

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ДОНЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ВАСИЛЯ СТУСА

*О. М. Шендрик, В. В. Одарюк, І. Д. Одарюк*

**РАДИКАЛИ І ХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНЦІЯ У РЕАКЦІЯХ  
ФЕНОЛІВ З КИСНЕМ У ВОДІ**

*Монографія*

Вінниця  
ДонНУ імені Василя Стуса  
2018

**УДК 54.024+547.56-046.45**

**Ш 47**

*Рекомендовано Вченою радою ДонНУ імені Василя Стуса  
(протокол № 4 від 03.12.2018)*

**Автори:** *О. М. Шендрик*, доктор хімічних наук, професор.  
*В. В. Одарюк*, канд. хім. наук.  
*І. Д. Одарюк*, канд. хім. наук.

**Рецензенти:** *М. І. Коротких*, доктор хімічних наук, проф.  
*О. Г. Матвієнко*, доктор хімічних наук.

**Шендрик О. М.**

**Ш 47**      **Радикали і хемілюмінесценція у реакціях фенолів з киснем у воді / О. М. Шендрик, В. В. Одарюк, І. Д. Одарюк. – Вінниця, 2018. 176 с.**

**ISBN**

У монографії розглянуто механізми утворення і загибелі радикалів у взаємодіях фенольних сполук та їх похідних з молекулярним киснем у водних і водно-органічних середовищах. Проаналізовано термодинаміку окисно-відновних перетворень реактантів та шляхи виникнення хемілюмінесценції у цих процесах, включаючи реакції протон-спряженого переносу електрона (Proton-coupled electron transfer (PCET)). Особлива увага приділена специфічним методам експериментального вивчення радикальних реакцій окиснення та їх інгібування.

Монографія призначена для спеціалістів в області процесів окиснення органічних сполук, хімічної кінетики радикально-ланцюгових процесів, хемілюмінесценції, органічної і фізичної хімії, хімії полімерів і матеріалів. Вона буде корисною для студентів і аспірантів, як додатковий матеріал при вивченні спецкурсів з радикальних реакцій антиоксидантів, у зокрема і в клітинах аеробів, хімії інгібіторів окисних реакцій.

**УДК54.024+547.56-046.45**

© Шендрик О. М., 2018

© Одарюк В. В., 2018

© Одарюк І. Д., 2018

© ДонНУ імені Василя Стуса, 2018

**ISBN**

## ЗМІСТ

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ .....	5
ВСТУП .....	7
РОЗДІЛ I. ФЕНОЛЬНІ АНТИОКСИДАНТИ ПРЯМОЇ ДІЇ. МЕХАНІЗМИ ІНГІБУВАННЯ РАДИКАЛЬНО-ЛАНЦЮГОВИХ ПРОЦЕСІВ ОКИСНЕННЯ ОРГАНІЧНИХ РЕЧОВИН.....	9
1.1 Механізми і кінетичні моделі.....	9
1.2 Механізм процесів протон-спряженого переносу електрона у реакціях відриву Н-атома .....	13
1.2.1 Кінетичні моделі процесів РСЕТ .....	13
1.2.2 Елементарні акти спряжених протон-електронних переносів.....	14
1.2.3 Термодинаміка процесів РСЕТ .....	17
1.2.4 Прості феноли у процесах РСЕТ .....	18
1.2.5 РСЕТ у реакціях стабільних радикалів з фенолами.....	20
РОЗДІЛ II. АВТООКИСНЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ АНТИОКСИДАНТІВ У ВОДІ.....	22
2.1 Механізми активації молекулярного кисню .....	22
2.1.1 Активні форми кисню.....	25
2.2 Кінетика і механізм автоокиснення багатоатомних фенолів .....	29
2.2.1 Кінетичні закономірності процесу автоокиснення.....	29
2.2.2 Механізм хемілюмінесцентного світіння.....	34
2.2.3 Зародження радикалів.....	42
2.2.4 Елементарні реакції за участю радикальних інтермедіатів.....	48
2.2.5 Вплив складу буферного розчину на кінетику хемілюмінесценції .....	64
2.2.6 Реакції глибокого окиснення багатоатомних фенолів .....	66
РОЗДІЛ III. КІНЕТИКА І МЕХАНІЗМ ЗАРОЖДЕННЯ РАДИКАЛІВ ПРИ АВТООКИСНЕННІ БАГАТОАТОМНИХ ФЕНОЛІВ У ВОДІ.....	75
3.1 Інгібоване автоокиснення багатоатомних фенолів .....	75
3.2 Константи швидкостей зародження радикалів при автоокисненні багатоатомних фенолів .....	85
РОЗДІЛ IV. ОКИСНЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК ЧАЙНИХ ЕКСТРАКТІВ.....	95
4.1 Фенольні сполуки і фенолкарбонові кислоти – універсальні компоненти чаїв.....	98
4.2 Фенолкарбонові компоненти чайних екстрактів.....	98
4.3 Окиснення фенолкарбонових кислот .....	98
4.4 Кінетика поглинання кисню екстрактами чаю .....	107

4.5 Хемілюмінесценція при окисненні водних екстрактів чаю .....	109
4.6 Радикалоутворення при окисненні екстрактів чаю.....	112

## РОЗДІЛ V. АНТИОКСИДАНТНІ ВЛАСТИВОСТІ

### ГІДРОКСИФЕНІЛТІАЗОЛІВ ТА РЕАКЦІЇ

#### ЇХ АВТООКИСНЕННЯ .....115

5.1 Антиоксидантні властивості дигідроксифенілтіазолів в органічному та водному середовищах .....	118
5.1.1 Антиоксидантна активність ДФТ у реакції окиснення етилбензену.....	118
5.1.2 Антиоксидантна активність ДФТ у водному середовищі .....	121
5.2 Антирадикальні властивості дигідроксифенілтіазолів.....	126
5.2.1 Взаємодія фенолів та ДФТ з радикалом $\cdot\text{DPPH}$ .....	126
5.2.2 Реакція фенольних антиоксидантів з катіон-радикалом $\text{ABTS}^{\bullet+}$ .....	131
5.3 Взаємодія дигідроксифенілтіазолів з киснем.....	140
5.3.1 Хемілюмінесценція в реакції автоокиснення дигідроксифенілтіазолів .....	142
5.3.2 Радикалоутворення при окисненні ДФТ у водному середовищі .....	145

ЛІТЕРАТУРА .....	149
------------------	-----

## СПИСОК СКОРОЧЕНЬ

$\text{Asc}^{\dot{-}}$  – аскорбатаніон-радикал

$\text{Q}^{\dot{-}}$  – семихінонний радикал

$f_{\text{ABTS}^{*+}}^{\text{ind}}$  – стехіометричний коефіцієнт інгібування в реакції з  $\text{ABTS}^{*+}$ , визначений за періодом індукції методом ХЛ

$\tau_{\text{ind}}$  – період індукції

$\tau_{\text{lag}}$  – лаг-період

•DPPH – 1,1-дифеніл-2-пікрілгідразил

2,5Cl<sub>2</sub>-*p*-Q – 2,5-дихлорбензохінон-1,4

2,5Cl<sub>2</sub>-*p*-QH<sub>2</sub> – 2,5-дихлоргідрохінон

4CH<sub>3</sub>-*o*-QH<sub>2</sub> – 4-метилпірокатехін

ABTS – 2,2'-азинобіс(3-етилбензтіазолін)сульфонова кислота

$\text{ABTS}^{*+}$  – катіон-радикал 2,2'-азинобіс(3-етилбензтіазолін)сульфонової кислоти

Ar(OH)<sub>2</sub> – дигідроксибензен

ArO• – гідроксиарильний радикал

ArOH – монофенол

AscH<sup>-</sup> – моноаніон аскорбінової кислоти

AscH<sub>2</sub> – аскорбінова кислота

BDE – енергія гомолітичного розриву зв'язку

BDFE – вільна енергія дисоціації зв'язку

Cl-*p*-QH<sub>2</sub> – хлоргідрохінон

CPET – Concerted Proton-Electron Transfer

CoQH<sub>2</sub> – убіхінол

D-Q – duroхінон

EPT – Electron-Proton Transfer

$f$  – стехіометричний коефіцієнт інгібування

$f_{\text{ABTS}^{*+}}$  – стехіометричний коефіцієнт інгібування в реакції з  $\text{ABTS}^{*+}$

$f_{\text{DPPH}}$  – стехіометричний коефіцієнт інгібування в реакції з •DPPH

GK – галова кислота

GS-H<sub>2</sub>Q – глутатіонілгідрохінон

HAT – Hydrogen Atom Transfer

HCys – гомоцистеїн

HO• – гідропероксидний радикал

$I$  – інтенсивність хемілюмінесценції

In• – радикал інгібітора

InH – інгібітор

IP – потенціал іонізації

$k_7$  – константа швидкості реакції інгібітора з пероксирадикалами

$k_{\text{ox}}$  – константа швидкості реакції автоокиснення

$n_{\text{AO}}$  – порядок реакції автоокиснення за речовиною, що окиснюється

$\text{O}_2^{\dot{-}}$  – супероксиданіон-радикал

*o*-QH<sub>2</sub> – пірокатехін

PG – пірогалол

PGK – 2,3,4-тригідроксибензойна кислота

PhG – флороглюцин  
*p*-Q – парабензохінон  
*p*-QH<sub>2</sub> – гідрохінон  
 PCET – Proton Coupled Electron Transfer  
 PINO – фталімід N-оксил радикал  
 q – гасник хемілюмінесценції  
 Q – хінон  
 QH<sub>2</sub> – двохатомний фенол  
 QH<sub>m</sub> – багатоатомний фенол  
 R• – алкільний радикал  
 RH – органічна речовина  
 RO• – алкоксильний радикал  
 RO<sub>2</sub>• – пероксидний радикал  
 rOOr – ініціатор  
 SPLET – Sequential Proton-Less Electron Transfer  
 TEAC – тролоксовий еквівалент  
 TEMPO• – 2,2'-6,6'-тетраметилпіперидин-1-оксиловий радикал  
 TxOH – Тролокс  
 V<sub>(O<sub>2</sub>)</sub> – швидкість поглинання кисню при автоокисненні  
 V<sub>i</sub> – швидкість ініціювання  
 V<sub>ini</sub> – швидкість зародження радикалів при автоокисненні  
 ε – коефіцієнт абсорбції  
 λ – довжина хвилі  
 φ – квантовий вихід хемілюмінесценції  
 АЄ – антирадикальна ємність  
 АІБН – азоізобутиронітрил  
 АО – антиоксидант  
 АОА – антиоксидантна активність  
 АРА – антирадикальна активність  
 АФК – активні форми кисню  
 ВРО – вільно-радикальне окиснення  
 ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія  
 ДМСО – диметилсульфоксид  
 ДФТ – 4-(3'(2'),4'-дигідроксифеніл)тіазоли  
 ЕТБ – етилбензен  
 КІЕ – кінетичний ізотопний ефект  
 КБС – карбонатна буферна система  
 НЖК – ненасичені жирні кислоти  
 ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів  
 СОД – супероксиддисмутаза  
 СФ – світлофільтр  
 ТБК – 2-тіобарбітурова кислота  
 ФБС – фосфатна буферна система  
 ФС – фенольні сполуки  
 ХЛ – хемілюмінесценція

