

УДК 541.127;535.37

Н.І.Біла, О.В.Білий

КІНЕТИКА РЕАКЦІЇ МОНО- І ДИГІДРОКСИБЕНЗОЙНИХ КИСЛОТ З АЗОТЦЕНТРОВАНИМИ РАДИКАЛАМИ В СИСТЕМІ ВОДА—ДИМЕТИЛСУЛЬФОКСИД

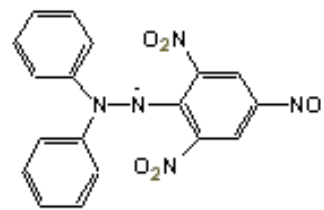
Досліджено стехіометричні і кінетичні параметри реакції стабільного радикала 2,2'-дифеніл-1-пікрилгідрозила (Dpph^\bullet) з моно- і дигідроксибензойними кислотами в диметилсульфоксиді (ДМСО) та змішаному розчиннику вода—ДМСО (1:1). Показано, що в апротонному розчиннику реакція за механізмом передачі атома водню від молекули фенолкарбонової кислоти до ДФПГ, а у водно-апротонному — шляхом переносу електрона від фенолят-іона, що утворився, до радикалу з подальшою передачею протона. Більш висока реакційна здатність гідроксибензойних кислот у водному середовищі обумовлена впливом специфічних і неспецифічних ефектів води, що сприяють росту концентрації фенолят-іонів у реакції з радикалом Dpph^\bullet .

ВСТУП. Фенолкарбонові кислоти (PhOH) належать до групи найбільш розповсюджених природних фенольних сполук, які містяться у складі більшості рослин [1]. Ця група біологічно-активних сполук проявляє протимікробну, капіляророзміщуючу, імуностимулюючу і антиоксидантну дію на організм людини [2]. Найбільше практичне значення фенолкарбонових кислот полягає в їхній антиоксидантній активності, що проявляється за рахунок реакцій з іонами металів змінної валентності і вільними радикалами органічних субстратів, що окислюються [3].

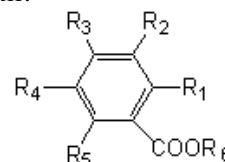
Одним з найбільш широко використовуваних методів визначення активності таких природних антиоксидантів у біологічних матеріалах і харчових продуктах є метод Глевінда [4]. В його основу покладено реакцію взаємодії вільного стабільного радикала 2,2'-дифеніл-1-пікрилгідрозила (Dpph^\bullet) з антиоксидантами, яка вивчається зазвичай у розчинниках, де радикал добре розчиняється (етанол, метанол, диметилсульфоксид (ДМСО) тощо) [5—7]. Однак особливу актуальність набуває дослідження цієї реакції у водному середовищі [8], що дозволяє апроксимувати отримані результати на біологічні об'єкти. На теперішній час антиокислювальні властивості природних фенолів у реакції з Dpph^\bullet у воді мало вивчені, а наявні дані носять дискусійний характер.

Метою даної роботи є вивчення реакції моно- і дигідроксибензойних кислот з азотцентованим радикалом Dpph^\bullet у водно-апротонному розчиннику, а також дослідження впливу води на кінетику цієї реакції.

ЕКСПЕРИМЕНТ І ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТИВ. У роботі використовували вільний стабільний радикал Dpph^\bullet фірми Aldrich-Sigma:



Гідроксибензойні кислоти і їхні похідні фірми Aldrich-Sigma і Merck досліджували без попередньої очистки.



1: $\text{R}_1=\text{OH}$, $\text{R}_2=\text{R}_3=\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_6=\text{H}$ – 2-гідроксибензойна (саліцилова) кислота; 2: $\text{R}_2=\text{OH}$, $\text{R}_1=\text{R}_3=\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_6=\text{H}$ – 3-гідроксибензойна кислота; 3: $\text{R}_3=\text{OH}$, $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_6=\text{H}$ – 4-гідроксибензойна кислота; 4: $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{OH}$, $\text{R}_3=\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_6=\text{H}$ – 2,3-дигідроксибензойна (пірокатехова) кислота; 5: $\text{R}_1=\text{R}_3=\text{OH}$, $\text{R}_2=\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_6=\text{H}$ – 2,4-дигідроксибензойна (β -резорцилова) кислота; 6: $\text{R}_1=\text{R}_3=\text{OH}$, $\text{R}_2=\text{R}_4=\text{R}_5=\text{H}$, $\text{R}_6=\text{CH}_3$ – метиловий ефір 2,4-дигідроксибензойної (β -резорцилової) кислоти; 7: $\text{R}_1=\text{R}_4=\text{OH}$, $\text{R}_2=\text{R}_3=\text{R}_5=\text{R}_6=\text{H}$ – 2,5-дигідроксибензойна (гентизинова) кислота; 8: $\text{R}_1=\text{R}_5=\text{OH}$, $\text{R}_2=\text{R}_3=\text{R}_4=\text{R}_6=\text{H}$ – 2,6-дигідроксибензойна (γ -резорцилова) кислота; 9: $\text{R}_2=\text{R}_3=$

