298 К и постоянном барботировании аргоном. Методом ЯМР-спектроскопии установлено, что за указанный промежуток времени степень дейтерирования достигает 97–98 %. Для изучения дейтериевого изотопного эффекта использовались непосредственно реакционные растворы, содержащие необходимое дейтеропроизводное.

Идентификация вторичных продуктов превращения природных фенолов проводилась методами ИК-Фурье- и ЯМР-спектроскопии. Наличие ионных форм ArOH подтверждалось методом УФ-спектроскопии.

Константы скорости реакции ArOH с радикалами рассчитывались методом Гира в программном пакете Kinet (версия 0.8). Расчет рК_а фенолов, распределение их ионных форм в зависимости от pH среды, а также прогнозирование ЯМР-спектров проводились методом QSPR в Marvin 18.14.

В рамках теории функционала плотности (DFT) с использованием гибридного функционала ВЗLYP/6-311G В программе Gaussian 09 исследовались сечения поверхностей потенциальных энергий реакции DPPH. с гидроксибензолами, рассчитывались геометрические, электронные и термохимические характеристики основных стационарных точек пути минимальной энергии: реагентов, пред- и постреакционных комплексов, переходных состояний и продуктов. Наличие водородных связей в Ндоказывалось путем анализа распределения комплексах электронной плотности в рамках квантовой теории атомов в молекулах (QTAIM) в сочетании с методом анализа нековалентных взаимодействий (NCI) в Multiwfn 3.3.9. На уровне B3LYP/6-311++G(d,p) вычислялись молекулярные дескрипторы ArOH (прочности О-Н-связи, адиабатические потенциалы молекулярных и ионных растворителя ионизации форм). Влияние учитывалось в рамках континуальной модели РСМ.

Статистическая обработка результатов эксперимента, одно- и двухфакторный линейный регрессионный анализ проводились в системе Statistica Demo 6.0.

ГЛАВА 3. Радикальные реакции окисления природных фенолов в неполярных апротонных средах

Объекты исследования (представительный ряд растительных фенольных соединений) выбирались путем комплексного исследования фенольных реакционной способности природных антиоксидантов В индивидуальном виде и в составе растительных экстрактов. Часть фенолов обучающую представляет собой выборку (гидроксибензолы, гидроксибензойные и гидроксикоричные кислоты, флавоноиды), а часть

контролирующую выборку (гидроксиацетофеноны). В обоих случаях присутствуют как активные, так и неактивные соединения для улучшения распознавания дескрипторов. Поскольку при исследовании не учитывался стерический фактор, то в ряд не включались соединения объемной структуры (димеры, тримеры и т.д.), а также гликозиды флавоноидов с двумя и более углеводными остатками.

Природа реакционной среды варьировалась в зависимости от величины ее диэлектрической проницаемости и протоноакцепторной способности (параметр $\beta_2^{\rm H}$), что позволило выбрать растворители, моделирующие как органические субстраты (бензол, гексан), так и физиологические жидкости организма (буферные растворы с pH = 2–9). Окисление природных фенолов проводилось радикалами разной структуры. В начале использовался модельный радикал DPPH[•] для первичного отбора наиболее эффективных антиоксидантов, затем радикалы, имитирующие пероксилы органических субстратов – липофильный NPOO[•] и гидрофильный APOO[•], на третьем уровне отбора ингибиторов применялись биорадикалы – HOO[•] и O₂^{•-}.

В подавляющем большинстве современных работ по исследованию связи «структура – активность природных фенолов» проводится поиск только молекулярных дескрипторов. При этом параметр реакционной способности вещества выбирается произвольно и, как правило, не связан с лимитирующей стадией исследуемой реакции. В представленной работе использовался иной подход – на первом этапе формирования прогностической модели «дескриптор – активность» проводился выбор эмпирического параметра вещества И методов определения, способствующих активности его повышению точности определяемых величин.

Исследование кинетики и механизма реакции представленных групп фенолов с DPPH[•] в неполярных средах (**Рис. 1**) позволило сформировать первичную стратегию поиска эффективных антиоксидантов среди фенольных соединений.



Рис. 1 – Кинетические кривые расходования DPPH[•] в реакции с пирокатехином (C = $3.8 \cdot 10^{-4}$ моль·л⁻¹) в растворителях с разной протоноакцепторной способностью: 1 – 1,4-диоксан ($\beta_2^{\rm H} = 0.47$); 2 – бензол ($\beta_2^{\rm H} = 0.14$); 3 – н-гексан ($\beta_2^{\rm H} = 0$). T = 298±2 K

Для всех исследуемых веществ на начальном быстро убывающем участке кинетических кривых установлены второй общий порядок и первый порядок по peareнтам, то есть peakция протекает как

$$DPPH^{\bullet} + ArOH \xrightarrow{k_{DPPH^{\bullet}(benz)}} DPPH - H + ArO^{\bullet}.$$
(1)

Значения константы скорости реакции (1) $k_{DPPH^{\bullet}(benz)}$ являются характеристикой антирадикальной активности (APA) фенолов (**Табл. 1**). В качестве эталонного антиоксиданта использовался водорастворимый аналог витамина Е – тролокс (Tx). Отношение константы исследуемого вещества к константе для тролокса представляет собой так называемый тролоксовый эквивалент ($T_{E (DPPH^{\bullet}(benz))} = k_{DPPH^{\bullet}(benz)}/k_{DPPH^{\bullet}(benz)}^{Tx}$).

Реакция ArOH с DPPH[•] состоит как минимум из двух стадий. Первая стадия (1) описывается константой k_{DPPH[•](benz)} и реализуется на начальном участке кинетической кривой (Рис. 1) с образованием первичных продуктов превращения – феноксильных радикалов (ArO[•]), что подтверждается порядком реакции по радикалу (n_{v₀(DPPH[•])}), равным 1. Вторая стадия относится к медленно убывающему участку, где порядок реакции (n_{т_{1/2}(DPPH[•])}) по DPPH[•] возрастает до 2-2.5 (Табл. 2). Это обусловлено дополнительным расходованием DPPH[•] в реакции с продуктами вторичного превращения фенолов – димерными фенольными соединениями, которые образуются при рекомбинации феноксирадикалов (2) и способны влиять на $(k_{DPPH^{\bullet}(benz)})$ величину константы скорости реакции исходного антиоксиданта с активным радикалом.



Идентификация димерных фенолов проводилась ПО которая рационализированной методике, включает вначале оценку возможности протекания процесса путем расчета термодинамических параметров реакции димеризации феноксилов в рамках теории DFT. Установлено, что наиболее вероятными структурами являются о,о-, п,п- и о,п-СС–димеры. Затем проводилось прогнозирование ЯМР-спектров выбранных структур методом QSPR в программе Marvin 18.14 с последующим сопоставлением с экспериментальными данными.

Таблица 1 – Экспериментальные значения кинетических параметров реакции ArOH с DPPH[•] и NPOO[•], а также расчетные значения прочностей наиболее слабой О–H-связи (D_{O-H(benz)}, кДж·моль⁻¹) и потенциалов ионизации (PI_{ArOH(dmso)}, эВ) молекул природных фенолов в бензоле и ДМСО. DFT B3LYP/6-311++G(d,p), PCM

Соединение	$\begin{array}{l} k_{DPPH^{\bullet}(benz)},\\ \mbox{$\rm JT$-MOJB$^{-1}$c$^{-1}$}\\ (T=298\ K) \end{array}$	T _E ^a (DPPH*(benz))	$\frac{k_{NPOO}(\text{benz})}{\text{JTMOJIb}^{-1} \cdot c^{-1}},$ $(T = 323 \text{ K})$	T_E^{b} (NP00 [•] (benz))	kdpph(dmso), л.моль ⁻¹ .c ⁻¹ (T = 298 K)	T _E ° (DPPH•(dmso))	knpoo [•] (dmso), jj:mojjb ⁻¹ .c ⁻¹ (T = 323 K)	T _E ^d (NPOO [•] (dmso))	${ m PI}_{ m ArOH(dmso)}{}^{ m c}$	Do-H(benz) ^f
Гидроксибензолы										
1 – пирокатехин	36.2±1.4	0.48	130±5	0.37	$(3.71\pm0.14)\cdot10^2$	0.79	$(1.58\pm0.05)\cdot10^3$	1.31	5.86	340(1)
2 – резорцин	< 0.01	_	32.1±1.5	0.091	< 0.01	_	$(3.0\pm0.09)\cdot10^2$	0.25	6.09	343 (1)
3 – орцин	< 0.01	_	45.3±1.5	0.13	< 0.01	_	$(5.6\pm0.2)\cdot10^2$	0.47	6.05	347 (1)
4 – гидрохинон	52.6±2.1	0.70	170±5	0.49	$(5.52\pm0.15)\cdot10^2$	0.74	$(2.94\pm0.09)\cdot10^3$	2.45	5.76	322 (1)
5 – метиловый эфир гидрохинона	60.3±2.2	0.80	150±5	0.43	$(6.22\pm0.22)\cdot10^2$	0.88	$(3.88\pm0.09)\cdot10^3$	3.23	5.67	320(1)
6 – пирогаллол	65.2±2.2	0.87	423±13	1.21	$(9.8\pm0.4)\cdot10^2$	1.31	$(6.2\pm0.2)\cdot10^3$	5.18	5.55	312 (1)
7 – флороглюцин	< 0.01	-	40.2±1.5	0.12	< 0.01	—	$(4.08\pm0.12)\cdot10^2$	0.34	6.12	348 (1)
8 – оксигидрохинон	60.4±2.2	0.81	400±13	1.14	$(7.3\pm0.3)\cdot10^2$	0.97	$(6.5\pm0.2)\cdot10^3$	5.42	5.63	317 (1)
			Гидрокси	юензойн	ые кислоты			-		
9 – салициловая кислота	< 0.01	_	2.40 ± 0.06	0.0069	< 0.01	_	32±2	0.03	6.50	393 (2)
10 – 3-метилсалициловая кислота	< 0.01	_	5.12±0.11	0.015	$(1.11\pm0.05)\cdot10^2$	0.15	82±3	0.07	6.29	385 (2)
11 – метиловый эфир 3-										
метилсалициловой кислоты	< 0.01	-	6.12±0.11	0.017	$(1.21\pm0.05)\cdot10^2$	0.16	$(1.70\pm0.06)\cdot10^2$	0.14	6.25	384 (2)
12 – 3-гидроксибензойная кислота	< 0.01	—	24.2±0.8	0.069	< 0.01	—	27±1	0.02	6.54	355 (3)
13 – 4-гидроксибензойная кислота	< 0.01	_	20.5±0.8	0.059	< 0.01	_	19±1	0.02	6.64	358 (4)
14 – этиловый эфир										
4-гидроксибензойной кислоты	< 0.01	_	33.6±1.5	0.096	42±2	0.06	26±1	0.02	6.59	354 (4)
15 – пирокатеховая кислота	31.2±1.4	0.42	55.1±1.6	0.16	$(3.00\pm0.09)\cdot10^2$	0.4	$(3.40\pm0.09)\cdot10^2$	0.28	6.11	341 (3)
16 – β-резорциловая кислота	< 0.01	-	20.0±0.8	0.057	58±2	0.08	38±2	0.03	6.50	351 (4)
17 – метиловый эфир										
β-резорциловой кислоты	< 0.01	—	13.0±0.4	0.037	82±3	0.11	58±3	0.05	6.37	358 (4)
18 – гентизиновая кислота	45.4±1.5	0.61	220±12	0.63	$(5.8\pm0.16)\cdot10^2$	0.77	$(9.5\pm0.4)\cdot10^2$	0.79	5.91	328 (5)
19 – ү-резорциловая кислота	< 0.01	—	40.0±1.5	0.11	$(1.51\pm0.05)\cdot10^2$	0.2	$(1.23\pm0.05)\cdot10^2$	0.10	6.23	344 (2)