## ВСТУП

Кисень – високореакційний компонент земної атмосфери. Практично все, що є на нашій планеті, а особливо органічні речовини, вже окиснено, або окиснюється за радикальним або радикально-ланцюговим механізмом. Його особливістю є утворення проміжних інтермедіатів, що містять активний кисень, який є головною рушійною силою автоприскорення процесу і швидкого пертворення в кінцевому підсумку всіх сполук на кисеньвмісні речовини. Саме ці реакції лежать в основі процесів псування харчових олій і жирів, детонації органічної сировини за тривалого зберігання, погіршення технологічних властивостей моторних олій і мастил, передчасного руйнування лаків, лакофарбових покриттів, виробів з полімерів, інтенсифікації процесів пероксидації ліпідів (ПОЛ) у клітинах аеробів і т. ін. Тому значна частина зусиль земної цивілізації спрямовується на захист від кисню.

Активними центрами процесів окиснення є радикали. В силу принципу збереження вільної валентності повністю зупинити такі реакції неможливо. Так само як не можна керувати ланцюговою ядерною реакцією без пасток швидких нейтронів, з ланцюговими процесами окиснення неможливо боротися без пасток активних радикалів – антиоксидантів (АО) або інгібіторів окиснення. Речовини, що володіють такими властивостями, широко застосовуються для захисту від кисню як харчової, так і нехарчової органічної сировини і матеріалів на їх основі, а також регуляції процесів ПОЛ.

Одним із практично важливих наслідків теорії радикально-ланцюгового окиснення є відкриті нею можливості їх регулювання, зокрема прискорення і гальмування. Ефективність і глибина гальмування окиснення органічних речовин обмежені. Ця властивість є наслідком принципу квазістаціонарності Боденштейна, який постулює наявність балансу (рівності) швидкостей реакцій утворення і загибелі активних центрів. Відтак, швидкість поглинання кисню не може бути меншою за швидкість зародження радикалів. За всієї простоти принципів гальмування радикально-ланцюгових процесів окиснення підбір антиоксидантів для них – завдання багатовимірне і неоднозначне, оскільки немає універсальних антиоксидантів або інгібіторів, які володіли б абсолютною антирадикальною активністю і були б завжди і всюди ефективні. Антиоксидантна активність залежить від структури АО, специфіки об'єкта, що захищається, або процесу, температури, середовища і багато чого іншого. Так, автори робіт [1, 2] зазначають: «На жаль, багато з пропонованих на ринку антиоксидантів, віднесені до таких лише гіпотетично, на підставі екстраполяції уривчастих досліджень. З'явилося багато повідомлень про те, що багато композицій, що володіють АО властивостями, такими не є». Для біо- та харчових антиоксидантів важливе значення, крім їх ефективності, має токсичність.

Вищі форми життя на Землі представлені аеробними організмами, тобто мають потребу в кисні. Хімічною основою всіх відомих анаеробів і аеробів є органічні молекули, для яких кисень – універсальний і дуже активний окислювач. Клітини аеробів використовують кисень як термінальний акцептор

електронів при окисленні поживних органічних речовин. Механізм цих процесів досить складний і багатостадійний. Значна частина його елементарних реакцій перебігає за участю радикалів. На це вказують характерні для таких процесів активні інтермедіати, які виявлені у клітинах і названі активними формами кисню (АФК). Це кисеньцентровані радикали [3], в тому числі супероксиданіон-радикал [4], пероксид водню, органічні гідропероксиди [5, 6], синглетний кисень [7]. Всі вони володіють високою окисною активністю стосовно до органічних компонентів клітин.

Виявлення у клітинах токсичних для них продуктів окислення наштовхнуло дослідників на думку про існування природних механізмів антиоксидантного захисту в аеробів. Багато деталей цього механізму на сьогодні вже вивчені. Ключовим тут є розуміння того, що первинною активованою формою кисню є продукт його одноелектронного відновлення – супероксиданіон-радикал, хімічна природа якого інтенсивно досліджується. Кількість агресивних метаболітів у клітинах аеробів підтримується на безпечному рівні високоспецифічними ферментами – супероксиддисмутазою (СОД), каталазою, пероксидазою; пастками активних радикалів – природними антиоксидантами прямої дії – вітамінами груп Е, А, К, С; каротиноїдами та ін. [8, 9]. В анаеробних мікроорганізмів відсутня вже перша ланка захисту від кисню, тобто СОД [10]. Тому в кисневій атмосфері вони швидко гинуть.

Одна з найважливіших наукових проблем – це встановлення принципів і механізмів дії антиоксидантної системи у клітинах аеробів. Вирішення цієї проблеми має важливе значення, перш за все тому, що для всіх форм життя кисень потенційно небезпечний, водночас для аеробів він абсолютно необхідний. Ця дивовижна двоїстість вражає філігранним поєднанням у ній конфліктуючих крайнощів, підкреслюючи тим самим невичерпність і різнобарв'я такої багатовимірної, нескінченної і специфічної субстанції як життя.



# РОЗДІЛ І

## ФЕНОЛЬНІ АНТИОКСИДАНТИ ПРЯМОЇ ДІЇ.

### МЕХАНІЗМИ ІНГІБУВАННЯ РАДИКАЛЬНО-ЛАНЦЮГОВИХ ПРОЦЕСІВ ОКИСНЕННЯ ОРГАНІЧНИХ РЕЧОВИН

#### 1.1 Механізми і кінетичні моделі

Фенольні сполуки широко застосовуються як інгібітори радикально-ланцюгових реакцій окиснення. Механізми їх дії ґрунтовно і всебічно вивчені. Встановлено елементарні реакції [11, 12, 13, 14], обґрунтовані кінетичні моделі [15, 16, 17], розроблені спеціальні методи експериментального дослідження стаціонарної і нестаціонарної кінетики [18, 19]. Накопичений значний масив констант швидкостей елементарних реакцій [20, 21], розвинені емпіричні і напівемпіричні підходи до оцінки їхньої активності в реакціях з радикалами [22, 23, 24, 25].

Ефективність фенолів як антирадикальних агентів пов'язана з легкістю відщеплення атома водню від гідроксильної групи. У середовищі органічних розчинників це основний шлях обриву ланцюгів на молекулах інгібітора з одночасною трансформацією високореакційної вільної валентності пероксирадикала в малоактивну у продовженні ланцюгів форму феноксильного радикала. Кінетична модель інгібування радикально-ланцюгового процесу окиснення органічної речовини (RH) молекулярним киснем у присутності ініціатора (rOO $\cdot$ ) у варіанті нерозгалуженого процесу включає елементарні реакції, що представлені схемою 1.1.

У найпростішому випадку окисного процесу з лінійним обривом ланцюгів на інгібіторі, коли він бере участь тільки в реакціях (1.7) і (1.8), квазістаціонарна концентрація пероксильних радикалів визначається таким рівнянням [26, 27]:

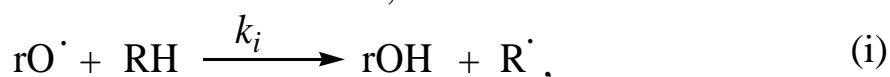
$$[\text{RO}\cdot]_{\text{st}} = V_i / f \cdot k_{1.7} \cdot [\text{InH}] \quad (1.13)$$

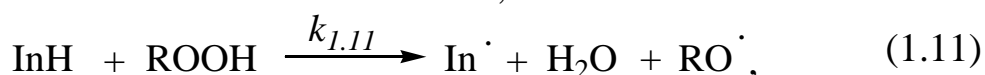
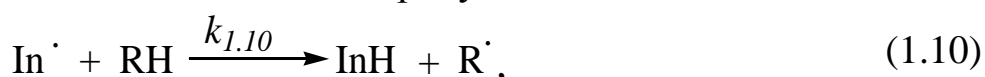
де  $f$  – стехіометричний коефіцієнт інгібування, що дорівнює кількості радикалів, які гинуть на одній молекулі інгібітора;  $k_{1.7}$  – константа швидкості реакції обриву ланцюгів на інгібіторі.

Звідси ефективність інгібітора характеризується, як мінімум, двома параметрами:

- 1) константою швидкості реакції активних радикалів, що ведуть ланцюги, з молекулою інгібітора –  $k_{1.7}$ ;
- 2) стехіометричним коефіцієнтом інгібування –  $f$ .

Обидва параметри можливо безпосередньо виміряти в експерименті. У сукупності вони досить надійно характеризують антиоксидантні властивості інгібітора.





де  $R^\cdot$ ,  $RO^\cdot$ ,  $RO_2^\cdot$  – алкільний, алкоксильний, пероксильний радикали;  $InH$  і  $In^\cdot$  – інгібітор та його радикал;  $V_i$  – швидкість ініціювання (зародження радикалів).

Схема 1.1 Механізм інгібування ініційованого рідиннофазного окиснення вуглеводнів

Величина  $k_{1.7}$ , за інших рівних умов, визначає квазістаціонарну концентрацію пероксильних радикалів, тобто глибину інгібування (див. рис. 1.1). Період індукції ( $\tau_{ind}$ ) визначається кількістю доданого інгібітора і стехіометричним коефіцієнтом інгібування. Час гальмування практично не залежить від величини  $k_{1.7}$ . Для слабких інгібіторів ( $k_{1.7} \leq 10^2 \div 10^3 \text{ М}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ ) глибина гальмування невелика, а період індукції часто важко визначити із-за його розмивання у часі (див. рис. 1.1).

Таким чином, якщо визначити експериментально або оцінити величини  $k_{1.7}$  і  $f$ , можна досить надійно прогнозувати антиоксидантну ефективність інгібітора. На практиці далеко не всі інгібітори і не у всіх випадках можна віднести до сильних, а кінетичні моделі процесів з їх участю не такі прості. Разом з тим значна частина інгібіторів проаналізована, представлена кінетичними моделями і має завершений та зручний для практичного використання формально-кінетичний опис (див. табл. 1.1) [28].