© Н.І.Біла, О.В.Білий, 2013

Т а б л и ц я 1

Експериментальні значення констант швидкості реакції гідроксибензойних кислот з радикалом Dpph^\bullet у ДМСО ($k_{\text{ДМСО}}$) і розраховані квантово-хімічним методом величини енергій найбільш слабких О–Н-зв'язків ($D_{\text{PhO-H}}$) молекул

Сполука	$k_{\text{ДМСО}}, \text{л}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{с}^{-1}$	Положення О–Н-групи	$D_{\text{PhO-H}}, \text{кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$
7	$(1.86 \pm 0.06) \cdot 10^3$	5	313
4	$(9.4 \pm 0.3) \cdot 10^2$	3	315
9	$(1.93 \pm 0.06) \cdot 10^2$	3	318
6	4.68 ± 0.14	2	331
5	3.99 ± 0.12	4	333
10	1.50 ± 0.05	4	332
8	0.99 ± 0.03	2	337
3	0.67 ± 0.02	4	339
2	0.61 ± 0.02	3	336
1	0.31 ± 0.01	2	338

Т а б л и ц я 2

Експериментальні значення констант швидкості реакції гідроксибензойних кислот з радикалом Dpph^\bullet у водно-апротонному розчиннику ($k_{\text{H}_2\text{O-ДМСО}}$) і розраховані напівемпіричним методом АМ1 величини найменших енергій вищих зайнятих молекулярних орбіталей фенолят-іонів

Сполука	Положення іонізованої ОН-групи	$-E_{\text{ВЗМО}}, \text{eV}$	$k_{\text{H}_2\text{O-ДМСО}}, \text{л}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{с}^{-1}$
7	3	3.21	$(9.0 \pm 0.3) \cdot 10^3$
4	5	3.13	$(7.2 \pm 0.2) \cdot 10^3$
9	3	3.25	$(4.51 \pm 0.14) \cdot 10^3$
10	4	3.57	$(7.9 \pm 0.2) \cdot 10^1$
3	4	3.66	$(2.9 \pm 0.7) \cdot 10^1$
1	2	3.58	$(1.7 \pm 0.4) \cdot 10^1$
6	2	3.74	$(1.46 \pm 0.04) \cdot 10^1$
8	2	3.67	6.15 ± 0.18
2	3	3.76	6.8 ± 0.2
5	2	3.78	2.53 ± 0.08

=ОН, $R_1=R_4=R_5=R_6=\text{H}$ – 3,4-дигідроксибензойна (протокатехова) кислота; 10: $R_2=\text{OCH}_3$, $R_3=\text{=OH}$, $R_1=R_4=R_5=R_6=\text{H}$ – 3-метокси-4-гідроксибензойна кислота (ванілінова кислота).

Нумерація досліджених сполук відповідає наведеній у табл. 1,2.

Кінетику реакції Dpph^\bullet з представленими фенолами досліджували в апротонному розчиннику ДМСО та змішаному — вода–ДМСО (1:1) фотоколориметричним методом [4] на КФК-3. Розчин Dpph^\bullet у ДМСО має інтенсивно фіолетовий колір з максимумом поглинання при довжині хвилі 520 нм. Встановлено, що при зберіганні радикалу у ДМСО в темряві на протязі 72 год інтенсивність максимуму поглинання його спектру залишається постійною.

Дослідження проводили при температурі $293 \pm 2 \text{ K}$ в інтервалі концентрацій реагуючих речовин $10^{-4} — 10^{-5} \text{ моль}\cdot\text{л}^{-1}$. Розчини фенолкарбонових кислот змішували в еквімолярних концентраціях з розчином Dpph^\bullet у ДМСО. Молярний коефіцієнт екстинкції ϵ дорівнював $1.3 \cdot 10^4 \text{ л}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$.