Продолжение Та	блицы 1
----------------	---------

1										
20 – протокатеховая кислота	51.1±1.6	0.68	196±9	0.56	$(5.11\pm0.15)\cdot10^2$	0.68	$(7.5\pm0.3)\cdot10^2$	0.63	5.96	322 (3)
21 – α-резорциловая кислота	< 0.01	—	30.1±1.5	0.086	$(1.18\pm0.05)\cdot10^2$	0.16	72±3	0.06	6.32	347 (3)
22 – ванилиновая кислота	< 0.01	_	33.5±1.5	0.096	< 0.01	_	$(2.90\pm0.09)\cdot10^2$	0.24	6.18	348 (4)
23 – 3-пирогаллолкарбоновая										
кислота	53.3±1.6	0.71	221±11	0.63	$(2.5\pm0.09)\cdot10^2$	0.33	$(2.90\pm0.09)\cdot10^2$	0.24	5.76	321 (3)
24 – галловая кислота	54.3±1.6	0.72	156±7	0.45	$(8.5\pm0.4)\cdot10^2$	1.13	$(1.60\pm0.05)\cdot10^3$	1.33	5.81	320 (3)
25 – сиреневая кислота	36.1±1.4	0.48	100±5	0.29	$(7.5\pm0.3)\cdot10^2$	1.00	$(1.26\pm0.05)\cdot10^3$	1.05	6.15	335 (4)
26 – метилгаллат	58.2±1.6	0.78	160±5	0.46	$(2.31\pm0.09)\cdot10^2$	0.31	$(2.3\pm0.09)\cdot10^2$	0.19	6.14	319 (3)
27 – этилгаллат	60.4±1.7	0.81	180±5	0.52	$(2.62\pm0.09)\cdot10^2$	0.35	$(2.6\pm0.09)\cdot10^2$	0.22	6.20	318 (3)
28 – флороглюцинкарбоновая										
кислота	< 0.01	_	25±1.5	0.071	$(1.17\pm0.05)\cdot10^2$	0.16	$(1.4\pm0.05)\cdot10^2$	0.12	6.27	345 (4)
Гидроксикоричные кислоты										
36 – о-кумаровая кислота	< 0.01	_	120±5	0.34	< 0.01	_	$(1.2\pm0.05)\cdot10^2$	0.10	6.36	333 (2)
37 – м-кумаровая кислота	< 0.01	_	35.6±1.5	0.10	< 0.01	_	85±3	0.07	6.38	353 (3)
38 – п-кумаровая кислота	< 0.01	_	75±3	0.22	< 0.01	_	$(5.9\pm0.2)\cdot10^2$	0.49	6.14	339 (4)
39 – кофейная кислота	62.4±1.7	0.87	323±12	0.92	$(4.84\pm0.15)\cdot10^2$	0.65	$(1.59\pm0.05)\cdot10^3$	1.32	5.99	316 (3)
40 – феруловая кислота	30.2±1.4	0.43	111±5	0.32	$(4.03\pm0.15)\cdot10^2$	0.54	$(1.99\pm0.05)\cdot10^3$	1.66	5.88	333 (4)
41 – синаповая кислота	29.2±1.3	0.63	287±11	0.82	$(3.15\pm0.14)\cdot10^2$	0.42	$(2.74\pm0.09)\cdot10^3$	2.29	5.89	319 (4)
	•			Флавоно	иды					
42 – катехин	78.0±1.9	1.04	355±12	1.01	$(4.7\pm0.3)\cdot10^2$	0.63	$(1.25\pm0.05)\cdot10^3$	1.04	5.93	308 (3')
43 – галлокатехин	56.4±1.6	0.75	200±9	0.57	$(5.0\pm0.3)\cdot10^2$	0.67	$(1.85\pm0.05)\cdot10^3$	1.54	5.90	319 (3')
44 – кемпферол	31.2±1.4	0.41	98±4	0.28	$(3.54\pm0.14)\cdot10^2$	0.47	$(2.70\pm0.09)\cdot10^3$	2.25	5.90	337 (4')
45 – кверцетин	78.1±1.9	1.04	675±14	1.93	$(1.32\pm0.05)\cdot10^2$	0.18	$(3.85\pm0.12)\cdot10^2$	0.32	6.20	305 (3')
46 – изорамнетин	33.0±1.4	0.44	100±5	0.29	$(9.9\pm0.3)\cdot10^2$	1.32	$(5.5\pm0.2)\cdot10^3$	4.62	5.66	333 (4')
47 – морин	< 0.01	_	95±4	0.27	$(2.45\pm0.07)\cdot10^2$	0.33	$(8.00\pm0.4)\cdot10^2$	0.67	6.05	342 (4')
48 – мирицетин	45.0±1.5	0.60	211±9	0.60	$(1.41\pm0.05)\cdot10^2$	0.19	$(4.8\pm0.2)\cdot10^2$	0.40	6.17	321 (3')
49 – кверцитрин	75.0±1.9	1.00	428±13	1.22	$(7.5\pm0.3)\cdot10^2$	1.00	$(3.15\pm0.12)\cdot10^3$	2.63	5.78	311 (3')
50 – дигидрокверцетин	57.0±1.6	0.76	347±12	0.99	$(3.2\pm0.14)\cdot10^2$	0.43	$(9.9\pm0.4)\cdot10^2$	0.82	6.04	313 (3')

^a константа скорости реакции тролокса с DPPH[•] в бензоле при 298 К равна $k_{DPPH^{+}(benz)}^{Tx} = 75\pm2$ (л·моль⁻¹·c⁻¹); ^b константа скорости реакции тролокса с NPOO[•] в бензоле при 323 К равна $k_{DPPH^{+}(benz)}^{Tx} = 350\pm12$ (л·моль⁻¹·c⁻¹); ^c константа скорости реакции тролокса с DPPH[•] в ДМСО при 298 К равна $k_{DPPH^{+}(dmso)}^{Tx} = (7.5\pm0.3)\cdot10^2$ (л·моль⁻¹·c⁻¹); ^d константа скорости реакции тролокса с DPPH[•] в ДМСО при 298 К равна $k_{DPPH^{+}(dmso)}^{Tx} = (7.5\pm0.3)\cdot10^2$ (л·моль⁻¹·c⁻¹); ^d константа скорости реакции тролокса с NPOO[•] в ДМСО при 323 К равна $k_{DPOO^{•}(dmso)}^{Tx} = (1.20\pm0.05)\cdot10^3$ (л·моль^{-1·c⁻¹}); ^e PI_{ArOH} = ($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_{ArOH}·+ - ($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_{ArOH}, где PI_{ArOH} - адиабатический потенциал ионизации молекулы фенола, E_{tot} – полная электронно-ядерная энергия частицы, E_{ZPE} – энергия нулевых колебаний частицы, H_{corr} – температурная поправка к энтальпии; ^f D_{O-H} = (($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_{ArO+}·+($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_H) -($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_{ArO+}·+($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_H) -($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_{ArO+}·+($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_H) -($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_{ArO+}·+($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_H) -($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_{ArO+}·+($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_H) -($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_{ArO+}·+($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_H) -($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_{ArO+}·+($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_H) -($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_{ArO+}·+($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_H) -($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_{ArO+}·+($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_H) -($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_{ArO+}·+($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_H) -($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_{ArO+}·+($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_H) -($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_{ArO+}·+($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_H) -($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_{ArO+}·+($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr}$)_H) -($E_{tot} + E_{ZPE} + H_{corr$

Таблица 2 – Экспериментальные значения стехиометрических параметров природных фенолов с DPPH[•] в бензоле, а также валентные (и деформационные) колебания и химические сдвиги ¹Н фенольных О–Н-групп ArOH до и после реакции с радикалом (ArOH +DPPH[•]). T = 298±2 К

			ИК-	спектр	¹ Н ЯМР-спектр			
Соединение	n _{vo(DPPH} •)	n _{τ1/2} (DPPH•)	ν,	см ⁻¹	δ, м.д.			
		,	ArOH	ArOH+DPPH•	ArOH	ArOH+DPPH [•] ^a		
			Гидрокси	бензолы				
1 – пирокатехин	1.01	2.32	3630 (1350)	3520 (1350)	8.75, 8.41	9.15, 8.12,		
2 – резорцин	0.97	1.75	3650 (1380)	3550 (1380)	8.89	9.05, 8.45		
4 – гидрохинон	0.97	2.22	3640 (1340)	3520 (1341)	8.61	8.88, 8.19, 8.17		
6 – пирогаллол	1.02	2.55	3630 (1350)	3500 (1350)	8.75, 8.60, 6.18	8.92, 8.85, 5.63		
7– флороглюцин	0.99	1.82	3650 (1380)	3510 (1382)	8.83	9.10, 6.92		
8 – оксигидрохинон	1.08	2.23	3620 (1350)	3500 (1350)	8.85, 8.70, 8.51	9.15, 8.91, 8.14		
Гидроксибензойные кислоты								
13 – п-гидроксибензойная кислота	0.98	1.78	3600 (1410)	3510 (1412)	8.62	8.89		
20 – протокатеховая кислота	1.02	2.23	3595 (1420)	3500 (1420)	8.85, 8.52	9.17, 7.84		
22 – ванилиновая кислота	0.97	1.82	3610 (1400)	3490 (1400)	8.12	9.83		
24 – галловая кислота	1.05	2.12	3595 (1410)	3480 (1411)	8.76, 8.41, 6.48	6.70-6.93, 5.32		
25 – сиреневая кислота	1.01	1.07	3620 (1400)	3615 (1400)	8.73	_		
		Γ	идроксикорич	ные кислоты				
38 – п-кумаровая кислота	0.96	1.79	3595 (1380)	3480 (1381)	7.12	9.57		
39 – кофейная кислота	1.06	1.99	3590 (1390)	3470 (1390)	9.10, 8.71	8.45, 5.33		
40 – феруловая кислота	0.99	2.28	3595 (1400)	3470 (1400)	8.74	9.12		
41 – синаповая кислота	0.98	1.06	3595 (1380)	3590 (1382)	8.68	-		
Флавоноиды								
44 – кемпферол	0.98	1.74	3590 (1310)	3460 (1311)	12.1, 10.32, 9.15, 7.14	8.25		
45 – кверцетин	1.03	2.31	3585 (1320)	3450 (1320)	12.0, 10.31, 9.10, 8.85, 7.21	8.87, 5.50		
47 – морин	1.04	2.26	3590 (1330)	3460 (1331)	11.98, 10.18, 9.15, 7.54, 7.11	8.35, 5.36		
48 – мирицетин	1.06	2.24	3585 (1320)	3450 (1320)	12.08, 10.25, 9.22, 7.64, 7.51, 6.31	8.68, 5.24		

^а Химические сдвиги ¹Н, возникающие дополнительно (по сравнению со спектром индивидуального фенола) после реакции ArOH с радикалом DPPH[•].

Установлено (Табл. 2), что на прогнозируемых ЯМР-спектрах димеров, как и на экспериментальных спектрах для смеси ArOH с DPPH[•], появляются пики в области больших химических сдвигов для О–Н-групп, относительно которых идет димеризация в орто-положении. Остальные фенольные группы дают сигнал при меньших значениях химического сдвига, чем гидроксигруппы в исходном ArOH. Такие закономерности характерны для большинства изученных соединений.

Таким образом, димерные продукты превращения фенолов также как и исходный антиоксидант способны реагировать с DPPH[•], что выражается в наличии медленно убывающих участков на кинетических кривых (**Рис. 1**). В связи с этим для изучения элементарной реакции ArOH с радикалом, то есть при исследовании «собственно» APA природного фенола, константа скорости должна определяться до 50–60 % превращения радикала в условиях, исключающих влияние продуктов вторичного превращения антиоксиданта.

В рамках установленных методологических кинетических И особенностей активность природных фенолов 2-В реакции с цианоизопропанпероксилами (NPOO[•]) в бензоле определялась методом хемилюминесценции по специально выбранной методике. ХЛ возникает в реакции рекомбинации пероксилов и ее интенсивность (I₀) пропорциональна их концентрации. При добавлении в систему фенолов наблюдается уменьшение интенсивности (I) ХЛ-свечения за счет реакции дезактивации радикалов.

$$NPOO^{\bullet} + ArOH \xrightarrow{k_{NPOO^{\bullet}(benz)}} NPOOH + ArO^{\bullet}.$$
 (3)

Определение констант скоростей осуществлялось по нестационарной кинетике ХЛ (**Рис. 2**), когда концентрация феноксильных радикалов крайне мала, а вероятностью образования димерных фенолов можно пренебречь.



Рис. 2 – Кинетика относительной интенсивности XЛ при окислении AIBN в бензоле после введения ArOH (C = $5 \cdot 10^{-5}$ моль·л⁻¹): 1 – кверцетин; 2 – кофейная кислота; 3 – дейтеропроизводное кофейной кислоты. T = 323 K, $v_i = 5 \cdot 10^{-9}$ моль·л⁻¹·c⁻¹, [DBA] = $3 \cdot 10^{-3}$ моль·л⁻¹

Сравнительный (Табл. 1) анализ величин $T_{E(NPOO^{\bullet}(benz))}$ И Т_{Е (DPPH•(benz))} свидетельствует о том, что реакция с DPPH• позволяет провести первичный отбор веществ с антирадикальными свойствами и выявить самые эффективные антиоксиданты. Более чувствительна в этом плане реакция с цианоизопропанпероксилами, в которой проявляют себя вещества с меньшей реакционной способностью. Так, с гидразильным радикалом активность выше чем у тролокса проявили соединения 42, 45 и 49 (вещества с высокой АРА), а в реакции с NPOO[•] к указанным фенолам добавились еще 50, 8 и 6 (вещества со средней АРА). Для оставшихся соединений в обоих случаях $T_{E(NPOO^{\bullet}(benz))} < 1$ и $T_{E(DPPH^{\bullet}(benz))} < 1$ (группа с низкой АРА). Установленные закономерности позволяют сформировать кинетическую схему на основе реакций (1) и (3) для разделения природных фенолов на группы веществ с разной реакционной способностью.