Передбачається [29, 30, 31], що механізм антиоксидантної дії фенольних пасток активних пероксильних радикалів, як в органічних розчинниках, так і у воді один і той же; і такий підхід «за аналогією» широко використовується для водних систем. Однак у воді феноли, як слабкі кислоти, дисоціюють і залучаються до багатьох взаємодій з обміну протонами та електронами. Водне середовище, таким чином, здатне істотно впливати на антиоксидантну активність фенолів і змінювати механізми процесів. До того ж у водному середовищі

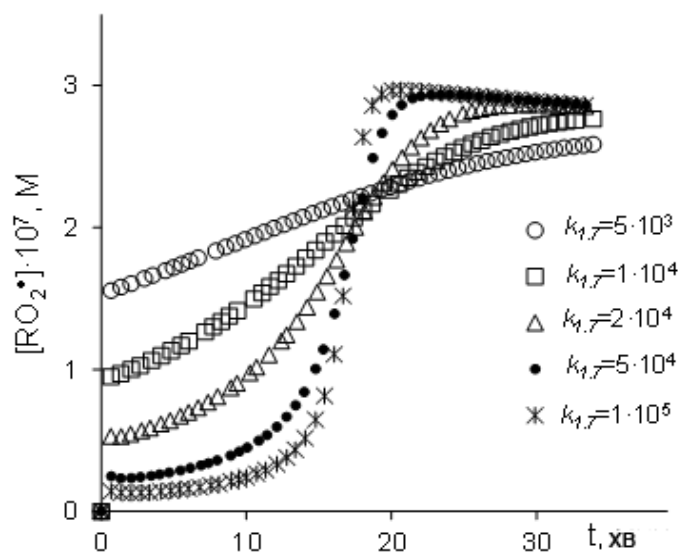


Рис. 1.1 Залежність квазістаціонарної концентрації пероксирадикалів ( $\text{RO}_2^\bullet$ ) і величини періоду індукції від константи швидкості реакції обриву ланцюгів на інгібіторі ( $k_{1,7}$ )

форм кисню не можна не враховувати кислотно-основні рівноваги та принципову можливість перенесення електрона з фенолят-іона на молекулу кисню або хінону.

Механізм інгібування фенолами в органічному середовищі розглядається як простий відрив атома водню радикалом від фенольного О–Н зв'язку [33]. У воді значну роль відіграють процеси протон-спряженого переносу електрона (Proton coupled electron transfer – PCET). Через неоднозначність і невизначеність шляхів зародження радикалів при окисленні фенолів киснем у воді складно будувати кінетичні моделі цих процесів. Важко передбачати і прогнозувати антиоксидантну активність фенолів, навіть за наявності значної на поточний момент кількості констант швидкостей їхніх реакцій з радикалами. Саме ці аспекти є найбільш актуальними в дослідженнях фенольних антиоксидантів, особливо біологічно активних [34, 35, 36, 37, 38, 39, 40].

пряма взаємодія фенолів з киснем призводить до хінонів, пероксиду водню, синглетного кисню, радикальних частинок, тобто феноли можуть не тільки пригнічувати, а й ініціювати радикальні реакції [32]. Це небажано і продовжує залишатися однією з найбільш актуальних проблем теорії радикально-ланцюгових процесів окислення фенолів і ароматичних амінів у водних середовищах. Можна констатувати, що характеристики антиоксидантної активності речовин в органічних розчинниках навряд чи є такими ж і для водних середовищ. В останніх для фенолів і активних

Таблиця 1.1

Рівняння швидкості реакції ( $V$ ) і поглинання кисню у часі ( $\Delta O_2(t)$ ) при різних механізмах інігованого окиснення (у формулах для  $\Delta[O_2]$   $V_0$  відноситься до  $t = 0$ ,  $\tau = f[InH]_0/V_{i,a} = k'' V_i f k' [RH](1 + k' \tau [InH]/k' [RH])$ ), [28]

Механізм	Головні реакції	$V$	$\Delta O_2(t)$
I	$r + RH (k')$ $r + InH (k'')$	$V_i (1 + k'' [InH]/k' [RH])^{-1}$	$fa^{-1} \ln \left\{ \frac{1 + a[InH]_0}{1 + a[InH]_0 - V_i a f^{-1}} \right\}$
II	(2), (7)	$V_i (1 + k_2 [RH]/fk_7 [InH])$	$V_i t - k_2 k_7^{-1} [RH] \ln(1 - t/\tau) \approx V_i t$
III	(2), (7)	$V_i k_2 [RH]/fk_7 [InH]$	$-k_2 k_7 [RH] \ln(1 - t/\tau)$
IV	(2), (7), (8), (10)	$k_2 [RH]^{3/2} (k_{10} V_i / fk_7 k_8 [InH])^{1/2}$	$2 V_0 \tau (1 - \sqrt{1 - t/\tau})$
V	(2), (7), (-7), (8)	$k_2 [RH] (k_7 [ROOH] V_i / fk_7 k_8 [InH])$	$([ROOH]_0 + \Delta[Q])^{1/2} = [ROOH]_0^{1/2} + V_0 \left( \frac{[InH]_0}{[ROOH]_0} \right)^{1/2} \times$ $\times \{ [InH]_0^{1/2} - ([InH]_0 (1 - t/\tau)^{1/2}) \}$
VI	(2), (7), (11)	$\frac{k_2 [RH] (V_i + 2e_1 k_{11} [ROOH] [InH])}{fk_7 [InH]}$	$\ln(1 + \Delta[O_2]/[ROOH]_0) = 2k_2 k_{11} e_1 f^{-1} k_7^{-1} [RH] t$
VII	(2), (7), (12)	$k_2 [RH] (V_i + 2e_{12} k_{12} [O_2] [InH]) / fk_7 [InH]$	$\frac{2k_2 k_{12} e_{12} [RH] [O_2]}{fk_7} t + \frac{k_2 V_i [RH]}{fk_7 k_{12} [InH]_0} (\exp(k_{12} [O_2] t) - 1)$
VIII	(1), (7)	$k_1 [O_2] V_i / fk_7 [Q]$	$-k_1 k_7^{-1} [O_2] \ln(1 - t/\tau)$
IX	(1), (7), (8), (10)	$k_1 [O_2] (k_{10} [RH] V_i / fk_7 k_8 [Q])^{1/2}$	$2 V_0 \tau (1 - \sqrt{1 - t/\tau})$
X	(1), (7), (-7), (10)	$k_1 [O_2] (k_7 [RH] V_i / fk_7 k_8 [Q])^{1/2}$	$([ROOH]_0 + \Delta[O_2])^{1/2} = [ROOH]_0^{1/2} + V_0 ([Q]_0 / [ROOH])^{1/2}$ $\cdot \{ [Q]_0^{1/2} - ([Q]_0 (1 - t/\tau))^{1/2} \}$

## 1.2 Механізм процесів протон-спряженого переносу електрона у реакціях відриву Н-атома

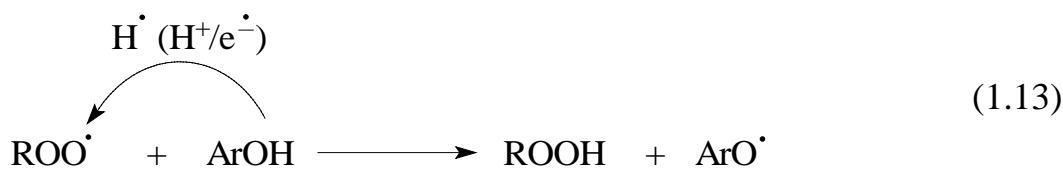
### 1.2.1 Кінетичні моделі процесів PCET

Реакції переносу або відриву Н-атома радикалами (Hydrogen Atom Transfer – HAT) досліджуються вже близько століття [41]. Вони є визначальними для швидкості і селективності радикально-ланцюгових процесів окиснення, активними центрами яких виступають, зазвичай, алкілпероксильні радикали. У класичних кінетичних моделях ініційованого або автоокиснення у неполярних газовій чи рідкій фазах відрив Н-атома від субстрату (RH) радикалом ( $R'O_2^\bullet$ ) розглядається як елементарна гомолітична реакція (1.2):



Реакційна здатність за такого підходу визначається енергією зв'язку R-H, що розривається. Однак, вже у 60–70-х рр. минулого століття така проста модель виявилася неспроможною пояснити всі експериментальні спостереження. Зокрема, з'явилися факти, що вказували на ймовірне розділення зарядів у перехідному стані реакції, тобто на наявність і вплив полярного фактора. На це вказували кореляційні залежності, побудовані за принципом лінійного співвідношення вільних енергій (ПЛСЕ) з використанням  $\sigma^+$ -констант замісників Брауна-Окамото [41].

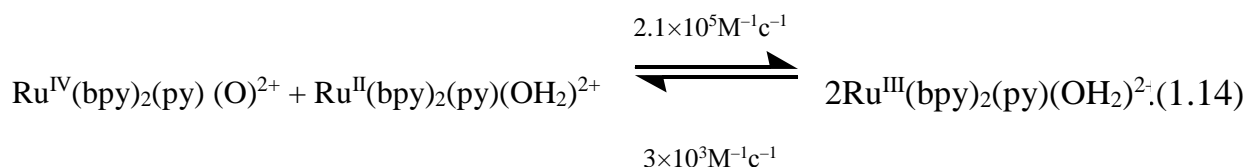
Реакції пероксильних радикалів з фенолами (ArOH), або з іншими радикальними антиоксидантами в органічному середовищі, також розглядалися довгий час як такі, що відбуваються шляхом формального перенесення атома водню. Однак результати поглиблених досліджень їхніх механізмів, особливо у полярних і водних середовищах, значною мірою вказували на більш складний перебіг реакції з поетапним або узгодженим переносом  $H^+$  та  $e^-$  (1.2) [42]. Такі механізми було визначено як протон-спряжений перенос електронів – PCET.



Так, теоретичні та експериментальні дослідження показали, що в неполярному органічному середовищі  $H^+$  і  $e^-$  переносяться в одному елементарному акті, тобто реакція є узгодженою. Перенос відбувається з різних орбіталей ArOH до різних орбіталей на  $ROO^\bullet$ .

Такий механізм відповідає початковому визначенню PCET, яке дав у 1981 р. Т. J. Меуер з колегами [43]. Він відрізняється від прямого переносу Н-атома (HAT), за яким  $H^+$  і  $e^-$  передаються узгоджено між тими ж орбіталями [44].