Аналіз кінетичних кривих витрачання концентрації радикальної форми Dpph^\bullet при взаємодії з досліджуваними гідроксибензойними кислотами у чистому апротонному розчиннику (без додавання води) показав, що всі запропоновані сполуки реагують з Dpph^\bullet (рис. 1,а). З початко-

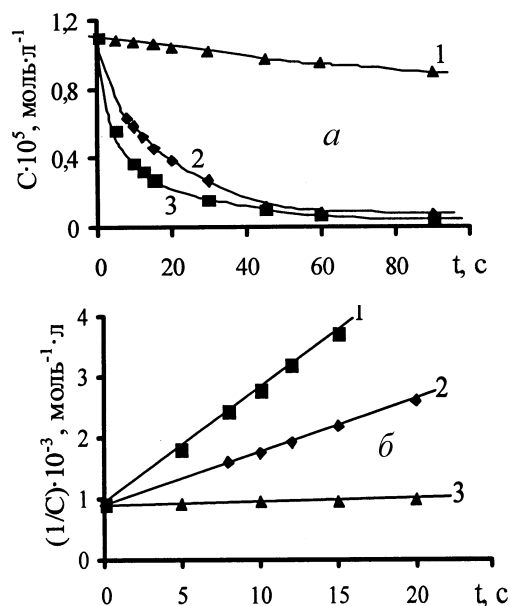
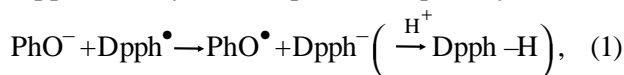
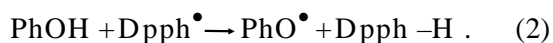


Рис. 1. а — Кінетичні криві витрачання Dpph^\bullet у реакції з гідроксибензойними кислотами ($C = 1.1 \cdot 10^{-4} \text{ моль}\cdot\text{л}^{-1}$): 1, 2, 3 — 3,4-, 2,5-, 2,3-дигідроксибензойні кислоти; б — анаморфози кінетичних кривих у координатах реакції 2-го порядку: 1, 2, 3 — 2,5-, 2,3-, 3,4-дигідроксибензойні кислоти. Розчинник – ДМСО. $T = 293 \pm 2 \text{ K}$.

вих ділянок отриманих кривих, що спрямляються в координатах реакції 2-го порядку (рис. 1, б), були розраховані константи швидкості ($k_{\text{ДМСО}}$) досліджуваної реакції (табл. 1). Диференційним методом Вант-Гоффа [9] було визначено, що реакція має 1-й псевдопорядок як за радикалом, так і за фенолом. Незалежно від будови фенолкарбонових кислот стехіометричні параметри реакції залишаються незмінними. Тоді початкова лінійна ділянка отриманих кінетичних кривих може бути описана реакцією 2-го порядку, яка протікає або за механізмом одноелектронного переносу від фенолят-іона (PhO^-) до радикалу Dpph^\bullet з наступною передачею протону [6–8]:



або за механізмом передачі атома водню від молекули фенолу [10]:



Реалізація механізму (1) одноелектронного переносу за участю фенолят-іонів вельми сумнівна через незначну дисоціацію фенольної О–Н-групи молекул гідроксибензойних кислот в апротонному розчиннику [11, 12].

Найбільш вірогідним є механізм (2) передачі атома Н від молекули PhOH до радикалу Dpph^\bullet . Для його доведення були проведені квантово-хімічні розрахунки величин енергій гомолітичного розриву О–Н-зв'язку в молекулах досліджених кислот і їхніх похідних за рівнянням

$$D_{\text{PhO-H}} = (\Delta H_f^\circ(\text{PhO}^\bullet) + \Delta H_f^\circ(\text{H})) - \Delta H_f^\circ(\text{PhOH}), \quad (3)$$

де $D_{\text{PhO-H}}$ — енергія гомолітичного розриву О–Н-зв'язку в молекулі фенолу; $\Delta H_f^\circ(\text{PhO}^\bullet)$, $\Delta H_f^\circ(\text{H})$, $\Delta H_f^\circ(\text{PhOH})$ — стандартна теплота утворення фенокисильного радикала, радикала водню та молекули фенолу відповідно.