Второй разработки регрессионно-классификационной этап был направлен на выбор неэмпирической прогностической модели составляющей, то есть молекулярных дескрипторов фенолов, связанных с лимитирующей механизма реакции. Специфика фенольных стадией антиоксидантов такова, что механизм их антирадикального действия определяется, как правило, природой реакционной смеси, поэтому для идентификации механизм-зависимых дескрипторов необходимо было реализовать логическую цепочку «среда – механизм – дескриптор».

Известно, что в неполярных средах реакция фенолов с радикалами протекает по механизму отрыва атома Н от фенольной О–Н-группы, который реализуется для алкильных радикалов как обычный перенос атома водорода (Hydrogen Atom Transfer, HAT), а для перекисных радикалов – путем согласованного одностадийного переноса протона и электрона с фенола на радикал (Proton-Coupled Electron Transfer, PCET). В отношении DPPH[•] говорят в общем об отрыве атома водорода, не проводя границы между указанными частными механизмами. Для решения поставленных в работе задач необходимо было установить, по какому из указанных механизмов дезактивируется DPPH[•].

Нами установлено (**Рис. 1**), что в неполярных средах чем меньше протоноакцепторная способность растворителя, тем выше активность ArOH в реакции с DPPH[•], что опосредованно свидетельствует о переносе атома водорода. Помимо косвенного доказательства, получено прямое экспериментальное подтверждение переноса атома H в реакции (1) путем определения величины дейтериевого изотопного эффекта DIE = k_{ArOH}/k_{ArOD} . Установлено, что скорость реакции DPPH[•] с легким фенолом в бензоле

заметно больше, чем в присутствии дейтеропроизводного ArOD, полученного путем изотопного обмена. Для разных групп фенолов величины DIE_(benz) изменяются в пределах 1.8–2.6. Аналогичные закономерности характерны и для NPOO[•] (**Рис. 2**).

Провести непосредственное разделение механизмов НАТ и РСЕТ возможно только квантово-химическим методом путем моделирования структуры предреакционных комплексов (RC) и переходного состояния (TS) реакции (1) (уровень B3LYP/6-311G). Механизм РСЕТ реакции ArOH с DPPH[•] в бензоле впервые идентифицирован по следующим характерным признакам:

1) по геометрической конфигурации (**Табл. 3**) полученные RC и TS могут быть в большей степени отнесены к механизму PCET: расположение фенольной O–H-группы близко к копланарному относительно плоскости бензольного кольца фенола (ϕ (H–O–C–C)), протон переходит к радикалу копланарно его плоскости (α (H–C–N–N[•])). Для HAT расположение основных структурных элементов ближе к перпендикулярному;

2) образование RC с водородной связью (BC). Во всех средах в RC реакции DPPH[•] с гидрохиноном выявлены пути связывания и связевые критические точки (3, -1), свидетельствующие о наличии нековалентных взаимодействий. ВС способствует снижению энергетического барьера реакции, а значит, перенос Н-атома по РСЕТ-механизму происходит быстрее, чем по пути НАТ. Наличие ВС в RC приводит к сближению реакционных центров и переносу электрона в TS. Как видно из представленных данных (Табл. 3), расстояние между атомами О и N в комплексе с BC и TS достаточно малы (приблизительно равны или меньше суммы радиусов Ван-дер-Ваальса для О и N), что способствует перекрыванию атомных p-орбиталей донора и акцептора. Отметим, что реализация РСЕТ будет тем эффективнее, чем меньше расстояние между электронным донором и акцептором. С ростом диэлектрической проницаемости среды, способствующей разделению полярных фрагментов TS, это расстояние закономерно увеличивается при переходе от бензола к ДМСО (Табл. 3), а значит, и вероятность реализации РСЕТ-механизма снижается;

3) перенос электронной плотности (ЭП) от фенольного к радикальному фрагменту в TS (Δq) осуществляется преимущественно с участием рорбиталей атомов донора и акцептора. Для визуализации переноса ЭП с молекулы гидрохинона на DPPH[•] были построены карты фрагментарной деформационной ЭП. Из полученных карт (**Рис. 3**) можно сделать следующий качественный вывод: в TS происходит перенос ЭП преимущественно от p_zорбитали атома О к p_z-орбитали атома N, ортогональных к линии связи О…H…[•]N, с некоторым вовлечением π -электронной системы бензольного

				газ					бензол				ДМСО						
Сон	оеди- ение	r(O-H)/ r(O…H)	r(H…'N)	r(O… ` N)	θ(O-H-N.)	φ(H-O-C-C)	a(H-C-N-`N)	r(O–H)/ r(O…H)	r(H…'N)	r(O… ` N)	θ(O-H-N•	φ(H-O-C-C)	α(H-C-N-`N)	r(O–H)/ r(O…H)	r(H…'N)	r(O… ` N)	θ(O-H-N.)	φ(H-O-C-C)	α(H-C-N-`N)
1	R	0.969				0		0.970				0		0.971				0	
	TS	1.152	1.363	2.469	158	44	-176	1.183	1.295	2.463	168	68	-159	1.206	1.269	2.470	170	70	-159
2	R	0.972				0		0.972				0		0.972				0	
	RC	0.985	1.904	2.820	154	3.7	168	0.987	1.890	2.822	156	1.7	169	0.989	1.879	2.824	159	1.7	170
	TS	1.251	1.226	2.460	167	35	178	1.272	1.209	2.465	167	37	177	1.332	1.165	2.485	169	44	178
3	R	0.972				0		0.972				0		0.972				0	
	RC	0.984	1.905	2.816	153	1.9	168	0.986	1.895	2.819	155	-0.4	169	0.990	1.868	2.819	160	-1.8	170
	TS	1.244	1.233	2.460	166	35	177	1.260	1.219	2.464	167	40	177	1.314	1.178	2.480	169	44	178
4	R	0.971				0		0.972				0		0.972				0	
	RC	0.983	1.921	2.828	152	7.2	169	0.986	1.891	2.813	154	1.0	168	0.988	1.883	2.818	157	-0.8	169
	TS	1.193	1.267	2.445	168	-38	-179	1.205	1.258	2.449	168	-36	-180	1.235	1.231	2.457	170	-35	-180
5	R	0.971				0		0.972				0		0.972				0	
	RC	0.983	1.913	2.823	153	5.3	167	0.985	1.895	2.821	155	1.9	168	0.988	1.881	2.820	157	1.3	168
	TS	1.180	1.304	2.457	166	39	176	1.183	1.306	2.476	168	30	177	1.185	1.308	2.484	170	23	178
6	R	0.970				0		0.970				0		0.971				0	
	TS	1.160	1.350	2.466	158	42	-177	1.179	1.325	2.465	159	42	-177	1.227	1.245	2.475	171	72	-159
7	R	0.972				0		0.972				0		0.972				0	
	RC	0.986	1.885	2.812	156	0.4	169	0.987	1.881	2.815	157	0.4	169	0.991	1.855	2.819	163	0.1	171
	TS	1.253	1.224	2.453	168	36	178	1.279	1.203	2.469	168	37	178	1.349	1.155	2.493	170	44	179
8	R	0.970				0		0.970				0		0.971				0	
	TS	1.135	1.395	2.479	157	48	-169	1.136	1.393	2.482	158	51	-168	1.139	1.359	2.488	169	65	-160

Таблица 3 – Параметры геометрического и электронного строения реагентов (R), предреакционных комплексов (RC) и переходных состояний (TS) реакции гидроксибензолов с DPPH[•] в разных средах. B3LYP/6-311G, PCM

Примечание. 1) межатомные расстояния г выражены в Å; 2) углы α , θ , ϕ в градусах.



Рис. 3 – Карта разности фрагментарной деформационной ЭП в TS реакции DPPH[•] с гидрохиноном.

Изоповерхности темного (+0.004 а.е.) и светлого (-0.004 а.е.) цвета соответствуют области увеличения и уменьшения ЭП.

кольца фенола, что соответствует представлениям о механизме РСЕТ. Анализ состава граничных молекулярных орбиталей в приближении метода натуральных атомных орбиталей (NAO) (в программе Multiwfn 3.3.9) позволил определить, что вклад 1s-орбитали атома H незначителен и перенос ЭП происходит преимущественно от p_z-орбитали атома O к p_z-орбитали атома N, что характерно для PCET. Аналогичные закономерности наблюдаются и для реакций с пероксирадикалами.

Таким образом, впервые установлено, что реакция ArOH с DPPH[•] протекает, как и в случае с пероксильными радикалами, по PCET-механизму переноса атома водорода. Это позволяет включить реакцию с DPPH[•] в кинетическую схему с другими пероксилами для проведения первичного скрининга наиболее активных ингибиторов среди природных фенолов.

Дескриптором, связанным с РСЕТ-механизмом, является энергия гомолитического разрыва (прочность) наиболее слабой О–Н-связи в молекуле ArOH (D_{0-H}). Ее величина рассчитывалась в среде бензола на уровне B3LYP/6-311++G(d,p) (**Табл. 1**).

Чем меньше величина D_{O-H}, тем выше константа скорости ArOH с DPPH[•] и NPOO[•]. Величина прочности связана со скоростью лимитирующей стадии, что подтверждается наличием статистически значимых регрессионных зависимостей (4), (5) между D_{O-H} и APA вещества в реакции как с DPPH[•], так и с NPOO[•]:

$$ln k_{DPPH^{\bullet}(benz)} = (12.9 \pm 0.6) - (2.78 \pm 0.19) \cdot 10^{-2} D_{O^{-H(benz)}},$$
(4)

$$n = 24; \tilde{r} = 0.953; \tilde{r}^2 = 0.908; F = 217; p < 0.00000; S_{est} = 0.09;$$

$$d_{K-S} = 0.201 (p > 0.2).$$

$$ln k_{\text{NPOO}^{\bullet}(\text{benz})} = (24.9 \pm 0.8) - (6.10 \pm 0.12) \cdot 10^{-2} D_{\text{O-H(benz)}}, \quad (5)$$

n = 43; $\tilde{r} = 0.973$; $\tilde{r}^2 = 0.947$; F = 735; p < 0.0000; S_{est} = 0.3;
d_{K-S} = 0.11 (p > 0.2).

где n – объем выборки, \tilde{r} – коэффициент корреляции, \tilde{r}^2 – коэффициент детерминации, F – критерий Фишера проверки значимости линейной модели регрессии и его уровень значимости p, S_{est} – стандартная ошибка оценки; d_{K-S} – критерий Колмогорова-Смирнова (для оценки нормального распределения регрессионных остатков).

ГЛАВА 4. Реакции фенольных соединений в полярных апротонных средах

Кинетическая эксперимента меняется картина при повышении переходе ОТ бензола полярности среды — К диметилсульфоксиду. Стехиометрия реакции фенолов с радикалами в обоих растворителях одинакова, но активность соединений относительно тролокса увеличивается. В отличие от реакций в бензоле, где Т_{E(DPPH[•](benz))} ≥ 1 только для некоторых флавоноидов (42, 45, 49), в ДМСО близки по АРА к тролоксу флавоноиды – 45, 49, фенолкарбоновые кислоты – 24, 25 и пирогаллол (5) (Табл. 1). Аналогичные тенденции, установленные методом хемилюминесценции, характерны и для реакции ArOH с NPOO[•]. Активность выше чем у тролокса проявили 15 соединений (в том числе и вещества активные с гидразилом), что позволяет использовать реакцию с NPOO[•] в комбинации с DPPH[•] для определения фенолов с разной активностью.

Константы скорости в ДМСО по сравнению с бензолом возрастают в среднем на порядок (Табл. 1). Наличие такого положительного кинетического эффекта растворителя объясняется сменой механизма реакции. Установлено, что дейтериевый изотопный эффект в реакции ArOH с DPPH[•] и NPOO[•] в ДМСО равен единице, что говорит об отсутствии переноса атома водорода. Кроме того, наблюдается рост констант с увеличением полярности реакционной среды в смеси ДМСО-бензол, что является характерной чертой реакций переноса электрона.