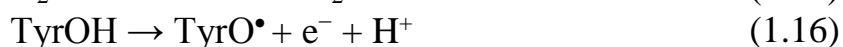
Термін «протон-спряжений (сполучений) перенос електронів» вперше був запропонований у 1981 р. для опису елементарного акту реакції диспропорціонування між  $Ru^{IV} (bpy)_2(py) (O)^{2+} (Ru^{IV}=O_2^+)$  та  $Ru^{II} (bpy)_2 (py) (OH_2)^{2+} (Ru^{II}-OH_2^{2+})$ , в якому електрони та протони переносяться разом:



У цій реакції електрон і протон одночасно переносяться з  $\text{Ru}^{\text{II}}\text{-OH}_2^{2+}$  до  $\text{Ru}^{\text{IV}}=\text{O}^{2+}$ , з утворенням 2  $\text{Ru}^{\text{III}}\text{-OH}_2^{2+}$ . Перенесення протона підтверджено кінетичним ізотопним ефектом  $k(\text{H}_2\text{O})/k(\text{D}_2\text{O})$  у 16,1 [45].

Унаслідок багатьох досліджень термін PCET розширив з часом своє значення. До нього було включено одно- та багатоетапні механізми за участю одного чи більше  $\text{H}^+$  і  $\text{e}^-$  [46]. Такі поняття, як узгоджений електрон-протонний перенос (Electron-Proton Transfer – EPT) [44], узгоджений протон-електронний перенос (Concerted Proton-Electron Transfer (CPET) [46, 47] на сьогодні відносять до різновидів PCET [48].

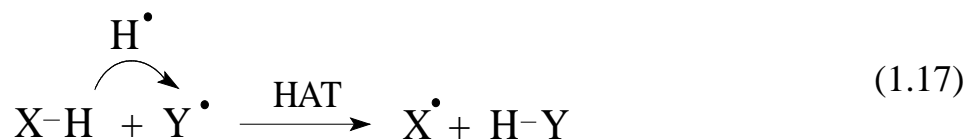
Багато, якщо не більшість, окисно-відновних реакцій пов'язані з передачею протонів. Вони включають у себе найпоширеніші джерела енергії – від біоенергетичних процесів, які живлять клітини, до спалювання викопного палива. Ці процеси можуть включати в себе кілька електронів та протонів, наприклад  $4 \text{e}^-$  та  $4 \text{H}^+$  в реакції відновлення кисню ( $\text{O}_2$ ) до води (реакція 1.15), або один електрон і один протон, як при утворенні тирозильних радикалів із залишків тирозину ( $\text{TyrOH}$ ) у ферментативних каталітичних циклах (реакція 1.16):



Крім того, багато мультиелектронних, мультипротонних процесів перебігають одноелектронними і однопротонними стадіями. Органічні реакції, що відбуваються через одноелектронні стадії, включають утворення радикальних проміжних продуктів, які відіграють важливу роль у широкому спектрі хімічних, біологічних та промислових процесів. Цей широкий і різноманітний клас реакцій PCET є основним для багатьох хімічних і біохімічних процесів, від біологічного каталізу та трансдукції енергії до потужних промислових хімічних процесів, до нових підходів з перетворення сонячної енергії. Інтерес дослідників до них систематично зростає [49, 50].

### 1.2.2 Елементарні акти спряжених протон-електронних переносів

Серед механізмів PCET найбільше досліджено реакції відриву атома водню від органічних сполук пероксильними радикалами (HAT), оскільки вони є важливими не лише для хімії окиснювальних процесів, а і відіграють значну роль у клітинах аеробів, захисту харчових продуктів від кисню [48]. У цих процесах не було потреби давати окреме визначення HAT-механізму. Вони розглядались як узгоджений перенос H-атома від донора (XH) до акцептора (Y) [51], тобто передача двох частинок в один кінетичний акт і не обов'язково як синхронний перенос (1.17).



У реакціях НАТ з участю координаційних комплексів перехідних металів та металоферментів механізми НАТ та РСЕТ можуть перекриватися. Це привело до появи ряду нових визначень про НАТ реакції. [52, 53, 54]. Наприклад, Мейер з колегами запропонували обмежити механізм НАТ реакціями, в яких електрон і протон походять з одного і того ж зв'язку [55].

Це обмеження, однак, є проблематичним. Зокрема, є багато спостережень, коли дві частки походять з одного зв'язку, але не мають такого у продукті реакції. Наприклад, відрив атома водню від зв'язків С-Н в цитохромі Р450 реалізується як перенос протона на кисень ферилу (Fe=O), а електрон переноситься на катіон-радикал порфірину [56].

Не завжди можна точно гарантувати приналежність протона та електрона до одного і того ж зв'язку в реакціях відриву Н-атома від фенолів, оскільки О-Н зв'язок може лежати у площині ароматичного кільця або бути перпендикулярним до нього, наприклад, у 2,6-ди-трет-бутилзаміщених фенолах [57].

Для уникнення непорозумінь перевага у визначенні НАТ надається схемам з узгодженим переносом  $\text{H}^+$  й  $\text{e}^\bullet$  від одного донора до одного акцептора (Схема 1.2).

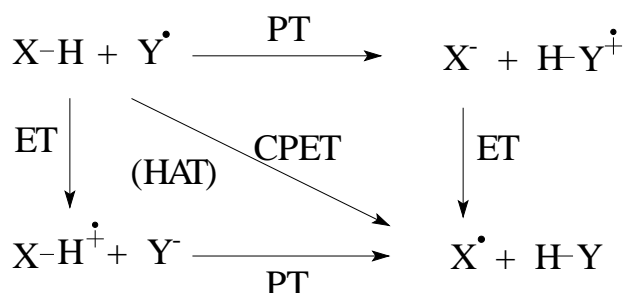


Схема 1.2 Спряжений та стадійні шляхи переносу протона й електрона [57]

Ця схема включає процеси переносу протона РТ (горизонтальні лінії), процеси переносу електрона ЕТ (вертикальні лінії) та синхронний протон-електронний – перенос НАТ – діагональна лінія.

Стадійними процесами на Рис. 1.2 для реакцій переносу  $1\text{H}^+/1\text{e}^\bullet$  є протонне перенесення, а потім перенос електронів (РТ-ЕТ) і навпаки – ЕТ-РТ. Відомо багато прикладів РТ-ЕТ, ЕТ-РТ та узгоджених реакцій. Наприклад, Литвиненко та Інгольд [58], а також Фоті та колеги [59] показали, що у спиртах феноли окислюються 1,1-дифеніл-2-пікрилгідрозил-радикалом ( $\text{DPPH}^\bullet$ ) набагато швидше, ніж очікувалося від НАТ (CPET). Це пов'язано з тим, що молекула фенолу є донором водневого зв'язку (HBD) і зв'язана у комплекс з розчинником не взаємодіє з радикалами. Тому у розчинниках, що співдіють іонізації фенолу, паралельно перебігають два процеси. Традиційний (повільний) НАТ і швидкий [59, 60], названий авторами [58] як послідовний перенос

електронів з втратою протонів (Sequential Proton Loss Electron Transfer (SPLET)), за участю фенокисильних радикалів (див. схему 1.3) [58].

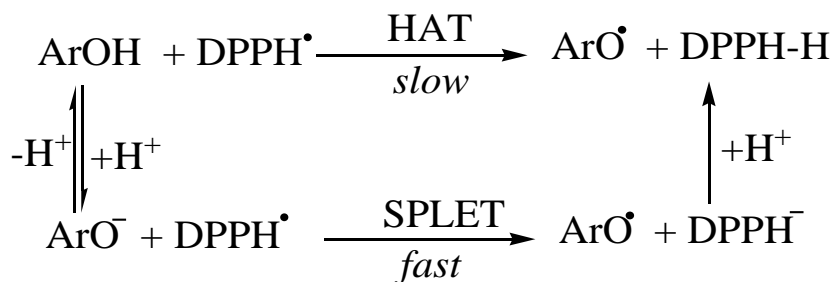
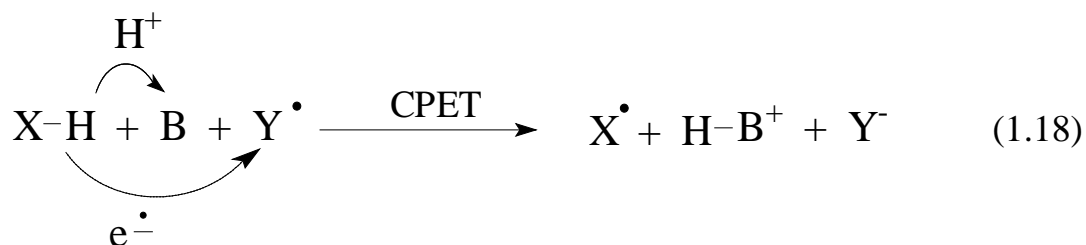


Схема 1.3 Механізм реакції фенолів з  $\text{DPPH}^\bullet$  у полярних середовищах

Механізм SPLET має переваги для фенолів з низькими  $pK_a$  при взаємодіях з електронно-дефіцитними радикалами, які малоактивні у HAT процесах, а продукти їх реакцій мають невеликі  $pK_{as}$ , наприклад,  $\text{DPPH}^\bullet/\text{DPPH-H}$ ,  $\text{ROO}^\bullet/\text{ROOH}$  [58]. Таким чином, умови і середовище значною мірою впливають на механізм їхньої взаємодії з радикалами, що є важливим при дослідженнях антиоксидантної активності фенолів. Реакція може перебігати як чистий HAT-чи SPLET-процес, або як їхня комбінація (HAT+SPLET) [61, 62, 63].

У полярних органічних розчинниках (MeCN або EtCN) з добавками протонної кислоти реакції між пероксильним радикалом і фенолом значно прискорюються [64]. Процес перебігає поетапно, а його швидкість контролює ЕТ до протонованого пероксильного радикала. На користь цієї гіпотези свідчить те, що слабкі органічні кислоти в мілімолярних концентраціях суттєво підвищують реакційну здатність пероксирадикалів.

Існують також узгоджені передачі електрона та протона, в яких протони та електрони переносяться між різними реагентами. Наприклад, у реакції 1.19 при окисненні субстрату XH електрон переноситься на окисник Y, а протон – на основу B.



Одним з поширених біологічних прикладів такої реакції є фотосинтетичне окислення тирозину-Z, де електрон переноситься на фотозбуджений хлорофіл ( $\text{P680}^+$ ). Такі «відокремлені CPET» реакції чітко відрізняються від реакцій HAT. Також вони називаються «багатостадійним ЕРТ».