При цьому міцність найбільш слабкого О–Н-зв'язку повинна характеризувати реакційну здатність гідроксибензойних кислот у реакції прямого відриву атома Н в апротонному розчиннику. Оскільки в літературі відсутні експериментальні дані щодо $D_{\text{PhO-H}}$ досліджуваних речовин, то найбільш реальний шлях визначення цих характеристик оснований на застосуванні методів квантової хімії. Розрахунок електронної структури молекул та радикалів фенолів і опти-

мізацію по всім геометричним параметрам частинок проводили в наближенні необмеженого методу Гартрі–Фока із застосуванням полуміричного методу AM1 в програмному пакеті MOPAC-2009 (розробник Stewart Computational Chemistry (<http://OpenMOPAC.net>)). Можливість застосовувати метод AM1 для розрахунку ентальпій утворення молекул й іонів гідроксибензойних кислот досліджено окремо. Для цього порівнювали експериментальні значення теплот утворення заміщених гідроксибензолів різної будови, взяті з роботи [13], з розрахунковими величинами. Встановлено, що дані, отримані методом AM1, найкраще узгоджуються з експериментальними значеннями.

Розраховані за формулою (3) величини енергій гомолітичного розриву найбільш слабкого О–Н-зв'язку в молекулах моно- і дигідроксибензойних кислот представлені в табл. 1. Встановлено, що $D_{\text{PhO-H}}$ залежить від будови молекул і зменшення даних величин приводить до росту реакційної здатності речовин у реакції з Dpph^\bullet . Найбільшу антирадикальну активність проявили пірокатехова, гентизинова і протокатехова кислоти з найменшими міцностями О–Н-зв'язків. Дані величини були скорельовані з константами швидкостей досліджуваної реакції (рис. 2) та отримано наступне рівняння залежності:

$$\ln k_{\text{ДМСО}} = (1.07 \pm 0.06) \cdot 10^2 - (3.18 \pm 0.17) \cdot 10^{-1} D_{\text{PhO-H}}. \quad (4)$$

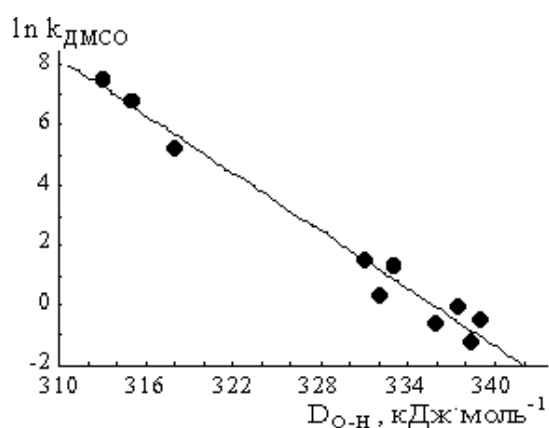


Рис. 2. Лінійна регресійна залежність експериментальних значень $\ln k_{\text{ДМСО}}$ від розрахованих величин енергій гомолітичного розриву найбільш слабкого О–Н-зв'язку ($D_{\text{PhO-H}}$) молекул гідроксибензойних кислот.

Однофакторний лінійний регресійний аналіз проводили в системі STATISTICA Demo 6.0 (<http://www.statsoft.ru>). Розраховані коефіцієнти кореляції ($r=0.977$) і детермінації ($r^2=0.954$) мають високі значення, що свідчить на користь механізму передачі атома Н від молекули кислоти до радикалу $Dprh^\bullet$ у ДМСО.

Подальша робота була спрямована на вивчення впливу добавок води на активність гідроксибензойних кислот у реакції з $Dprh^\bullet$. При цьому слід урахувати, що вода є протонним розчинником зі слабкими кислотними властивостями, яка здатна реагувати з ДФПГ. Однак при обраному співвідношенні вода — ДМСО (1:1) реакцію води з ДФПГ можна не враховувати (рис. 3),

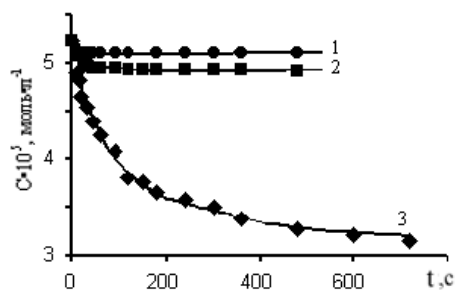


Рис. 3. Кінетичні криві витрачання $Dprh^\bullet$ у суміші вода—ДМСО (1:1) (1) у реакції з моно- і дигідроксибензойними кислотами ($C = 5.22 \cdot 10^{-5}$ моль/л): 2 – 4-гідроксибензойна кислота; 3 – 3-метокси-4-гідроксибензойна кислота. $T = 293 \pm 2$ К.