Полученные данные свидетельствуют о реализации антирадикального действия природных фенолов в полярных апротонных средах по пути последовательного электронно-протонного переноса (Electron Transfer–Proton Transfer, ET–PT), который заключается в лимитирующей (slow) стадии переноса электрона от молекулы ArOH к радикалу (Rad[•]) с последующим переходом протона от образовавшегося феноксильного катион-радикала (ArOH^{•+}) к аниону акцептора (Rad⁻) или к молекуле растворителя (Solv).

$$ArOH + Rad^{\bullet} \xrightarrow{slow} ArOH^{\bullet+} + Rad^{-}, \qquad (6)$$

$$ArOH^{\bullet+} + Rad^{-} \rightleftharpoons ArO^{\bullet} + Rad - H$$

$$_{MJM}$$

$$ArOH^{\bullet+} + Solv \rightleftarrows ArO^{\bullet} + SolvH^{+}.$$

Квантово-химическим дескриптором, связанным с лимитирующей стадией механизма ЕТ–РТ (6), является энтальпия переноса электрона от антиоксиданта к радикалу, то есть потенциал ионизации фенола (PI_{ArOH}). Это подтверждается наличием в ДМСО выраженной зависимости АРА фенольных соединений от потенциалов ионизации их молекул для реакций и с DPPH[•], и с NPOO[•].

$$\ln k_{\text{DPPH}} \cdot (\text{dmso}) = (34.8 \pm 1.1) - (4.78 \pm 0.18) \text{ PI}_{\text{ArOH}(\text{dmso})},$$
(7)
n = 43; $\tilde{r} = 0.972$; $\tilde{r}^2 = 0.945$; F = 698; p < 0.0000; S_{est} = 0.31;
d_{K-S} = 0.15 (p > 0.2).

$$ln k_{\text{NPOO}^{\bullet}(\text{dmso})} = (34\pm1) - (4.55\pm0.16) \text{PI}_{\text{ArOH}(\text{dmso})}, \tag{8}$$

$$n = 43; \ \tilde{r} = 0.975; \ \tilde{r}^2 = 0.951; \ F = 788; \ p < 0.0000; \ S_{\text{est}} = 0.28;$$

$$d_{\text{K-S}} = 0.09 \ (p > 0.2).$$

ГЛАВА 5. Окисление природных фенолов радикалами в водных средах

При переходе к водным средам, помимо искусственных азот- и кислород-центрированных радикалов, в работе использовались биорадикалы, коими являются супероксид анион-радикал кислорода $(0_2^{\bullet-})$ и его протонированная форма (HOO[•]) как наиболее распространенные активные формы кислорода, возникающие в биологических системах на водной основе.

Для реакции фенолов с $O_2^{\bullet-}$ и HOO[•], генерируемыми в процессе электровосстановления O_2 до H_2O_2 на ртутном пленочном электроде в водных средах с pH = 2–9, не имеется методик, позволяющих в условиях эксперимента определять непосредственно константу скорости реакции ArOH с $O_2^{\bullet-}$ /HOO[•].

В связи с этим была разработана новая хроновольтамперометрическая методология определения константы скорости исследуемой реакции, в основу которой положена теория электродных процессов с последующими химическими реакциями. В рамках этой теории установлено, что в присутствии фенолов процесс ЭВ O₂ до H₂O₂ протекает как электродный обратимый с последующей лимитирующей химической необратимой реакцией первого порядка (при условии, что [ArOH]₀ >> [O₂]₀). Например, в кислой среде:

$$0_2 + \overline{e} + H^+ \rightleftharpoons H00^{\bullet},$$

$$H00^{\bullet} \xrightarrow{(+ \operatorname{ArOH}), k_1} H_2 0_2 + \operatorname{ArO}^{\bullet}.$$
 (9)

Это подтверждается характерными для таких процессов признаками: 1) потенциал пика восстановления кислорода в присутствии фенола смещается в положительную область с уменьшением скорости развертки потенциала (**Puc. 4a**); 2) наличие выраженной линейной зависимости (**Puc. 4б**) потенциала пика от логарифма обратной скорости развертки потенциала, согласно уравнению (**10**) теории электродных процессов с последующими химическими реакциями.

$$E_{p}^{k} = E_{1/2} - 0.78 \frac{RT}{nF} + \frac{RT}{2nF} ln \frac{RT}{nF} + \frac{RT}{2nF} ln \frac{k_{1}}{\nu},$$

$$E_{p}^{k} = \left(E_{1/2} - 0.78 \frac{RT}{nF} + \frac{RT}{2nF} ln \frac{RT}{nF} + \frac{RT}{2nF} lnk_{1}\right) + \frac{RT}{2nF} ln \frac{1}{\nu},$$
(10)

где E_p^k – потенциал пика тока ЭВ O₂ до H₂O₂ в присутствии ArOH, B; $E_{1/2}$ – обратимый потенциал полуволны ЭВ O₂ до H₂O₂, B; k₁ – константа скорости последующей химической реакции HOO[•] с ArOH первого порядка (при условии избытка фенола), с⁻¹; *n* – число электронов, участвующих в лимитирующей стадии; υ – скорость развертки потенциала, B·c⁻¹.



Рис. 4 – а) Хроновольтамперограммы ЭВ O₂ до H₂O₂ на РПЭ в солянокислом буфере с pH = 2 в присутствии 3-гидроксибензойной кислоты при разных скоростях развертки потенциала (B·c⁻¹): 1 – 0.02; 2 – 0.04; 3 – 0.06; 4 – 0.08. [ArOH] = $5 \cdot 10^{-4}$ моль·л⁻¹, [O₂] = $7 \cdot 10^{-6}$ моль·л⁻¹. T = 298±2 K. б) Определение константы скорости k₁ при взаимодействии 3-гидроксибензойной кислоты с радикалом HOO[•] в координатах уравнения: $E_p^k = -(39.75\pm0.05)\cdot 10^{-2} + (12.91\pm0.15)\cdot 10^{-3} ln \frac{1}{p}$

Из зависимость E_p^k от $\ln \frac{1}{n}$ определялись константа скорости k_1 реакции первого порядка (9) и число электронов (*n*), участвующих в лимитирующей стадии электрохимического процесса (Рис. 46). Из значений k₁ для разных начальных концентраций [ArOH]₀ рассчитывались порядок реакции по фенолу (n_{ArOH}) и константа скорости реакции второго порядка ($k_{0,-/HOO}$). Величина *n*, равная единице, подтверждает отсутствие влияния на реакцию вторичных превращения фенолов. Предложенная продуктов новая методология позволяет определить константу скорости элементарной реакции ArOH c $O_2^{\bullet-}$ /HOO[•] в средах с pH от 2 до 9 и способствует повышению точности определяемых величин.

Идентификация механизмов антирадикального действия фенольных соединений в водных средах связана с двумя крайними случаями – с сильнокислыми средами, где происходит перенос электрона от молекулы (ЕТ– РТ-механизм (6)) и сильнощелочными растворами, когда электрон переходит от фенолят-иона к радикалу (Sequential Proton Loss–Electron Transfer, SPLET).

$$ArOH + H_2O \rightleftharpoons ArO^- + H_3O^+,$$

$$ArO^- + Rad^{\bullet} \xrightarrow{slow} ArO^{\bullet} + Rad^-.$$
(11)

Для карбоксилсодержащих фенолов – фенолкарбоновых и гидроксикоричных кислот – в процессе дезактивации участвуют биионные формы фенолятов:

$$HOOCArOH + H_2O \rightleftharpoons ^{-}OOCArOH + H_3O^+,$$

$$^{-}OOCArOH + H_2O \rightleftharpoons ^{-}OOCArO^- + H_3O^+,$$

$$^{-}OOCArO^- + Rad^{\bullet} \xrightarrow{slow} ^{-}OOCArO^{\bullet} + Rad^{-}.$$
(12)

Кислая среда. В солянокислом буфере с pH = 2 скорость реакции ArOH с исследуемыми радикалами не изменяется при дальнейшем понижении pH среды, поскольку в системе присутствуют только молекулярные формы ArOH. Это является характерным признаком реализации механизма ET–PT в кислых средах. Теоретическая идентификация механизма переноса электрона (реакция (6)) в водных средах с разным pH проводилась с применением упрощенной формы классической теории Маркуса на примере реакции ди- и тригидроксибензолов с DPPH[•]. Поэтапное исполнение рассмотрим на примере кислого буферного раствора с pH = 2.

Уравнение Маркуса, базирующееся на теории переходного состояния, позволяет связать кинетический параметр реакции переноса электрона – свободную энергию активации ΔG^{\neq} с термодинамическим – стандартной свободной энергией реакции – ΔG° :

$$\Delta \mathbf{G}^{\neq} = \frac{\lambda}{4} \left(1 + \frac{\Delta \mathbf{G}^0}{\lambda} \right)^2,$$

где λ – энергия реорганизации, необходимая для предварительной частичной перестройки среды и ядерной конфигурации реагентов, которая создает условия для последующего перехода электрона от донора к акцептору.

Для оценки λ часто используется метод приближенного расчета (**Табл. 4**), основанный на разнице энергий начальных и конечных состояний электронного переноса (так называемый «четырехточечный метод»):

$$\lambda \approx \Delta E - \Delta G^0$$
,

где ∆Е – разность общих электронных энергий реагентов и продуктов для случая вертикального переноса электрона. Соответствующие энергии Е рассчитывались без термических и колебательных поправок для 0 °К, так как относятся к нестационарным состояниям.

Таблица 4 – Расчетные (∆G [≠] , кДж·моль ⁻¹) и экспериментальные (ΔG [≠] exp,
кДж·моль ⁻¹) величины свободных энергий активации, энергий реоргани	изации
$(\lambda, \kappa Дж \cdot Moль^{-1})$ и свободных энергий (ΔG° , к $Дж \cdot Moль^{-1}$) реакции (6)	

Соединение	$\Delta G^{\circ}_{\textbf{ET}-PT}$	$\lambda_{\text{ET-PT}}$	ΔG [≠] ET-PT	$\Delta G_{\exp(pH=2)}^{\neq}$
1 – пирокатехин	97.4	88.8	97.6	58.5
2 – резорцин	124.8	70.1	135.4	70.8
3 – орцин	120.6	68.2	130.7	69.9
4 – гидрохинон	93.8	71.6	95.5	57.7
5 – метиловый эфир				
гидрохинона	84.2	72.2	84.7	56.8
6 – пирогаллол	88.7	99.0	88.9	55.9
7 – флороглюцин	128.1	74.8	137.6	72.0
8 – оксигидрохинон	82.2	70.9	82.6	56.1

Установлена выраженная линейная зависимость свободной энергии Гиббса активации переноса электрона, рассчитанной по уравнению Маркуса, с аналогичной экспериментальной величиной:

$$\Delta G_{\text{ET-PT}}^{\neq} = -(95\pm11) + (3.24\pm0.18) \Delta G_{\exp (pH=2)}^{\neq},$$

n = 8; $\tilde{r} = 0.991$; $\tilde{r}^2 = 0.983$; F = 343; p < 0.0000; S_{est} = 3.36;
d_{K-S} = 0.18 (p > 0.2).

Это свидетельствует о возможности протекания ЕТ–РТ-механизма переноса электрона от молекулы антиоксиданта на радикал в кислой среде.

Завышенные значения энергии Гиббса активации (по сравнению с экспериментальными величинами $\Delta G_{\exp(pH=2)}^{\neq}$) обусловлены, по-видимому, участием в переносе электрона не индивидуальной молекулы фенола, а его комплекса с молекулами воды.

$$ArOH \cdots H_2O + DPPH^{\bullet} \rightarrow ArOH^{\bullet +} \cdots H_2O + DPPH^{-}.$$
(13)

Оценена возможность участия в лимитирующей стадии ArOH … H_2O , используя комбинированный подход, улучшающий точность расчета, в котором сочетаются явный учет гидратации фенолов одной молекулой воды с континуальной моделью PCM. Как следует из приведенных данных (**Табл. 5**), потенциал ионизации комплексов ArOH … H_2O меньше, чем у изолированной молекулы ArOH.

Таблица 5 – Геометрические параметры комплексов ArOH … H₂O, энтальпии их образования (Δ H^o, кДж·моль⁻¹), потенциалы ионизации (PI, эB), а также энергии реорганизации (λ , кДж·моль⁻¹), свободные энергии активации (Δ G[≠], кДж·моль⁻¹) и свободные энергии (Δ G^o, кДж·моль⁻¹) реакции (**13**)

Н- комплекс	r(О–Н) (донор)	r(O–H)	r(H…O)	α(O-H-··O)	$\Delta H^o_{ArOH \cdots H_2 O}$	$\Delta G^0_{\text{ET-PT}(\text{AroH}\cdots\text{H}_20)}$	λ ε τ-ρτ(aroh…H ₂ 0)	ΔG [≠] Let_pt(AfoH…H₂0)	Plaroh	$\mathrm{PI}_{\mathrm{ArOH}\cdots\mathrm{H}_2\mathrm{O}}$
1	0.969	0.983	1.748	178	-19.1	81.9	87.6	82.0	5.87	5.73
2	0.972	0.981	1.782	177	-16.6	112.0	68.2	119.0	6.08	5.89
3	0.972	0.980	1.786	171	-16.0	103.7	71.3	107.4	6.03	5.81
4	0.971	0.979	1.794	177	-15.8	78.5	71.2	78.6	5.74	5.53
5	0.971	0.979	1.796	177	-15.8	67.1	74.5	67.3	5.65	5.45
6	0.970	0.984	1.744	178	-19.4	68.1	106.7	71.6	5.75	5.50
7	0.972	0.981	1.778	177	-17.2	112.6	73.7	117.8	6.10	5.92
8	0.970	0.983	1.742	178	-19.5	64.0	76.4	64.5	5.61	5.44

Примечание. 1) межатомные расстояния г выражены в Å; 2) угол α в градусах.