### 1.2.3 Термодинаміка процесів PCET

Термодинаміка  $H^+/1e^-$  PCET реагенту  $X-H$  у розчиннику характеризується п'ятьма параметрами, як показано на схемі 1.4 [66].

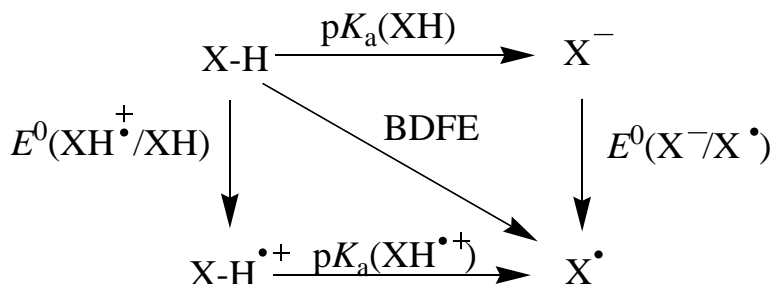


Схема 1.4 Термохімічна схема перетворень субстрату у процесах PCET

Це визначена через  $pK_a$ s кислотність / основність окислених та відновлених форм пар:  $XH^{\bullet+}/X^{\bullet-}$  і  $XH/X^-$ ; окисно-відновні потенціали протонованого та депротонованого субстрату –  $E^0[XH^{\bullet+}/XH]$  та  $E^0[X^-/X^{\bullet-}]$ , а також енергія гомолітичної дисоціації зв'язків – BDFE. Усі ці параметри є вільними енергіями Гіббса:

$$\Delta G^{\circ}_{PT} = -RT \ln(K_a) = 2.303RT(pK_a) = -(5.73 \text{ кДж/моль})pK_a \text{ (при 298K)}. \quad (1.19)$$

$$\Delta G^{\circ}_{ET} = -F E^{\circ} = -(96.48 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{л}^{-1})E^{\circ}, \quad (1.20)$$

де  $R$  – універсальна газова стала;  $T$  – температура;  $F$  – константа Фарадея;  $E^{\circ}$  – вільна енергія хімічної реакції, яка є сумою напівреакції  $X^{\bullet-} + e^- \rightarrow X^-$ , і для стандартної окисно-відновної пари (НВЕ для водних середовищ).

Для такої реакції, як  $HX + Y \rightarrow X + HY$ , значення  $pK_a$  та  $E^{\circ}$  для систем з  $HX$  та  $HY$  визначають вільну енергію процесу у стадіях PT, ET та переносу H-атома.

Термодинамічні параметри  $E^{\circ}$  і  $pK_a$ , якщо вони використовуються в тій самій схемі або рівнянні, мають визначатися в однакових або схожих умовах. Наприклад, якщо електрохімічні параметри вимірюються у розчинах, що містять допоміжний електроліт, то і значення  $pK_a$  повинні визначатися в присутності того самого електроліту. Оскільки дані часто походять з різних джерел та різних типів вимірювань, ця вимога не завжди виконується, що призводить до деякої невизначеності у певних значеннях. Перевірку узгодженості даних можна отримати виходячи із закону Гесса, який стверджує, що зміна енергії не залежить від шляху і для замкнутого циклу дорівнює нулю. Це означає, фактично, що у наведеному на рис. 1.4 циклі є лише три незалежні параметри. Так, зміна значень  $pK_a$  при окисненні ідентична зміні окисно-відновного потенціалу при депротонуванні (див. рівняння 1.21).

$$2.303RT[pK_a(XH^{\bullet+}) - pK_a(XH)] = F[E^0(X^-/X^{\bullet-}) - E^0(XH^{\bullet+}/XH)]. \quad (1.21)$$

Щодо вільної енергії гомолітичної дисоціації зв'язків, то НАТ-реакції аналізували, як правило, за співвідношенням Бела–Еванса–Поляні, яке використовує ентальпії дисоціації зв'язків (BDE) [65]. Останні не є точно такими

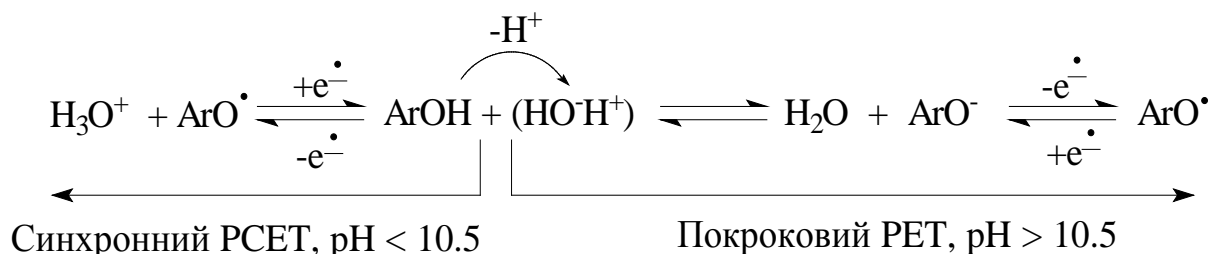
У більшості випадків BDFE можна визначати з відомих  $pK_a$  та  $E^\circ$  за співвідношенням Бордвела [67] для органічних сполук, розширеного Паркером, Вейнером та Тілсетом [68, 69, 70]:

Константа  $C_G$  еквівалентна потенціалу відновлення  $H^+/H^\bullet$  у певному розчиннику.  $C_G$  включає в себе вільні енергії утворення, сольватації  $H^\bullet$ , а також характеристики електрода порівняння та визначена для багатьох розчинників.

#### 1.2.4.1 Фенол

Фенол широко вивчався як найпростіша з ароматичних сполук з гідроксильною групою. Феноли легко віддають атом водню (НАТ). З реакціями, що перебігають за цим механізмом, пов'язують антиоксидантні властивості фенолів як *in vivo*, так і *in vitro*. Для більш кислотних фенолів або у лужному середовищі реакція може відбуватися за механізмом послідовного протон-електронного переносу (SPLET) [57, 67]. Менш ймовірною є реакція фенолів з первинним переносом електронів через високі потенціали  $E^\circ(\text{ArOH}^{\bullet+}/^0)$ .

Протон-спряжений перенос електронів від фенолів відіграє вирішальну роль у кількох природних процесах. Їхня висока ефективність пов'язана, ймовірно, з узгодженням стадій перенесення електронів та протонів. Циклічне вольтамперометричне спостереження електрохімічного окислення та зворотної реакції на прикладі 2,4,6-три-*трет*-бутилфенолу [71] в небуферизованому водному середовищі дозволило чітко визначити шлях процесу, в якому фенол оборотно перетворюється у феноксильний радикал, а протон переноситься на молекулу води.



### Схема 1.5 Вплив рН на механізм переносу електронів від фенолів у воді

У дуже основному середовищі реалізується послідовний механізм (PET), за яким фенол спочатку дисоціює, тобто «скидає»  $H^+$  на йон  $OH^-$ , а отриманий

феноксильний іон швидко окислюється до феноксильного радикала. У сильно-кислотному  $\text{ArOH}$  віддає електрон і протон узгоджено за механізмом PCET.

Другий шлях більш повільний і підтверджується КІЕ. При рН 10,5 вклади двох шляхів приблизно рівні, і поява двох конкуруючих маршрутів безпосередньо спостерігається на циклічних вольтамперограмах [67].

#### 1.2.4.2 Гідрохінон та катехоли

PCET-схема для гідрохінонів та катехолів (1,4- і 1,2-дигідроксибензенів відповідно) є подібною до 4-заміщених фенолів, але більш обширна, оскільки існує два атоми водню, що можуть переноситись, і видалення обох призводить до утворення стабільних хінонів. Це означає, що замість чотирьох частинок стандартної «квадратної схеми» (схема 1.4) утворюється дев'ять частинок (схема 1.6).

Ця схема також є характерною і для флавінів. На практиці катіонні форми,  $\text{H}_2\text{Q}^{\bullet+}$ ,  $\text{H}_2\text{Q}^{2+}$  та  $\text{HQ}^+$  не беруть участі у типовій реалізації PCET, оскільки вони є надто високоенергетичними частинками за стандартних умов [57].

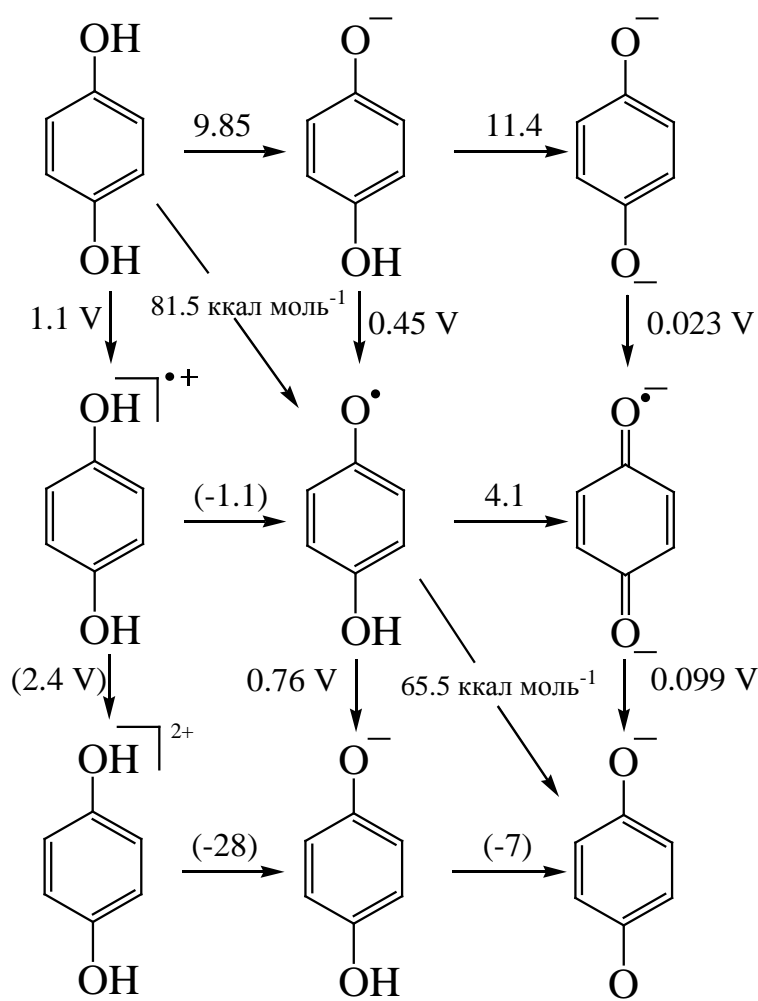


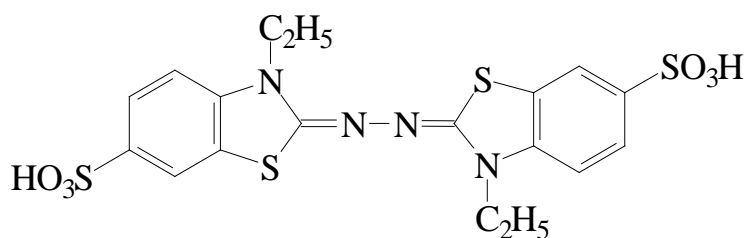
Схема 1.6 PCET для гідрохінону у воді. Числа над горизонтальними стрілками – значення  $\text{pK}_a$ ; цифри біля вертикальних стрілок – електрохімічні потенціали (порівняно з НВЕ) [57]

### 1.2.5 PCET у реакціях стабільних радикалів з фенолами

Дослідження механізмів PCET-реакцій досить часто виконують на модельних системах, що включають сполуки, які утворюють стабільні радикали, наприклад, 2,2'-6,6'-тетраметилперидин-1-ол (ТЕМРОН), N,N-ди-трет-бутилгідроксиамін, N-гідроксифталімід (NHPI), 2,2'-азинобіс-3-етил-бензотіазолін-6-сульфонова кислота (ABTS) та інші.