що значно спрощує дослідження кінетики витрачання радикала у присутності фенольних антиоксидантів. Встановлено, що при переході від апротонного до водно-апротонного розчинника порядки реакції залишаються незмінними, а ось константи швидкості реакції ($k_{H_2O-DMSO}$) зростають на порядок і більше (табл. 2), що свідчить про зміну механізму реакції зі збереженням стехіометрії реакції. Як і у випадку апротонного розчинника, найбільшу реакційну здатність виявили дигідроксибензойні кислоти — гентизинова і пірокатехова.

Найімовірніше у водному середовищі реакція фенолкарбонових кислот з $Dprh^\bullet$ представляє одноелектронний перенос (1) від фенолят-іона до радикала з подальшою передачею протона H^+ . Таке припущення ґрунтується на тому, що у воді частина гідроксибензойних кислот за рахунок дисоціації переходить у більш активну іонну форму. Тому, ймовірно, на початковій ділянці

(рис. 3) з $Dprh^\bullet$ реагує іонізована форма кислоти, а саме фенолят-іони, які утворюються за II ступенем дисоціації. При цьому участь карбоксилат-іонів у реакції одноелектронного переносу виключається, оскільки було встановлено, що радикал у водному середовищі не реагує з бензойною кислотою.

Якщо це так, то характеристикою реакційної здатності іонів гідроксибензойних кислот у реакції з $Dprh^\bullet$ повинна бути енергія вищої зайнятої молекулярної орбіталі ($E_{ВЗМО}$), яка, згідно з теоремою Купманса [14], може характеризувати потенціал іонізації частки, тобто здатність віддавати електрон. Розрахунок цих величин методом АМ1 показав (табл. 2), що дійсно така залежність спостерігається (рис. 4) і описується лінійним рівнянням з досить високим коефіцієнтом кореляції ($r=0.967$):

$$\ln k_{H_2O-DMSO} = (49 \pm 3) - (13 \pm 1)E_{ВЗМО}, \quad (5)$$

що свідчить на користь механізму одноелектронного переносу досліджуваної реакції у водно-апротонному розчиннику. Аналогічної залежності для величин D_{PhO-H} не спостерігається.

Отриманий взаємозв'язок структура — реакційна здатність молекул (рівняння (3)–(5)) може бути використаний для прогнозування антиоксидантних властивостей сполук одного структурного ряду, а також для планування синтезу речовин з високою антиоксидантною активністю.

Для більш детального встановлення причин прискорюючої дії добавок води на реакцію між фенолкарбоновими кислотами і радикалом $Dprh^\bullet$ необхідно було виявити природу сольватційних взаємодій наведених фенольних сполук зі змішаним розчинником. Для цього про-

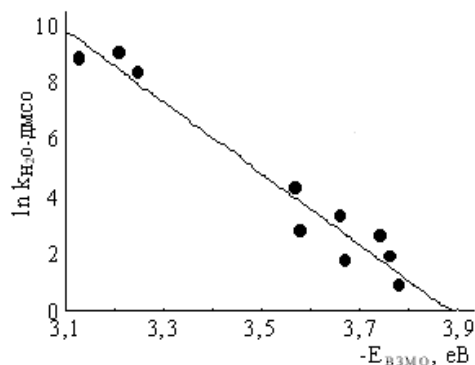


Рис. 4. Лінійна регресійна залежність $\ln k_{H_2O-DMSO}$ від $E_{ВЗМО}$ фенолят-іонів гідроксибензойних кислот.

водили лінійний аналіз залежності логарифма константи швидкості від діелектричної проникливості у координатах рівняння Кірквуда для випадку неспецифічної сольватації [15]. Відсутність лінійної залежності свідчить про наявність у досліджуваній системі одночасно як неспецифічних, так і специфічних ефектів середовища (рис. 5). Так, збільшення діелектричної проникливості при переході від неводного до змішаного

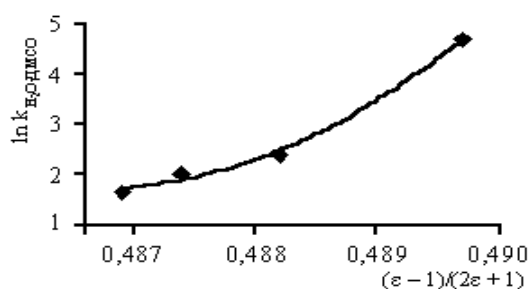


Рис. 5. Графік залежності $\ln k_{\text{H}_2\text{O}-\text{ДМСО}}$ від $\frac{\epsilon - 1}{2\epsilon + 1}$, побудований у координатах рівняння Кірквуда.