Образование H-связи даже с одной молекулой воды понижает потенциал ионизации фенола и тем самым способствует более быстрому межмолекулярному переносу электрона на радикал с формированием в результате заряженных систем – гидратированного катион-радикала фенола ArOH^{•+} … H₂O и аниона DPPH⁻, стабилизируемых полярной водной средой.

Действительно, величины расчетной свободной энергии активации $\Delta G_{ET-PT(ArOH...H_2O)}^{\neq}$ для H-комплексов снижаются по сравнению с ΔG_{ET-PT}^{\neq} на 10–26 кДж·моль⁻¹ (**Табл. 4, 5**) и хорошо коррелируют с экспериментальными значениями ΔG_{exp}^{\neq} ($\tilde{r} > 0.950$).

В кислых средах для реакций фенолов со всеми исследованными радикалами между экспериментальными константами и расчетными потенциалами ионизации молекул фенолов установлена линейная обратно пропорциональная зависимость:

$$ln k_{DPPH^{\bullet}(pH=2)} = (85.4\pm2.4) - (13.8\pm0.4) PI_{ArOH(water)},$$
(14)
n = 40; $\tilde{r} = 0.985$; $\tilde{r}^2 = 0.970$; F = 1233; p < 0.0000; S_{est} = 0.58;
d_{K-S} = 0.13 (p > 0.2).

$$ln k_{APOO^{\bullet}(pH=2)} = (46.0 \pm 1.1) - (6.56 \pm 0.18) PI_{ArOH(water)},$$
(15)
n = 43; $\tilde{r} = 0.985$; $\tilde{r}^2 = 0.971$; F = 1354; p < 0.0000; S_{est} = 0.31;
d_{K-S} = 0.081 (p > 0.2).

$$ln k_{HOO^{\bullet}(pH=2)} = (40.0 \pm 1.2) - (5.7 \pm 0.2) PI_{ArOH(water)},$$
(16)
n = 43; $\tilde{r} = 0.975$; $\tilde{r}^2 = 0.951$; F = 799; p < 0.0000; S_{est} = 0.35;
d_{K-S} = 0.12 (p > 0.2).

Статистические параметры установленных регрессий (уравнения (14)– (16)) свидетельствуют о том, что потенциал ионизации ArOH связан с лимитирующей стадией реакции и не является «случайным» ET–PTзависимым дескриптором.

Шелочная и нейтральная среды. В фосфатно-боратном буфере (с pH = 9) установлена аномально высокая реакционная способность ArOH по отношению амидиноизопропанпероксильному, к гидразильному, гидропероксильному радикалу и супероксид анион-радикалу кислорода. На примере радикала АРОО• показано (Табл. 6), что при переходе от кислого к щелочному буферу величина кинетического эффекта растворителя (Kinetic Solvent Effect, KSE) в среднем возрастает до 10³, а при переходе от бензола к щелочной среде – до 10⁴. Более половины исследованных фенолов проявляют активность превышающую таковую у ингибитора сравнения – тролокса. Примечательно, что активность с 02⁻ выше чем у тролокса проявили 25 соединений, среди которых 12 фенолов эффективны $(T_{E(DPPH^{\bullet}(pH=9))} \ge 1)$ и с DPPH[•]. Это дает возможность в щелочном буфере, наравне с АРОО[•], использовать реакцию с 02- для определения фенолов со средней и низкой активностью.

	k _{АРОО} •(рн=9),	KSE,	KSE,	T _E ^a	k _{0^{•-}(pH=9)} ,	T _E ^b		
Соединение	л·моль ⁻¹ ·с ⁻¹	k _{APOO} •(pH=9)	k _{APOO} •(pH=9)	$(APOO^{\bullet}(pH = 9))$	л·моль ⁻¹ ·с ⁻¹	$(0_2^{\bullet-}(pH = 9))$		
	(T = 323 K)	k _{NPOO} •(benz)	k _{APOO} •(pH=2)	(T = 323 K)	(T = 298 K)	(T = 298 K)		
		Гидрокси	бензолы					
1 – пирокатехин	$(1.30\pm0.04)\cdot10^{6}$	$1 \cdot 10^4$	7.10^{2}	0.87	$(2.80\pm0.16)\cdot10^5$	1.40		
2 – резорцин	$(9.0\pm0.4)\cdot10^5$	$3 \cdot 10^4$	1.10^{3}	0.6	$(1.49\pm0.08)\cdot10^5$	0.75		
3 – орцин	$(8.5\pm0.3)\cdot10^5$	$2 \cdot 10^4$	8.10^{2}	0.57	$(1.29 \pm 0.08 \cdot 10^5)$	0.65		
4 – гидрохинон	$(2.20\pm0.08)\cdot10^{6}$	$1 \cdot 10^{4}$	$4 \cdot 10^2$	1.47	$(3.12\pm0.16)\cdot10^5$	1.56		
5 – метиловый эфир гидрохинона	$(2.30\pm0.08)\cdot10^{6}$	$2 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^2$	1.53	$(3.80\pm0.18)\cdot10^5$	1.90		
6 – пирогаллол	$(1.70\pm0.04)\cdot10^{6}$	$4 \cdot 10^{3}$	7.10^{2}	1.13	$(2.39\pm0.08)\cdot10^5$	1.20		
7 – флороглюцин	$(6.01\pm0.25)\cdot10^5$	$1 \cdot 10^{4}$	1.10^{3}	0.4	$(9.9\pm0.4)\cdot10^4$	0.50		
8 – оксигидрохинон	$(2.00\pm0.08)\cdot10^{6}$	$5 \cdot 10^{3}$	$2 \cdot 10^2$	1.33	$(2.09\pm0.08)\cdot10^5$	1.05		
Гидроксибензойные кислоты								
9 – салициловая кислота	$(1.59\pm0.08)\cdot10^{6}$	$7 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^4$	1.07	$(2.30\pm0.08)\cdot10^5$	1.15		
10 – 3-метилсалициловая кислота	$(2.50\pm0.08)\cdot10^{6}$	$5 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^4$	1.67	$(4.19\pm0.18)\cdot10^5$	2.10		
11 – метиловый эфир 3-								
метилсалициловой кислоты	$(4.80\pm0.21)\cdot10^5$	$8 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^{3}$	0.32	$(9.0\pm0.4)\cdot10^4$	0.45		
12 – 3-гидроксибензойная кислота	$(1.49\pm0.04)\cdot10^{6}$	6.10^{4}	6.10^{4}	1.0	$(1.90\pm0.08)\cdot10^5$	0.95		
13 – 4-гидроксибензойная кислота	$(1.19\pm0.04)\cdot10^{6}$	6.10^{4}	1.10^{5}	0.8	$(1.40\pm0.04)\cdot10^5$	0.70		
14 – этиловый эфир								
4-гидроксибензойной кислоты	$(2.40\pm0.08)\cdot10^5$	$7 \cdot 10^{3}$	9.10^{3}	0.16	$(4.50\pm0.21)\cdot10^4$	0.23		
15 – пирокатеховая кислота	$(2.79\pm0.09)\cdot10^{6}$	$5 \cdot 10^4$	$8 \cdot 10^{3}$	1.87	$(4.80\pm0.21)\cdot10^5$	2.40		
16 – β-резорциловая кислота	$(1.09\pm0.04)\cdot10^{6}$	6.10^{4}	$3 \cdot 10^4$	0.73	$(1.49\pm0.08)\cdot10^5$	0.75		
17 – метиловый эфир								
β-резорциловой кислоты	$(1.80\pm0.04)\cdot10^5$	$1 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^{3}$	0.12	$(3.50\pm0.16)\cdot10^4$	0.18		
18 – гентизиновая кислота	$(4.20\pm0.20)\cdot10^{6}$	$2 \cdot 10^4$	$4 \cdot 10^{3}$	2.8	$(7.8\pm0.3)\cdot10^5$	3.90		
19 – ү-резорциловая кислота	$(1.80\pm0.08)\cdot10^{6}$	$5 \cdot 10^4$	9.10^{3}	1.2	$(2.80\pm0.16)\cdot10^5$	1.40		

Таблица 6 – Экспериментальные значения кинетических параметров реакции ArOH с APOO[•] и $O_2^{\bullet-}$ в фосфатно-боратном буферном растворе с pH = 9

20 – протокатеховая кислота	$(1.40\pm0.04)\cdot10^{6}$	$7 \cdot 10^{3}$	$1 \cdot 10^{3}$	0.93	$(1.90\pm0.08)\cdot10^5$	0.95		
21 – а-резорциловая кислота	$(1.42\pm0.04)\cdot10^{6}$	$4 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^{3}$	0.95	$(1.89\pm0.08)\cdot10^5$	0.95		
22 – ванилиновая кислота	$(2.00\pm0.08)\cdot10^{6}$	6.10^{4}	$7 \cdot 10^3$	1.33	$(4.1\pm0.18)\cdot10^5$	2.05		
23 – 3-пирогаллолкарбоновая	` ´							
кислота	$(3.09\pm0.16)\cdot10^6$	1.10^{4}	1.10^{3}	2.07	$(6.00\pm0.25)\cdot10^5$	3.00		
24 – галловая кислота	$(2.10\pm0.08)\cdot10^6$	1.10^{4}	1.10^{3}	1.4	$(3.00\pm0.16)\cdot10^5$	1.50		
25 – сиреневая кислота	$(1.70\pm0.05)\cdot10^6$	$2 \cdot 10^4$	$4 \cdot 10^{2}$	1.13	$(3.89\pm0.18)\cdot10^5$	1.95		
26 – метилгаллат	$(4.40\pm0.18)\cdot10^5$	$3 \cdot 10^{3}$	$2 \cdot 10^2$	0.29	$(1.00\pm0.04)\cdot10^5$	0.50		
27 – этилгаллат	$(5.59\pm0.25)\cdot10^5$	$3 \cdot 10^{3}$	$2 \cdot 10^2$	0.37	$(1.19\pm0.04)\cdot10^5$	0.60		
28 – флороглюцинкарбоновая	``´´´							
кислота	$(7.00\pm0.28)\cdot10^5$	3.10^{4}	$5 \cdot 10^{3}$	0.47	$(1.30\pm0.04)\cdot10^5$	0.65		
Гидроксикоричные кислоты								
36 – о-кумаровая кислота	$(1.00\pm0.04)\cdot10^{6}$	$8 \cdot 10^{3}$	$2 \cdot 10^{3}$	0.67	$(1.69\pm0.08)\cdot10^5$	0.85		
37 – м-кумаровая кислота	$(8.0\pm0.4)\cdot10^5$	$2 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^{3}$	0.53	$(1.40\pm0.04)\cdot10^5$	0.70		
38 – п-кумаровая кислота	$(1.2\pm0.04)\cdot10^{6}$	$2 \cdot 10^4$	1.10^{3}	0.80	$(1.70\pm0.08)\cdot10^5$	0.85		
39 – кофейная кислота	$(1.51\pm0.04)\cdot10^{6}$	$5 \cdot 10^{3}$	$4 \cdot 10^2$	1.01	$(2.29\pm0.08)\cdot10^5$	1.15		
40 – феруловая кислота	$(2.09\pm0.08)\cdot10^{6}$	$2 \cdot 10^4$	$7 \cdot 10^2$	1.4	$(3.50\pm0.18)\cdot10^5$	1.75		
41 – синаповая кислота	$(2.01\pm0.08)\cdot10^{6}$	$7 \cdot 10^3$	$7 \cdot 10^2$	1.34	$(3.95\pm0.21)\cdot10^5$	1.98		
		Флавон	оиды					
42 – катехин	$(1.00\pm0.4)\cdot10^{6}$	$3 \cdot 10^{3}$	$5 \cdot 10^2$	0.67	$(1.55\pm0.05)\cdot10^5$	0.78		
43 – галлокатехин	$(1.60\pm0.07)\cdot10^{6}$	$8 \cdot 10^{3}$	8.10^{2}	1.07	$(2.00\pm0.08)\cdot10^5$	1.10		
44 – кемпферол	$(1.80\pm0.08)\cdot10^{6}$	$2 \cdot 10^4$	6.10^{2}	1.2	$(2.84\pm0.16)\cdot10^5$	1.42		
45 – кверцетин	$(1.56\pm0.06)\cdot10^{6}$	$2 \cdot 10^{3}$	$4 \cdot 10^2$	1.04	$(3.48\pm0.18)\cdot10^5$	1.74		
46 – изорамнетин	$(1.42\pm0.04)\cdot10^{6}$	1.10^{4}	8.10^{2}	0.95	$(3.60\pm0.18)\cdot10^5$	1.78		
47 – морин	$(2.30\pm0.08)\cdot10^{6}$	$2 \cdot 10^4$	7.10^{2}	1.53	$(3.50\pm0.18)\cdot10^5$	1.75		
48 – мирицетин	$(2.40\pm0.08)\cdot10^{6}$	$1 \cdot 10^{4}$	$5 \cdot 10^2$	1.6	$(3.45\pm0.18)\cdot10^5$	1.73		
49 – кверцитрин	$(1.96\pm0.08)\cdot10^{6}$	$5 \cdot 10^{3}$	$5 \cdot 10^2$	1.31	$(3.43\pm0.18)\cdot10^5$	1.72		
50 – дигидрокверцетин	$(2.00\pm0.08)\cdot16^{6}$	$6 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^2$	1.33	$(4.11\pm0.18)\cdot10^5$	2.06		

^a константа скорости реакции тролокса с АРОО[•] в фосфатно-боратном буфере с pH = 9 при 323 К равна $k_{APOO^{•}(pH=9)}^{Tx} = (1.50\pm0.08)\cdot10^{6}$ (л·моль⁻¹·c⁻¹); ^b константа скорости реакции тролокса с $O_{2}^{\bullet-}$ в фосфатно-боратном буфере с pH = 9 при 298 К равна $k_{O_{2}^{\bullet-}(pH=9)}^{Tx} = (2.00\pm0.08)\cdot10^{5}$ (л·моль⁻¹·c⁻¹).