#### 1.2.5.1 2,2'-азинобіс-3-етил-бензотіазолін-6-сульфонова кислота

Одним із широко використовуваних радикалів для оцінки антиоксидантних властивостей речовин є катіон-радикал 2,2'-азинобіс-3-етил-бензотіазолін-6-сульфонової кислоти (ABTS) [72, 73, 74].

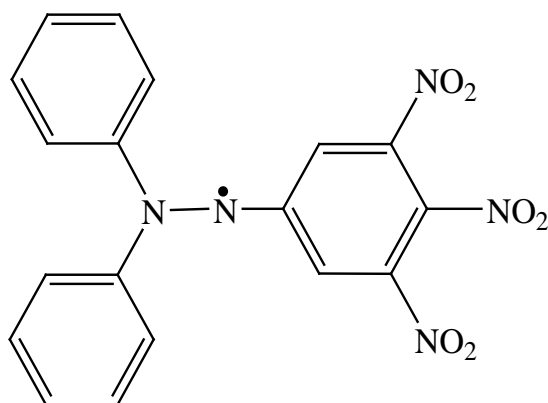


Цей катіон-радикал можна генерувати у ферментативних, хімічних та електрохімічних реакціях [75, 76, 77].

Особливістю катіон-радикала ABTS<sup>•+</sup> є те, що в реакціях з донорами Н-атома, у тому числі і фенольними антиоксидантами, він не відриває від них атом водню, а реагує за механізмом PCET, приймаючи на себе лише електрон з паралельним (узгодженим або послідовним) переносом протона на середовище. Швидкість і детальний механізм таких реакцій вивчаються [78] і суттєво залежать як від структури субстрату (антиоксиданту), так і від властивостей середовища [73].

#### 1.2.5.2 1,1-дифеніл-2-пікрилгідрозин

Як акцептори атомів водню чи електронів використовують радикал 1,1-дифеніл-2-пікрилгідрозин (<sup>•</sup>DPPH), який відновлюється до DPPH-H

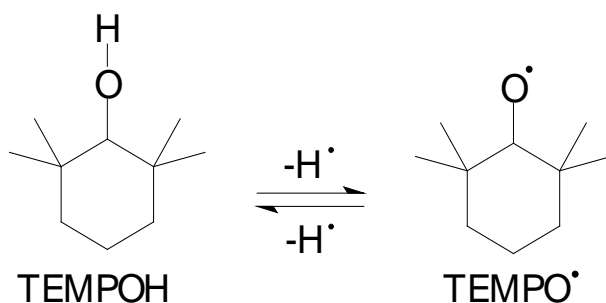


З результатів кінетичних та механістичних досліджень, які розглядаються як реакції відриву радикалом <sup>•</sup>DPPH атома водню від різних фенолів [79] та

флавоноїдів [57], впливає, що залежно від середовища, енергії дисоціації зв'язків первинних радикалів та електронного впливу замісників в ароматичному ядрі, можливі три різні шляхи: НАТ, ЕРТ та РТ-ЕТ. Наприклад, відрив атома водню від кверцетину  $\bullet\text{DPPH}$  відбувається за НАТ-механізмом у неполярних розчинниках. У полярних розчинниках переважає РТ-ЕТ-механізм.

#### 1.2.5.3 2,2'-6,6'-тетраметилпиперидин-1-ол

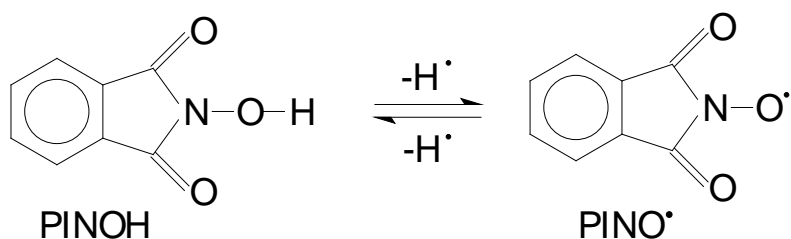
2,2'-6,6'-тетраметилпиперидин-1-окисловий радикал ( $\text{TEMPO}\bullet$ ) та його похідні широко застосовуються як спінові пастки, промотори окислення і вільно-радикальної полімеризації та «зелені» окислювальні каталізатори [80].



Ці радикали є комерційно доступними з високим ступенем очистки. Вони, здебільшого, стійкі до кисню, хоча гідроксиламін 2,2'-6,6'-тетраметилпиперидин-1-ол, TEMPOH і реагує з ним. TEMPO $\bullet$ /TEMPOH та відповідні окисно-відновні пари є особливо цінними для досліджень РСЕТ через низьку міцність зв'язків О-Н та їхню сильну термодинамічну схильність до узгоджених реакцій переносу Н-атома [63].

#### 1.2.5.4 N-гідроксифталімід

N-гідроксифталімід був широко вивчений в окисленні органічних сполук [81].



Каталітичне окислення в системах з PINO вважається ланцюговим процесом, ланкою якого є цикл з переносом Н-атома. PINO $\bullet$  виявився високоефективною заміною неорганічним каталізаторам у процесах автоокиснення.

Дані електрохімічних досліджень свідчать, що при окисленні PINOH до PINO $\bullet$  відбувається не просто втрата електрона, а і спряжене з ним видалення  $\text{H}^+$ . Про це свідчить суттєвий вплив домішок кислот і основ на окисно-відновний потенціали пари PINOH/PINO $\bullet$  [57, 82, 83, 84].

## РОЗДІЛ II

### АВТООКИСНЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ АНТИОКСИДАНТІВ У ВОДІ

#### 2.1 Механізми активації молекулярного кисню

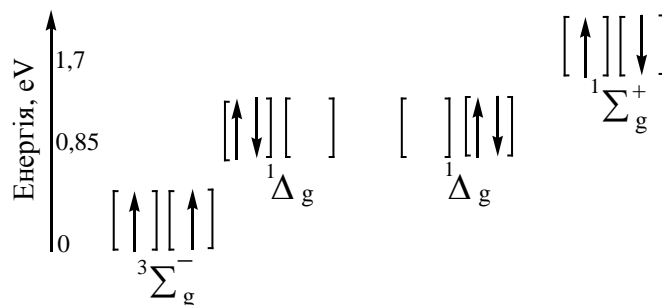
Основний електронний стан молекулярного кисню триплетний ( $^3\Sigma_g^-$ ), що пов'язано з незавершеністю будови його зовнішнього електронного  $\pi_g$ -шару [85, 86]. Тому особливістю  $O_2$  є його парамагнетизм, який обумовлює специфічні фізико-хімічні властивості молекули і суттєво впливає на її реакційну здатність. Зокрема, його хімічні реакції з діамагнітними речовинами заборонені правилами відбору за спіном [86, 87, 88, 89, 90]. Окиснення переважної більшості органічних молекул є термодинамічно сприятливим, але за невисоких температур воно протікає повільно, так як швидкість взаємодії з  $O_2$  визначається не тільки енергетичними параметрами, але і спіном реагентів. Через велику екзотермічність ці реакції не підкоряються правилу Белла-Еванса-Полянї-Семенова, і для їх реалізації потрібно подолання значного активаційного бар'єру або здійснення специфічного каталізу [89].

Таким чином для реакцій, в яких  $O_2$  безпосередньо взаємодіє з субстратом у синглетному стані, повинні існувати механізми подолання спінової заборони. Одними з добре вивчених є процеси активації  $O_2$  металами змінної валентності і фотоактивація. У водному середовищі при автоокисненні органічних речовин радикали можуть зароджуватися і за іншими механізмами. Як не парадоксально, це характерно для типових антиоксидантів: багатоатомних фенолів, аскорбінової кислоти, органічних тіолів і т. ін.

За наявними на сьогодні даними активація  $O_2$  може відбуватися за такими механізмами:

- 1) фотозбудження і теплова активація триплетної молекули;
- 2) послідовне відновлення за рахунок додавання одиночних електронів;
- 3) активація металами змінної валентності.

Хвильові функції відкритої  $(1\pi_g)^2$  оболонки для чотирьох станів  $O_2$  можна відобразити у вигляді простих конфігурацій:



Обмінна взаємодія двох  $\pi_g$ -електронів призводить до того, що триплетний стан характеризується найменшою енергією. Далі іде двічі вироджений синглетний стан  $^1\Delta_g$ , а синглет  $^1\Sigma_g^+$  володіє найбільшою енергією [88]. Якщо

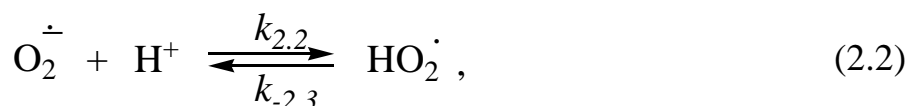
енергію стану  $^3\Sigma_g^-$  взяти за початок відліку, то енергія для синглетів  $^1\Delta_g$  і  $^1\Sigma_g^+$  становить 0.85 і 1.7 eV [91] відповідно, що добре узгоджується зі спектральними даними (0.98 і 1.63 eV) [86].