розчинника приводить до зменшення сил електростатичного притягування між протоном і фенолят-аніоном і, відповідно, до збільшення дисоціації кислот, що сприяє росту концентрації аніонів і їх активності в реакції з радикалом. Щодо специфічних взаємодій, то перехід від ДМСО до води веде до різкого збільшення сольватації фенолят-іонів, також підсилюючи процес утворення іонної форми антиоксиданту.

Таким чином, більш висока реакційна здатність гідроксibenзойних кислот у водно-апротонному середовищі у порівнянні з чистим апротонним розчинником обумовлена, по-перше, механізмом швидкого переносу електрона від фенолят-іона, що утворився, до радикалу з подальшою передачею протона водню, а по-друге, впливом специфічних і неспецифічних ефектів води, що сприяють росту концентрації фенолят-іонів у реакції з радикалом Dpph^\bullet .

РЕЗЮМЕ. Определены стехиометрические и кинетические параметры реакции Dpph^\bullet с моно- и диоксибензойными кислотами в ДМСО и смешанном растворителе вода—ДМСО (1:1). Более высокая реакционная способность гидроксibenзойных кислот в водно-апротонных средах по сравнению с апротонным

растворителем обусловлена, во-первых, механизмом переноса электрона от образовавшегося фенолят-иона к радикалу с последующей передачей протона водорода, а во-вторых, действием специфических и неспецифических эффектов воды, способствующих росту концентрации фенолят-ионов в реакции с радикалом ДФПГ.

SUMMARY. The stoichiometric and kinetic parameters of the reaction of Dpph^\bullet with mono- and dihydroxybenzoic acid in DMSO and mixed solvent water—DMSO (1:1) was studied. The reactivity of hydroxybenzoic acids in water-aprotic media is higher than those in aprotic solvent. This caused firstly by the mechanism of electron transfer from the resulting phenoxide ion to the radical followed by proton transfer of hydrogen, and secondly, by the influence of specific and nonspecific effects of water promoting growth of phenol ions concentration in reaction with the radical DPPH.

ЛІТЕРАТУРА

1. Блажей А.И., Шутый Л.Н. Фенольные соединения растительного происхождения. -М.: Мир, 1997.
2. Барабой В.А. Растительные фенолы и здоровье человека. -М.: Наука, 1984.
3. Запрометов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений. -М.: Высш. шк., 1974.
4. Бурлакова Е.Б., Алесенко А.В., Молочкина Е.М. Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте. -М.: Наука, 1975.
5. Litwinienko G., Ingold K.U. // J. Org. Chem. -2004. -**69**, № 18. -P. 5888—5896.
6. Litwinienko G., Ingold K.U. // Ibid. -2005. -**70**, № 68. -P. 8982—8990.
7. Sun B., Spranger I., Yang J. et al. // J. Agric. Food Chem. -2009. -**57**, № 18. -P. 8623—8631.
8. Белая Н.И., Бельй А.В., Пащенко А.И. // Журн. общ. химии. -2012. -**82**, вып. 5. -С. 772—781.
9. Горбачев С.В. Практикум по физической химии. -М.: Высш. шк., 1974.
10. Villano D., Fernandez-Pachon M.S., Moya M.L. et al. // Talanta. -2007. -**71**. -P. 230—235.
11. Dean J.A. Lange's handbook of chemistry. Fifteenth Ed. -McGRAW-HILL, Inc, 1999.
12. Шорина Н.В., Косяков Д.С., Боголицын К.Г. // Журн. прикл. химии. -2005. -**78**, вып. 1. -С. 127—131.
13. Денисов Е.Т. Ингибиторы в радикально-цепных процессах. -М.: Наука, 1997.
14. Citterio A., Minisci F., Parta O., Sesana G. // J. Amer. Chem. Soc. -1977. -**99**, № 24. -P. 7667—7960.
15. Эмануэль Н.М., Заиков Г.Е., Майзус З.К. Роль среды в радикально-цепных реакциях окисления органических соединений. -М.: Наука, 1973.