Продолжение Таблицы 6

Основная причина резкого увеличения АРА фенолов в щелочных и нейтральных средах заключается, во-первых, в появлении в системе различных ионных форм фенолов, потенциалы ионизации которых ниже, чем у соответствующей молекулы, а, во-вторых, в реализации быстрого SPLETмеханизма переноса электрона от образующихся фенолят-ионов (11), (12).

Реализация переноса электрона от иона к радикалу подтверждена в рамках теории Маркуса, а также по характерному снижению скорости радикального окисления фенолов с уменьшением pH среды.

SPLET-зависимым Квантово-химическим дескриптором является $(PI_{ArOH(-OOCArOH)})$ потенциал ионизации моно-И биионных (PI_{ArO⁻(⁻OOCArO⁻)}) форм фенолов. Поиск и расчет структуры фенолят-иона осуществлялся путем комбинации двух методов: вначале QSPR-методом были рассчитаны рК_а изученных веществ в Marvin 18.14. По величинам К_а при заданном рН среды определялись фенолят-ионы, доля которых в системе достаточно велика (Рис. 5), чтобы влиять на скорость лимитирующей стадии, а затем DFT-методом рассчитывались их потенциалы ионизации.





Рис. 5 – Распределение доли ионных форм (W_{ion}) галловой кислоты в зависимости от pH среды. Расчеты проведены методом QSPR в программе Marvin 18.14, T = 298 K, растворитель – вода

В щелочных средах полученные статистически значимые однофакторные линейные зависимости «потенциал ионизации фенолят-иона – АРА» являются дополнительным подтверждением реализации в щелочных средах механизма SPLET:

$$ln k_{DPPH^{\bullet}(pH=9)} = (54.2\pm2.1) - (10.7\pm0.5) PI_{ArO^{-}(-OOCArO^{-})},$$

$$n = 43; \tilde{r} = 0.962; \tilde{r}^{2} = 0.924; F = 498; p < 0.0000; S_{est} = 0.72;$$

$$d_{K-S} = 0.062 (p > 0.2).$$
(17)

$$ln k_{APOO^{\bullet}(pH=9)} = (25.9\pm0.4) - (2.74\pm0.09) PI_{ArO^{-}(^{-}OOCArO^{-})},$$
(18)
n = 43; $\tilde{r} = 0.979$; $\tilde{r}^2 = 0.958$; F = 943; p < 0.0000; S_{est} = 0.13;
d_{K-S} = 0.085 (p > 0.2).

$$\begin{split} &\ln k_{0^{\bullet^-}(pH=9)} = (23.9 \pm 0.4) - (2.69 \pm 0.09) \, \text{PI}_{\text{ArO}^-(^-\text{OOCArO}^-)}, \\ &n = 43; \, \tilde{r} = 0.979; \, \tilde{r}^2 = 0.959; \, \text{F} = 951; \, p < 0.0000; \, \text{S}_{\text{est}} = 0.13; \\ &d_{\text{K-S}} = 0.093 \, \, (p > 0.2). \end{split}$$

В нейтральном фосфатно-цитратном буфере (с pH = 7.35) путем проведения многофакторного анализа удалось установить статистически значимые двухфакторные зависимости (**Рис. 6**) экспериментальных констант от расчетных потенциалов ионизации молекулярных и ионных форм фенола.



$$\ln k_{\text{DPPH}^{\bullet}(\text{pH}=7)} = (46\pm2) - (3.3\pm0.5) PI_{\text{ArOH}(^{-}\text{OOCArOH})} - (4.5\pm0.7) PI_{\text{ArO}^{-}(^{-}\text{OOCArO}^{-})}, \qquad (20)$$

n = 43; $\tilde{r} = 0.950$; $\tilde{r}^2 = 0.902$; F = 183; p < 0.0000; S_{est} = 0.70;
d_{K-S} = 0.088 (p > 0.2).

$$ln k_{APOO^{\bullet}(pH=7)} = (62.3\pm2.3) - (3.4\pm0.6)PI_{ArOH(^{-}OOCArOH)} - (7.6\pm0.8)PI_{ArO^{-}(^{-}OOCArO^{-})},$$

$$n = 43; \tilde{r} = 0.964; \tilde{r}^{2} = 0.930; F = 266; p < 0.0000; S_{est} = 0.77;$$

$$d_{K-S} = 0.078 (p > 0.2).$$
(21)

$$ln k_{O_2^{\bullet-}/HOO^{\bullet}(pH=7)} = (21.9\pm0.6) - (0.98\pm0.15)PI_{ArOH(^{-}OOCArOH)} - (1.55\pm0.23)PI_{ArO^{-}(^{-}OOCArO^{-})},$$
(22)
n = 43; $\tilde{r} = 0.953$; $\tilde{r}^2 = 0.909$; F = 199; p < 0.0000; S_{est} = 0.21;
d_{K-S} = 0.12 (p > 0.2).

Это позволяет говорить о комбинации в нейтральном буфере двух типов механизма переноса электрона – от молекулярной (ET–PT) и ионной (SPLET) форм фенола.

ГЛАВА 6. Систематизированный массив кинетической информации. Регрессионно-классификационная модель антирадикальной активности природных фенолов

В этой главе подведены итоги обсуждения кинетической информации о реакциях ArOH с азот- и кислород-центрированными радикалами, позволяющих оценить антирадикальную активность природных фенольных соединений.

Для каждой среды, начиная от бензола и заканчивая буферным раствором с физиологическим pH, предложены специализированные кинетические схемы (Табл. 7), позволяющие классифицировать природные фенолы: в первой реакции с DPPH[•] выбрать наиболее эффективные антиоксиданты, а в последующих с пероксирадикалами или супероксид анион-радикалом кислорода – соединения с меньшей APA.

На этапе «сборки» модели полученные одно- и двухфакторные линейные регрессии «дескриптор – активность» объединялись в системы уравнений. Каждая система связана с определенной кинетической схемой реакций, которая реализуется в заданной реакционной среде (Табл. 7).

Такой подход в области исследования природных антиоксидантов реализован в первые и позволил сформировать новую регрессионноклассификационную модель скрининга эффективных природных фенольных антиоксидантов (**Рис. 7**). Применение специализированных кинетических схем, а также комбинация нескольких регрессионных уравнений на каждом этапе скрининга позволяют одновременно оценить эффективность исследуемых соединений и разделить их на группы веществ с высокой, средней и низкой антирадикальной активностью.

Среда	Механизм	Кинетическая схема реакций	Система линейных регрессионных уравнений «дескриптор – активность»
Неполярная (бензол)	PCET	$ArOH + DPPH^{\bullet} \rightarrow ArO^{\bullet} + DPPH - H$ $ArOH + NPOO^{\bullet} \rightarrow ArO^{\bullet} + NPOOH$	$ln k_{\text{DPPH}^{\bullet}(\text{benz})} = (12.9 \pm 0.06) - (2.78 \pm 0.19) \cdot 10^{-2} \mathbf{D}_{\text{O-H(benz)}}$ $ln k_{\text{NPOO}^{\bullet}(\text{benz})} = (24.9 \pm 0.8) - (6.10 \pm 0.12) \cdot 10^{-2} \mathbf{D}_{\text{O-H(benz)}}$
Полярная апротонная (ДМСО)	ET–PT	ArOH + DPPH• → ArO• + DPPH – H ArOH + NPOO• → ArO• + NPOOH	$ln k_{DPPH^{\bullet}(dmso)} = (25\pm1) - (3.18\pm0.16) PI_{ArOH(dmso)}$ $ln k_{NPOO^{\bullet}(dmso)} = (41.7\pm1.3) - (5.84\pm0.21) PI_{ArOH(dmso)}$
Кислая (с pH = 2)	ET-PT	$ArOH + DPPH^{\bullet} \rightarrow ArO^{\bullet} + DPPH - H$ $ArOH + APOO^{\bullet} \rightarrow ArO^{\bullet} + APOOH$ $ArOH + HOO^{\bullet} \rightarrow ArO^{\bullet} + H_2O_2$	$ln k_{DPPH^{\bullet}(pH=2)} = (85.4\pm2.4) - (13.8\pm0.4) PI_{ArOH(water)}$ $ln k_{APOO^{\bullet}(pH=2)} = (46.0\pm1.1) - (6.56\pm0.18) PI_{ArOH(water)}$ $ln k_{HOO^{\bullet}(pH=2)} = (40.0\pm1.2) - (5.7\pm0.2) PI_{ArOH(water)}$
Щелочная (с pH = 9)	SPLET	ArOH + DPPH [•] \rightarrow ArO [•] + DPPH – H ArOH + APOO [•] \rightarrow ArO [•] + APOOH ArOH + O [•] ₂ $\xrightarrow{\text{H}_2\text{O}, -\text{HO}^-}$ ArO [•] + H ₂ O ₂	$ln k_{DPPH^{\bullet}(pH=9)} = (54.2\pm2.1) - (10.7\pm0.5) PI_{Ar0^{-}(-00CAr0^{-})}$ $ln k_{AP00^{\bullet}(pH=9)} = (25.9\pm0.4) - (2.74\pm0.09) PI_{Ar0^{-}(-00CAr0^{-})}$ $ln k_{0^{\bullet^{-}}(pH=9)} = (23.9\pm0.4) - (2.69\pm0.09) PI_{Ar0^{-}(-00CAr0^{-})}$
Нейтральная (с pH = 7.35)	SPLET + + ET-PT	$ArOH + DPPH^{\bullet} \rightarrow ArO^{\bullet} + DPPH - H$ $ArOH + APOO^{\bullet} \rightarrow ArO^{\bullet} + APOOH$ $ArOH + HOO^{\bullet}/O_2^{\bullet-} \rightarrow ArO^{\bullet} + H_2O_2$	$ \ln \mathbf{k_{DPPH^{\bullet}(pH=7)}} = (46\pm2) - (3.3\pm0.5) \mathbf{PI_{ArOH(^{-}OOCArOH)}} - (4.5\pm0.7) \mathbf{PI_{ArO^{-}(^{-}OOCArO^{-})}} $ $ \ln \mathbf{k_{APOO^{\bullet}(pH=7)}} = (62.3\pm2.3) - (3.4\pm0.6) \mathbf{PI_{ArOH(^{-}OOCArOH)}} - (7.6\pm0.8) \mathbf{PI_{ArO^{-}(^{-}OOCArO^{-})}} $ $ \ln \mathbf{k_{O_2^{\bullet^{-}/HOO^{\bullet}(pH=7)}}} = (21.9\pm0.6) - (0.98\pm0.15) \mathbf{PI_{ArOH(^{-}OOCArOH)}} - (1.55\pm0.23) \mathbf{PI_{ArO^{-}(^{-}OOCArO^{-})}} $

Таблица 7 – Комплексная связь «среда – механизм – дескриптор – активность»



Рисунок 7 – Алгоритм скрининга природных фенольных антиоксидантов на основе прогностической регрессионно-классификационной модели «дескриптор – активность» (Ш – уравнения регрессий для реакции ArOH с 0^{•–}₂/HOO•)

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

На первом этапе оценки АРА фенолов использовалась реакция с DPPH[•]. На втором – осуществлялась проверка результатов, полученных в реакции с гидразильным радикалом.