Синглетний стан  $^1\Sigma_g^+$  рідко проявляється в розчинах, оскільки швидко гаситься безвипромінювальним переходом у стан  $^1\Delta_g$  [86]. Останній має рекордно великий час життя в розрідженому газі (4600 с) [86, 92]. У воді цей час різко зменшується до 3 мкс, але залишається досить великим для здійснення хімічних реакцій [88]. Синглетний кисень ( $^1O_2$ ) проявляє більшу хімічну активність, ніж триплетний, оскільки його реакції з діаманітними молекулами не заборонені правилами відбору за спіном [93]. Так, константи швидкості реакції фенолу і *n*-метоксифенолу з синглетним киснем для неіонізованих форм дорівнюють  $2 \cdot 10^6$  і  $1 \cdot 10^7$   $M^{-1} \cdot s^{-1}$ , а для їхніх аніонів –  $2 \cdot 10^8$  і  $7 \cdot 10^8$   $M^{-1} \cdot s^{-1}$ , відповідно [94, 95]. Також швидко реагує з ним у воді й аскорбінова кислота ( $AscH_2$ ) за реакцією [96, 97]:



з константою швидкості  $3.2 \cdot 10^8$   $M^{-1} \cdot s^{-1}$  [97]. Крім  $AscH_2$  об'єктами для атаки  $^1O_2$  можуть бути подвійні зв'язки ліпідів [98], тіоли [99] та інші сполуки.

Передбачається [100, 101], що заборона за спіном для реакцій окиснення органічних субстратів може бути подолана послідовним додаванням одиночних електронів до  $O_2$ :

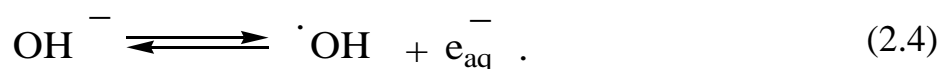


Реакція (2.1) вважається лімітуючою [102], а приєднання подальших електронів відбувається швидко. Згідно з [88] це тільки припущення, яке може виявитися і помилковим. Складність приєднання електрона до  $O_2$  суперечить експериментальним даним, оскільки цей процес екзотермічний (41.3 кДж/моль) [103]. Тому проблема полягає не в первинному відновленні  $O_2$ , а в подоланні спінової заборони на реакцію утворення діаманітного  $H_2O_2$  [100, 104].

Якщо електрон переноситься на  $O_2$  від діаманітної речовини, то перша стадія призводить до утворення іон-радикальної пари у триплетному стані. При перенесенні електрона спіни залишаються корельованими, тобто «спінова пам'ять» не втрачається. В цьому випадку генерація синглетного кисню відбувається за рахунок диполь-дипольного перенесення енергії в комплексах зіткнення [105]. Основою для пояснення механізму переходу  $^3\Sigma_g^- - ^1\Delta_g$  є

врахування конфігураційних і спин-орбітальних взаємодій при змішуванні триплетних і синглетних станів  $O_2$  зі станами переносу заряду [106]. У радикально-ланцюгових реакціях окислення радикали, що утворилися на стадії ініціації, йдуть в об'єм газової плазми полум'я або об'єм розчину і втрачають при цьому «спінову пам'ять» про своїх попередників, що дозволяє зняти спінову заборону [90, 107, 108]. Горіння органічних палив, отже, вимагає початкової активації у вигляді високотемпературної стадії запалювання (ініціювання) – отримання первинних радикалів [109]. Передбачається, що і зняття заборони за спіном в реакціях (2.1)–(2.3) відбувається за аналогією з радикально-ланцюговим окисненням.

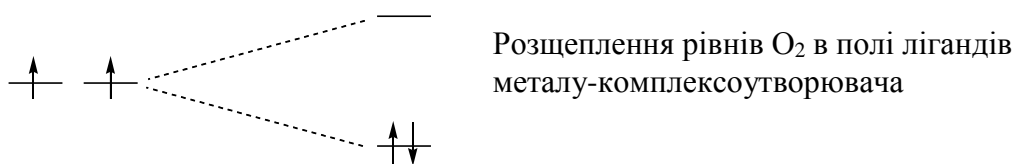
У ряді робіт [110, 111, 112] показана можливість утворення АФК у воді. Цей процес відбувається в результаті теплової активації розчиненого у воді  $O_2$  і являє собою послідовність реакцій його відновлення з утворенням  $^1\Delta_g$ ,  $O_2^{\cdot-}$  - радикалів,  $H_2O_2$ , гідроксильних радикалів ( $\cdot OH$ ). Передбачається, що відновлювальним агентом виступає гідратований або сольватований електрон ( $e_{aq}^-$ ). Наявність у водних розчинах  $e_{aq}^-$  впливає з гіпотези про електрон-радикальну дисоціацію води [113, 114]. Розрив зв'язку в молекулі  $H_2O$  в газовій фазі з утворенням іонів  $H^+$  і  $OH^-$  вимагає 15.95 eV [115], проте в конденсованій (рідкій) фазі він відбувається мимовільно, оскільки енергії гідратації іонів, що утворюються, достатньо для такого розриву. На цьому дисоціація може не закінчуватися. Спорідненість електрона до радикалу  $\cdot OH$  становить  $1.83 \pm 0.04$  eV [116], а енергія гідратації електрона і  $\cdot OH$  -радикала – (1.75 – 1.87) eV і 0.26 eV, відповідно [117]. Отже, в рідкій фазі реакція (2.4) також можлива, так як енергія гідратації частинок, що виникають, перевищує спорідненість електрона до гідроксильних радикалів [115].



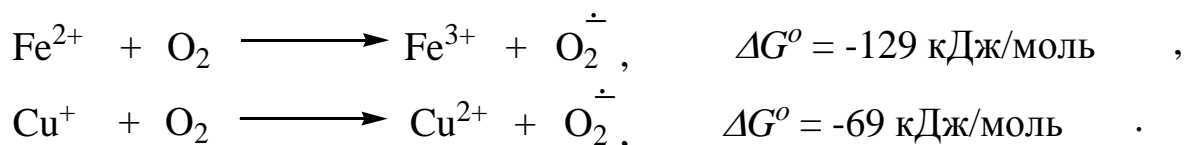
Оскільки у воді присутній  $O_2$ , в ній відбуваються вільнорадикальні процеси, внаслідок яких утворюються  $O_2^{\cdot-}$ ,  $HO_2^{\cdot-}$ ,  $H^{\cdot-}$ ,  $HO^{\cdot-}$ -радикали,  $e_{aq}^-$  [115]. У результаті обриву ланцюгів за участю цих радикалів у воді будуть утворюватися  $H_2O_2$  і  $O_2$ . У міру накопичення  $H_2O_2$  також піддається фотолізу з утворенням вільних радикалів [115].

Кисень може активуватися іонами металів змінної валентності, що утворюють з ним комплексні сполуки. В таких комплексах перекриваються зовнішні орбіталі атомів металу і кисню, що призводить до трансформації характеру реакцій окиснення органічних субстратів зі спин-заборонених у спин-дозволені [118]. Якщо  $O_2$  вступає в несиметричну взаємодію з іонами металу, то енергетичне виродження його розпушуючих орбіталей знімається, і термодинамічно вигідним може виявитися спаровування обох зовнішніх електронів на одній розпушуючій орбіталі [119]:

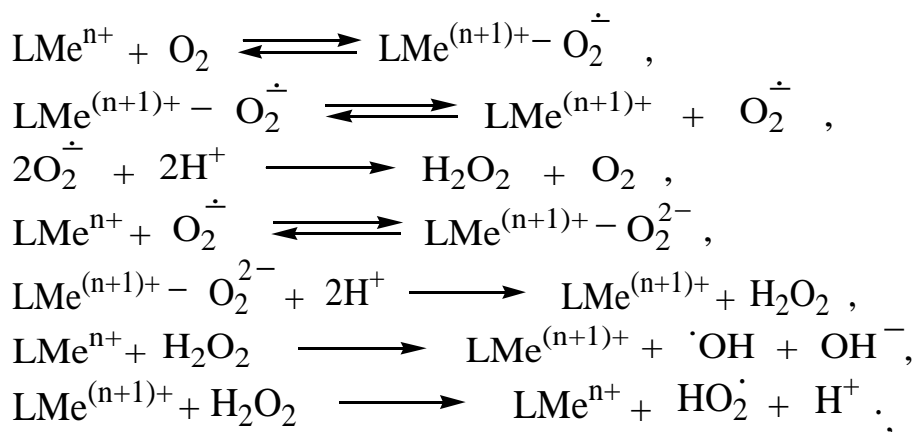




Дійсно, комплекси  $O_2$  з перехідними металами здебільшого діамагнітні, що вказує на зняття в них виродження  $\pi_g$ -розпушуючих орбіталей кисню [120]. До того ж реакція одноелектронного відновлення кисню навіть незакомплексованими іонами металів є термодинамічно вигідною [119]:



Механізм активації  $O_2$  іонами металів, що утворюють з ним неспецифічні комплекси, можна представити схемою [119, 121]:



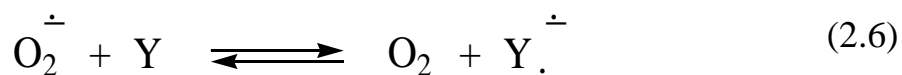
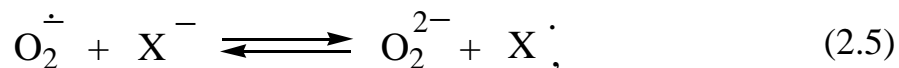
де  $Me^{n+} - Cu^+, Fe^{2+}, Co^{2+}, Mn^{2+}$ .

Схема 2.1 Механізм активації молекулярного кисню координаційними комплексами металів змінної валентності.