В качестве эталонного антиоксиданта выбран тролокс. Если в реакции ArOH с DPPH[•] прогнозируемая величина константы скорости больше, чем у тролокса, то фенольный антиоксидант относится к группе веществ с высокой APA. Оставшиеся соединения могут проявить антирадикальные свойства с APOO[•] и NPOO[•] или с $O_2^{\bullet-}$ и HOO[•], а затем по результатам сравнения с константой скорости для тролокса разбиваются еще на две группы – фенолы со средней и низкой APA.

Использование в кинетических схемах реакций нескольких Оцентрированных радикалов позволяет легко модифицировать прогностическую модель путем замены регрессионных уравнений на определенном этапе оценивания. Так, в водных средах на втором уровне скрининга замена амидиноизопропанпероксилов (АРОО[•]) (уравнение (15), (18), (21)) на биорадикалы ($O_2^{\bullet-}$ и НОО[•]) (уравнение (16), (19), (22)) дает возможность (**Рис.** 7) не только оценить эффективность фенолов в реакции с наиболее распространенными собственно активными формами кислорода, но и максимально приблизить условия прогнозирования к реальным объектам.

образом, при создании прогностической регрессионно-Таким классификационной модели было реализовано не традиционное соотношение «структура – активность», а комплексная взаимосвязь «природа реакционной смеси – механизм окислительных превращений – молекулярный дескриптор – антирадикальная активность», что позволяет решить главную проблему методологии QSAR - учет механизма проявления активности вещества. В работе предложены не только готовые системы полуэмпирических уравнений для выбора эффективных антиоксидантов в зависимости от природы среды и механизма их действия, но и представлен четкий алгоритм скрининга природных фенольных соединений по АРА, который можно применять к многоуровневые реакциям с радикалами разной природы, составляя регрессионно-классификационные прогностические модели оценки эффективности ингибиторов радикальных процессов.

ГЛАВА 7. Проверка прогностической способности регрессионноклассификационной модели. Скрининг гидроксиацетофенонов

Применимость предложенной (**Рис. 7**) прогностической полуэмпирической модели скрининга природных фенолов по APA, основанной на системах взаимосвязанных линейных одно- и двухфакторных уравнений, доказывалась путем исследования константы скорости реакции радикалов с контрольной группой веществ с расчетом абсолютной и относительной погрешности прогнозируемой константы скорости.

В качестве такой контролирующей выборки использовались гидроксиацетофеноны **29–35** (**Табл. 8**) как соединения, которые заведомо не являются известными антиоксидантами, не входят ни в одну из исследованных нами групп веществ, но при этом относятся к растительным фенолам, имеют близкую с ними химическую структуру, а значит, одинаковый механизм антирадикальный действия.

Таблица 8 – Расчетные величины потенциалов ионизации гидроксиацетофенонов (PI_{ArO^-} , 3B), а также экспериментальные ($k_{DPPH^{\bullet}(pH=9)}$, л·моль⁻¹·c⁻¹) и прогнозируемые константы ($k_{DPPH^{\bullet}(pH=9)}^{predict}$, л·моль⁻¹·c⁻¹) скорости их реакции с DPPH[•]. Растворитель – фосфатно-боратный буфер с pH = 9. T = 298 K

Соединение	PI _{ArO} - ^a	k predict d	қ дррн . (_{рн=9})	Tpredict E(DPPH*(pH=9))	Т _{E(DPPH•(pH=9))} ^e	$\Delta_k, \%$	${\overline \Delta}_{ m k}$, %
29 – 2-гидроксиацетофенон	4.39	$1.55 \cdot 10^{3}$	$(1.75\pm0.08)\cdot10^3$	0.086	0.10	11.2	
30 – 3-гидроксиацетофенон	4.31	$3.65 \cdot 10^3$	$(3.28\pm0.18)\cdot10^3$	0.2	0.18	11.3	
31 – 4-гидроксиацетофенон	4.34	$2.65 \cdot 10^3$	$(2.95\pm0.18)\cdot10^3$	0.15	0.16	10.2	10.0
32 – 2,4-дигидроксиацетофенон	4.36 ^a	$2.14 \cdot 10^3$	$(2.40\pm0.15)\cdot10^3$	0.12	0.13	10.8	10.6
33 – 2,5-дигидроксиацетофенон	4.16 ^b	$1.81 \cdot 10^4$	$(1.99 \pm 0.08) \cdot 10^4$	1.01	1.11	9.1	
34 – 3,4-дигидроксиацетофенон	4.19 °	$1.31 \cdot 10^4$	$(1.18\pm0.06)\cdot10^4$	0.73	0.66	11.3	
35 – 3-метокси-4-							
гидроксиацетофенон	4.44	$9.12 \cdot 10^2$	$(1.02\pm0.04)\cdot10^3$	0.051	0.06	10.6	

^{a, b, c} потенциал ионизации фенолят-иона, образующегося при диссоциации О–Н-группы в положении 4, 5 и 4 ароматического цикла соединения **32**, **33**, **34** соответственно; ^d значение $k_{\text{DPPH}^{\bullet}(pH=9)}^{\text{predict}}$ рассчитано по уравнению (**20**); ^e константа скорости реакции тролокса с DPPH[•] в фосфатно-боратном буфере с pH = 9 равна $k_{\text{DPPH}^{\bullet}(pH=9)}^{\text{Tx}} = (1.80\pm0.08)\cdot10^4 \,\text{л}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{c}^{-1}$ при 298 К.

Скрининг гидроксиацетофенонов проводился во всех исследованных средах. Его поэтапное исполнение рассмотрим на примере щелочного буфера, где указанные соединения проявили наибольшую реакционную способность.

Следуя логике алгоритма (**Рис.** 7), по рассчитанному SPLET-зависимому дескриптору (PI_{ArO}-) (Табл. 8) с помощью однофакторного уравнения были вычислены константы скорости реакции гидроксиацетофенонов с DPPH[•] (k_{DPPH}•(pH=9)). По их величинам установлено (Табл. 8), что прогнозируемая константа k^{predict}_{DPPH[•](pH=9)} для 2,5-дигидроксиацетофенона (**33**) превышает таковую у тролокса. То есть, следуя предложенному алгоритму скрининга (Рис. 7), указанное соединение можно отнести к фенолам с высокой АРА. Проверка полученных данных проводилась путем определения эмпирических констант k_{DPPH[•](pH=9)}. Их значения приведены в Табл. 8. Как видно, эффективнее тролокса дезактивирует радикал DPPH• только соединение 33, Таким образом. 2.5 что совпалает результатами прогноза. с дигидроксиацетофенон проявил себя как фенол с высокой АРА, остальные 6 соединений (29-32, 34, 35) должны пройти априорное тестирование на втором этапе в реакции с $O_2^{\bullet-}$ (Табл. 9).

Таблица 9 – Экспериментальные и прогнозируемые константы скорости реакции гидроксиацетофенонов с $O_2^{\bullet-}$ ($k_{O_2^{\bullet-}(pH=9)}$ и $k_{O_2^{\bullet-}(pH=9)}^{predict}$, л·моль⁻¹·c⁻¹). Растворитель – фосфатно-боратный буфер с pH = 9. T = 298 К

Соединение	$k_{O_2^{\bullet-}(pH=9)}^{predict}$ a	k0² ^{- (рн=9)}	$T_{E(0^{2})}^{predict}$	$T_{E(0_{2}^{\bullet-}(pH=9))}^{b}$	$\Delta_{\rm k},\%$	${\overline \Delta}_{\bf k}$, %
29 – 2-гидроксиацетофенон	$1.78 \cdot 10^5$	$(1.59 \pm 0.06) \cdot 10^5$	0.89	0.80	11.9	
30 – 3-гидроксиацетофенон	$2.21 \cdot 10^5$	$(2.49\pm0.08)\cdot10^5$	1.11	1.25	11.2	
31 – 4-гидроксиацетофенон	$2.04 \cdot 10^5$	$(2.28\pm0.08)\cdot10^5$	1.02	1.14	10.5	
32 – 2,4-дигидроксиацетофенон	$1.93 \cdot 10^5$	$(1.73\pm0.16)\cdot10^{5}$	0.97	0.87	11.5	10.6
33 – 2,5-дигидроксиацетофенон	$3.31 \cdot 10^5$	$(3.72\pm0.21)\cdot10^5$	1.65	1.86	11.0	
34 – 3,4-дигидроксиацетофенон	$3.05 \cdot 10^5$	$(2.75\pm0.18)\cdot10^5$	1.53	1.38	10.9	
35 – 3-метокси-4-						
гидроксиацетофенон	$1.56 \cdot 10^5$	$(1.46\pm0.06)\cdot10^5$	0.78	0.73	6.9	

^a значение $k_{O_2^{\bullet-}(pH=9)}^{\text{predict}}$ рассчитано по уравнению (**22**); ^b константа скорости реакции тролокса с $O_2^{\bullet-}$ в фосфатно-боратном буфере с pH = 9 равна $k_{O_2^{\bullet-}(pH=9)}^{\text{Tx}} = (2.00\pm0.08)\cdot10^5$ л·моль⁻¹·с⁻¹ при 298 К.

По расчетным константам видно (Табл. 9), что три соединения – 3гидроксиацетофенон, 4-гидроксиацетофенон и 3,4-дигидроксиацетофенон, не проявившие высокой активности с DPPH[•], в реакции с $0_{2}^{\bullet-}$ достигают уровня активности тролокса, что позволяет отнести их к фенолам со средней АРА. Экспериментально методом хроновольтамперометрии подтверждено (Табл. 9), что при ЭВ O_2 до H_2O_2 в фосфатно-боратном буфере с pH = 9 в присутствии 30. 31 и 34 константы скорости указанных соединений с 0^{-}_{2} $(k_{APOO}^{Tx}(pH=9))$. (k_{АРОО}•(рН=9)) действительно тролокса выше, чем y Остальные вещества (29, 32 и 35) имеют $T_E < 1$ в реакции со всеми исследуемыми радикалами (Табл. 8, 9) и относятся к группе фенолов с низкой APA.

Примечательно, что прогностическая и эмпирическая оценка совпадают (Табл. 8, 9). Хорошие сходимости предсказанных и экспериментальных констант (r > 0.950) и низкие погрешности аппроксимации не выше 10–12 % ($\Delta_k = |k_{(exper)} - k_{(predict)}|/k_{(exper)} \cdot 100\%$) подтверждают высокую прогностическую способность предложенной регрессионно-классификационной модели.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Впервые разработана прогностическая регрессионноклассификационная скрининга модель природных фенолов ПО антирадикальной активности, основанная на системах полуэмпирических одно- и двухфакторных уравнений. Применение специализированных кинетических схем И комбинация нескольких линейных регрессий «дескриптор – активность» каждом скрининга позволяет на этапе одновременно количественно оценить активность природных фенолов и классифицировать их по эффективности действия.

2. Использование в кинетических схемах реакций нескольких Оцентрированных радикалов позволяет модифицировать прогностическую модель путем замены регрессионных уравнений на определенном этапе оценивания. В водных средах на втором уровне скрининга замена амидиноизопропанпероксилов (NPOO[•]) на биорадикалы ($O_2^{\bullet-}$ и HOO[•]) дает возможность максимально приблизить условия прогнозирования к реальным объектам.

3. Высокая прогностическая способность предложенной модели доказана путем исследования константы скорости реакции радикалов с контрольной группой веществ. При создании модели реализовано не классическое соотношение «структура – активность», а комплексная взаимосвязь «среда – механизм – дескриптор – активность», что позволяет

решить главную проблему методологии QSAR – учет данных о механизме проявления активности вещества, а также расширить область традиционного моделирования и улучшить прогностическую способность получаемых моделей.

4. Путем комбинации кинетических, спектральных и квантовохимических методов рационализирована методология идентификации продуктов вторичного окисления фенолов – димерных соединений. Для природных ArOH с незамещенным 2, 4 или 6 положением в бензольном кольце фенольные димеры, образующиеся в реакции рекомбинации феноксилов, способны вступать в дальнейшие окислительные превращения с радикалами, обеспечивая пролонгированное действие исходного антиоксиданта.

5. В первые разработанная хроновольтамперометрическая методология определения констант скоростей реакций природных фенолов с HOO^{\bullet} и $O_2^{\bullet-}$ в водных средах с pH = 2-9 в рамках теории электродных процессов с последующими химическими реакциями позволила исследовать кинетику и механизм антирадикального действия веществ в процессе электровосстановления O_2 до H_2O_2 , который протекает аналогично превращениям кислорода в организме человека.

6. Сформированы кинетические схемы реакций, отражающие особенности окисления фенолов N- и О-центрированными радикалами в разных средах и позволяющие выделить среди природных фенольных антиоксидантов группы соединений с высокой, средней и низкой антирадикальной активностью.

7. В неполярных средах (бензол) по величине дейтериевого изотопного эффекта и зависимости скорости радикального окисления ArOH от протоноакцепторной способности растворителя установлено, что реакция осуществляется по механизму переноса атома водорода. В первые на примере реакции тригидроксибензолов с 2.2'-дифенил-1-ДИ-И пикрилгидразилом методом DFT путем расчета структур предреакционных комплексов и переходных состояний доказан РСЕТ-механизм согласованного (одностадийного) переноса протона и электрона с фенола на гидразильный радикал. РСЕТ-зависимым дескриптором является прочность наиболее слабой О–Н-связи фенола, величина которой коррелирует со значением константы скорости реакции ArOH с N- и О-центрированными радикалами.

8. По величине дейтериевого изотопного эффекта, наличию корреляции свободной энергии Гиббса активации переноса электрона, вычисленной в рамках теории Маркуса, с аналогичной экспериментальной величиной, а также по зависимости скорости радикального окисления ArOH от диэлектрической проницаемости растворителя установлено, что в *полярных*

неионизирующих средах (ДМСО, буферный раствор с pH = 2) реакция ArOH с радикалами протекает по ET–PT-механизму переноса электрона с последующей потерей протона образующимся катион-радикалом фенола. Идентифицирован ET–PT-зависимый квантово-химический дескриптор – потенциал ионизации молекулы ArOH. Установлена статистически значимая линейная регрессия «потенциал ионизации молекулы – активность».

9. Установленная зависимость свободной энергии Гиббса активации переноса электрона, рассчитанной по уравнению Маркуса, от аналогичной экспериментальной величины, а также уменьшение скорости радикального окисления ArOH при снижении pH среды подтвердили механизм действия фенолов по SPLET-пути последовательной потери протона с переносом электрона от образующегося фенолят-иона на радикал в ионизирующих средах (буферные растворы с pH = 7-9). Путем комбинирования QSRP- и DFTметодов предложена методология поиска и расчета SPLET-зависимого дескриптора – потенциала ионизации моно- или биионной формы фенола. Полученные статистически значимые одно- и двухфакторные линейные зависимости «дескриптор активность» являются дополнительным доказательством реализации в щелочных и нейтральных средах механизма SPLEТ или его комбинации с ЕТ-РТ.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Белая, Н.И. Хемилюминесценция в процессе ингибированного окисления растительного масла / Н.И. Белая, Т.А. Филиппенко, А.Н. Николаевский, В.А. Заец // Журн. прикл. химии. – 2004. – Т. 77. – № 8. – С. 1351–1355.

2. Филиппенко, Т.А. Фенольные соединения растительных экстрактов и их активность в реакции с дифенилпикрилгидразилом / Т.А. Филиппенко, **Н.И. Белая**, А.Н. Николаевский // Хим.-фарм. журнал. – 2004. – Т. 38. – № 8. – С. 34–36.

3. **Belaya, N.I.** Effect of the Structure of Phenols on Their Activity in the Reaction with Ethylbenzene Peroxy Radicals / N.I. Belaya, O.Yu. Ovcharova, A.N. Nikolaevskii, T.A. Filippenko, V.A. Zaets // Theor. Exp. Chem. – 2004. – V. 40. – P. 234–240. doi 10.1023/B:THEC.0000041808.06992.b2

4. Белая, Н.И. Ингибирование окисления вазелинового масла аминофенолами / Н.И. Белая, О.Ю. Овчарова, Т.А. Филиппенко, А.Н. Николаевский, Л.А. Палагушкина // Журн. прикл. химии. – 2005. – Т. 78. – № 11. – С. 1912–1916.

5. Белая, Н.И. Экстрагирование антиоксидантов из листьев толокнянки

(Arctostaphylos Adans) в электрическом поле / Н.И. Белая, Т.А. Филиппенко, А.В. Белый, Н.Ю. Грибова, А.Н. Николаевский, А.А. Бирюкова // Хим.-фарм. журн. – 2006. – Т. 40. – № 9. – С.42–44.

6. Грибова, Н.Ю. Получение антиоксиданта из листьев толокнянки экстракцией под действием постоянного электрического тока / Н.Ю. Грибова, **Н.И. Белая**, Т.А. Филиппенко, А.Н. Николаевский, А.В. Белый, В.А. Заец // Хим.-фарм. журнал. – 2008. – Т. 42. – № 3.– С. 25–27.

7. Грибова, Н.Ю. Оптимизация условий экстракции антиоксидантов из твердых частей лекарственных растений / Н.Ю. Грибова, Т.А. Филиппенко, А.Н. Николаевский, **Н.И. Белая**, А.А. Цыбуленко // Журн. аналит. химии. – 2008. – Т. 63. – № 11. – С. 1137–1140.

8. Белая, Н.И. Антирадикальная активность фруктовых соков в реакции с дифенилпикрилгидразилом / Н.И. Белая, А.Н. Николаевский, Т.Н. Ивлева, О.Г. Шептура // Хим.-фарм. журнал. – 2009. – Т. 43. – № 6. – С. 32–34.

9. Белая, Н.И. Реакции незамещенных оксибензолов с 2,2-дифенил-1пикрилгидразилом в системе вода-апротонный растворитель / Н.И. Белая, А.В. Белый, А.И. Пащенко // Журн. общ. химии. – 2012. – Т. 82. – № 5. – С. 777– 781.

10. Белый, А.В. Антирадикальная активность дубильных веществ корневищ *Bergenia Crassifolia* в реакции с 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразилом / А.В. Белый, **Н.И. Белая** // Химия раст. сырья. – 2012. – № 3. – С. 121–126.

11. Белая, Н.И. Константы диссоциации фенолов в присутствии моноолеата полиоксиэтиленсорбитана / Н.И. Белая, А.В. Белый, А.Ф. Луцюк // Журн. прикл. химии. – 2013. – Т. 86. – № 4. – С. 558–562.

12. Белая, Н.И. Природные фенольные соединения в реакции с азотцентрированным радикалом в апротонном растворителе / Н.И. Белая, А.В. Белый, А.И. Помещенко, К.В. Глушенко // Журн. прикл. химии. – 2015. – Т. 88. – № 7. – С. 1087–1094.

13. Белый, А.В. Антирадикальная активность растительных дубильных веществ в реакции с электрохимически генерированными активными формами кислорода / А.В. Белый, **Н.И. Белая**, Е.Н. Симонова // Хим.-фарм. журнал. – 2015. – Т. 49. – № 5. – С. 33–36.

14. **Белая, Н.И.** Синергическое действие композиций кверцетина с аминокислотами алифатического ряда / Н.И. Белая, А.В. Белый, К.П. Шалюто // Вестник ТвГУ. Серия «Химия». – 2016. – № 4. – С. 111–120.

15. Белая, Н.И. Влияние полярности среды на механизм реакции гидроксибензолов с гидразильным радикалом в апротонных растворителях / Н.И. Белая, А.В. Белый, О.М. Заречная, И.Н. Щербаков, В.М. Михальчук, В.С. Дорошкевич // Журн. общ. химии. – 2017. – Т. 87. – № 4. – С. 556–564.

16. Белая, Н.И. Определение относительных констант скоростей реакции пероксильных радикалов дигидрохлорида 2,2'-азобис-(2-амидинопропана) с диоксибензолами и их производными / Н.И. Белая, А.В. Белый, К.В. Глушенко // Хим.-фарм. журнал. – 2017. – Т. 51. – № 3. – С. 49–52.

17. Белая, Н.И. Структура переходного состояния и механизм реакции гидроксибензолов с N-центрированным радикалом в неионизирующих средах / Н.И. Белая, А.В. Белый, О.М. Заречная, И.Н. Щербаков, В.С. Дорошкевич // Журн. общ. химии. – 2018. – Т. 88. – № 7. – С. 1057–1069. doi 10.1134/S0044460X18070016

18. Белая, Н.И. Синергический эффект бинарных композиций кверцетин–моносахарид в реакции со свободными радикалами / Н.И. Белая, А.В. Белый, Г.А. Тихонова, Я.С. Удалов, Г.О. Андриенко // Изв. вузов. Химия и хим. технология. – 2019. – Т. 62. – № 2. – С. 38–42. doi 10.6060/ivkkt.20196202.5822

19. Белая, Н.И. Димерные продукты радикального окисления гидроксибензойных кислот / Н.И. Белая, А.В. Белый, Д.А. Якунина, Г.А. Тихонова // Вестник ТвГУ. Серия «Химия». – 2019. – № 3. – С. 61–71. doi 10.26456/vtchem2019.3.7

20. Белая, Н.И. Спектрокинетические исследования продуктов превращения природных фенолов в радикальных реакциях / Н.И. Белая, А.В. Белый, О.М. Заречная, И.Н. Щербаков, А.И. Помещенко, О.А. Горбань // Кинетика и катализ. – 2019. – Т. 60. – № 1. – С. 33–43. doi 10.1134/S0453881119010015

21. Белая, Н.И. Полуэмпирическая модель прогнозирования антирадикальной активности природных фенолкарбоновых кислот / Н.И. Белая, А.В. Белый // Изв. вузов. Химия и хим. технология. – 2019. – Т. 62. – № 7. – С. 80–84. doi 10.6060/ivkkt.20196207.5952

22. Белая, Н.И. Активность межмолекулярных водородных комплексов кверцетина с глюкозой в реакциях с пероксирадикалами хлопкового масла / Н.И. Белая, А.В. Белый, Г.А. Тихонова, Я.С. Удалов // Химия раст. сырья. – 2020. – № 3. – С. 57–65. doi 10.14258/jcprm.2020036631

23. Белая, Н.И. Факторный анализ связи химической структуры и антирадикальной активности природных фенолов / Н.И. Белая // Журн. прикл. химии. – 2020. – Т. 93. – № 1. – С. 142–152. doi 10.31857/S0044461820010144

24. Белый, А.В. Реакции гидроксибензойных кислот с 2-амидинопропан-2-пероксилом в кислых средах / А.В. Белый, **Н.И. Белая**, В.С. Дорошкевич // Вестник ТвГУ. Серия «Химия». – 2020. – № 1. – С. 81–95. doi 10.26456/vtchem2020.1.10

25. Белая, Н.И. Прогностическая модель связи антирадикальной

активности с потенциалом ионизации молекул и ионов флавоноидов / Н.И. Белая, А.В. Белый, И.Н. Щербаков // Кинетика и катализ. – 2020. – Т. 61. – № 3. – С. 334–342. doi 10.31857/S0453881120030053

26. Белая, Н.И. Согласованный перенос электрона и протона в реакции гидроксибензолов с гидразильным радикалом в водных средах / Н.И. Белая, А.В. Белый, О.М. Заречная, И.Н. Щербаков, В.С. Дорошкевич // Журн. общ. химии. – 2020. – Т. 90. – № 1. – С. 31–41. doi 10.31857/S0044460X20010047

27. Белая, Н.И. Хроновольтамперометрическое исследование антирадикальных свойств флавоноидов в реакции с активными формами кислорода / Н.И. Белая, А.В. Белый, В.А. Клецова // Изв. вузов. Химия и хим. технология. – 2020. – Т. 63. – № 9. – С. 43–48. doi 10.6060/ivkkt.20206309.6217

28. Белая, Н.И. Механизм антирадикального действия природных фенилпропаноидов в полярных неионизирующих средах / Н.И. Белая, А.В. Белый, А.А. Давыдова // Кинетика и катализ. – 2020. – Т. 61. – № 6. – С. 789– 796. doi 10.31857/S0453881120060039

29. Белая, Н.И. Фенолкарбоновые кислоты в реакции с электрогенерированным гидропероксильным радикалом / Н.И. Белая, А.В. Белый, О.М. Заречная, И.Н. Щербаков, В.С. Дорошкевич // Журн. общ. химии. – 2020. – Т. 90. – № 10. – С. 1486–1494. doi 10.31857/S0044460X20100029

30. Патент (19) UA (11) 16774 (13) U Украина, (51) МПК (2006) С09К 15/00. Спосіб одержання антиоксиданту з листя мучниці / Біла Н.І., Філіпенко Т.А., Ніколаєвський А.М., Білий О.В., Грибова Н.Ю.; заявитель и патентообладатель Донецький національний університет. – № и 2006 02785; заявл. 15.03.2006, опубл. 15.08.2006, Бюл. № 8. – 3 с.

31. Патент (19) UA (11) 70680 (13) U Украина, (51) МПК (2012.01) С09К 15/00. Спосіб одержання антиоксиданту з коріння бадану товстолистого / Білий О.В., **Біла Н.І.**; заявитель и патентообладатель Донецький національний університет. – № и 2011 13287; заявл. 11.11.2011, опубл. 25.06.2012, Бюл. № 12. – 3 с.