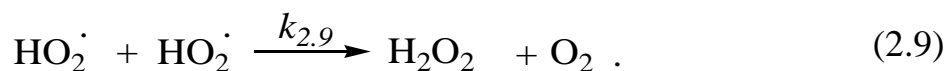
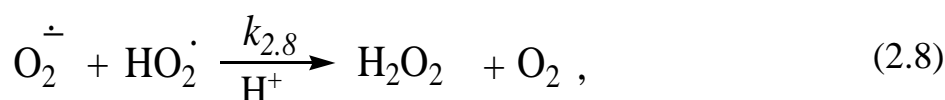
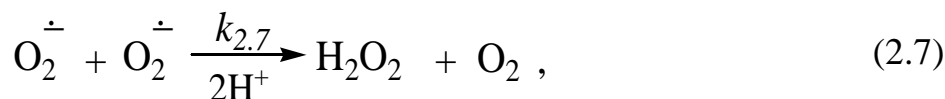
### 2.1.1 Активні форми кисню

Ключову роль у вільнорадикальних процесах, що протікають за участю  $O_2$ , грає супероксиданіон-радикал, який характеризується наявністю на виродженій орбіталі додаткового електрона, що володіє як іонними, так і радикальними властивостями. Для отримання стійкої конфігурації супероксиданіон-радикалу необхідне приєднання єдиного електрона, проте  $\dot{O}_2^-$  є «м'яким», багатофункціональним реагентом [122]. Його неспарений електрон делокалізований на обох атомах кисню, а реакційна здатність сильно залежить від властивостей середовища [5, 123]. Для  $\dot{O}_2^-$ -радикала характерні реакції протонування (2.2),

відновлення (2.5) і окислення (2.6) [122, 123, 124], а в апротонних середовищах також і нуклеофільного заміщення [5, 125].



Важливим є протонування  $\text{O}_2^{\cdot -}$ -радикала – реакція (2.2). Значення  $k_{2.2}$  дорівнює  $4.7 \cdot 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$  [126] і  $(5 \pm 1) \cdot 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$  [127],  $k_{2.2} - (7 \pm 2) \cdot 10^5 \text{ с}^{-1}$  [127], а  $pK_{a(\text{HO}_2^{\cdot})}$  складає  $4.9 \pm 0.1$  [128]. Швидкість дисмутації  $\text{O}_2^{\cdot -}$ -радикалів сильно залежить від рН середовища. При підвищенні рН швидкість реакції збільшується і досягає максимуму при рН 4.9, а далі знову знижується. Так, реакція (2.7) має дуже низьку константу швидкості  $0.3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$  [129], порівнюючи з (2.8) і (2.9).



Константи швидкості реакцій (2.8) і (2.9) дорівнюють  $1 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$  і  $8.6 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ , відповідно [129]. Це обумовлює порівняно високу стійкість  $\text{O}_2^{\cdot -}$ -радикалів у водних розчинах при рН > 7 (період напіврозпаду ~1 хв при рН 13) за відсутності додаткових компонентів у суміші [126]. Тому, згідно з [130], реакцією (2.7) можна знехтувати, і у водних розчинах  $\text{O}_2^{\cdot -}$  витрачається в реакції з  $\text{HO}_2^{\cdot}$  або домішками. Радикал  $\text{O}_2^{\cdot -}$  здатний функціонувати і в якості окисного ( $E^0_{\text{O}_2^{\cdot -}/2\text{H}^+/\text{H}_2\text{O}_2} = +0.89\text{V}$ ) [131], так і відновлювального агенту ( $E^0(\text{O}_2/\text{O}_2^{\cdot -}) = -0.33$ ) [131].

В апротонному середовищі  $\text{O}_2^{\cdot -}$ -радикал діє переважно як окислювач і здатний окислювати тіоли [132], ароматичні вуглеводні [133], похідні тиміну і тимідину [134], катехоли [135], нуклеотиди [136], гідразини і гідразони [137], аміни [138], похідні бензопіридину [139], нітроалкілбензени [140], багатоатомні феноли [141, 142]. У гідрофільному оточенні  $\text{O}_2^{\cdot -}$ -радикал частіше діє як відновлюючий агент [5, 143]. Він легко відновлює цілий ряд органічних сполук і металів змінної валентності (табл. 2.1).

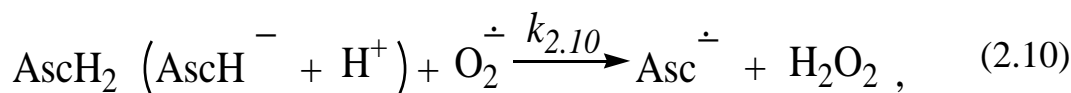
Таблиця 2.1

Константи швидкості реакції (2.6) переносу електрона від супероксиданіон-радикала на різні акцептори у водному середовищі

Сполука	pH	$k_{1.6} \cdot 10^{-9}, \text{M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$	Посилання
Тетранітрометан	5.6–6.2	1.9	[144]
Люмінол	7.7	1.4	[145]
Бензохінон	7	1.9; 0.98	[146]; [147]
Метилбензохінон		$0.76 \pm 0.01$ ; 0.8	[148]; [147]
2,3-диметилбензохінон		$0.45 \pm 0.01$	[148]
2,6-диметилбензохінон		$0.58 \pm 0.01$	
2,5-дихлорбензохінон		1.1	[147]
$\text{Cu}^{2+}$	7.8	2.7	[149]
$\text{Fe}^{3+}$	6.8	0.15	[150]

Реакцію взаємодії  $\text{O}_2^{\cdot -}$  з тетранітрометаном і люмінолом використовують для спектрофотометричного та хемілюмінесцентного (ХЛ) визначення його концентрації [151].

У водному середовищі  $\text{O}_2^{\cdot -}$ -радикал окислює адреналін [152], дезферіоксамін [153]. У апротонному середовищі його взаємодія з аскорбіновою кислотою протікає за механізмом депротонування [135], а у водних розчинах має місце окисно-відновний процес [154] (реакція (2.10)).

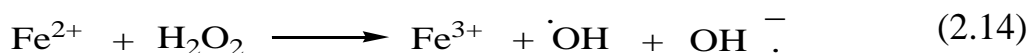
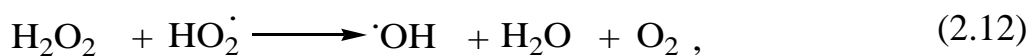


Значення  $k_{2.10}$  помітно різняться в літературних джерелах – від  $5.0 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$  [155] до  $8.0 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$  [156]. Реакції відновлення  $\text{O}_2^{\cdot -}$  до  $\text{O}_2^{2-}$  у водних розчинах досліджені недостатньо. Енергетично вигіднішим є поєднання двох процесів: протонування  $\text{O}_2^{\cdot -}$  (реакція 2.2) і відновлення  $\text{HO}_2^{\cdot}$ -радикала, що утворюється (реакція 2.3). Так знайдено [157], що константи швидкості реакції (2.11) дорівнюють  $(1.3\text{--}1.7) \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$  для гідрохінону, метилгідрохінону і 2,5-дихлоргідрохінону. У водних розчинах окислювальна здатність  $\text{HO}_2^{\cdot}$ -радикала вища, ніж  $\text{O}_2^{\cdot -}$  [5, 143].

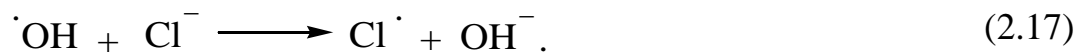
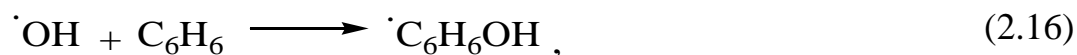
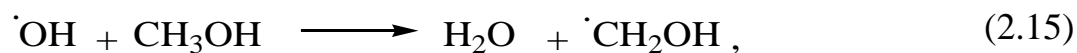
У будь-якій системі, де генеруються  $\text{O}_2^{\cdot -}$ -радикали, можна очікувати і утворення пероксиду водню, який є окисником помірної сили. Він здатний окислювати тіоли [158], спирти [159], феноли [160], аліфатичні кислоти [161]. Ініціювання пероксидом водню радикально-ланцюгового окислення кисневмісних органічних речовин може протікати або внаслідок його гомолізу ( $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{HO}^{\cdot}$ ), або шляхом безпосередньої взаємодії з органічними сполуками [162]. Енергія активації гомолізу в газовій фазі при 743–813 К, коли переважає

мономолекулярний розпад  $\text{H}_2\text{O}_2$ , знаходиться в діапазоні 170–210 кДж/моль [163]. При більш низькій температурі у водному середовищі вона становить 84 кДж/моль [164], що, мабуть, обумовлено утворенням комплексу  $\text{H}_2\text{O}_2$  з розчинником ( $\text{H}_2\text{O}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) [160]. При низьких концентраціях  $\text{H}_2\text{O}_2$  у воді процес його розкладання описується кінетичним рівнянням першого порядку [165], а при високих – другого [166].

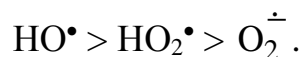
Пероксид водню є попередником гідроксильних радикалів, які можуть утворюватися в реакціях (2.12) і (2.13), однак константи їхньої швидкості невисокі –  $3.7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  [121] і  $0.35 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  [124] відповідно.  $\text{HO}^\bullet$ -радикали можуть також генеруватися в реакції Фентона [121], оскільки у воді завжди є домішкові кількості іонів металів змінної валентності (Fe, Cu). Наприклад, константи швидкості реакції (2.14) знаходяться в межах  $50 - 79 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  [167].



Гідроксильний радикал є дуже високо реакційно здатним – константи швидкості його реакцій з більшістю органічних молекул близькі до дифузійних [168, 169]. Для нього характерні реакції відриву H-атома (2.15), приєднання до ненасичених або ароматичних сполук (2.16) і перенесення електрона (2.17):



Таким чином, у насиченому  $\text{O}_2$  водному середовищі внаслідок протікання одноелектронних процесів можуть утворюватися  $\text{O}_2^{\bullet -}$ ,  $\text{HO}_2^\bullet$ ,  $\text{HO}^\bullet$ -радикали,  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Реакційна здатність наведених радикалів у процесах одноелектронного окислення зменшується в ряду:



Квазістаціонарні концентрації цих радикалів і  $\text{H}_2\text{O}_2$  у воді невеликі. Наприклад, у природних умовах швидкість генерування  $\text{HO}^\bullet$ -радикалів може досягати  $10^{-5} \text{ M}$  на добу, при цьому їхня стаціонарна концентрація становить приблизно  $10^{-14} \text{ M}$  [170]. Квазістаціонарні концентрації  $\text{O}_2^{\bullet -}$ -радикалів у водних середовищах вищі і становлять  $10^{-9} - 10^{-8} \text{ M}$  [171].

## 2.2 Кінетика і механізм автоокиснення багатоатомних фенолів

### 2.2.1 Кінетичні закономірності процесу автоокиснення

Спінова заборона на взаємодію  $^3\text{O}_2$  з діамангнітними органічними речовинами призводить до того, що швидкості окиснення останніх у рідкій фазі за відсутності ініціаторів або каталізаторів повинні бути дуже низькими за нормальних умов. Це зазвичай і спостерігається на практиці. Однак автоокиснення деяких органічних сполук протікає з високими швидкостями вже в м'яких умовах. До таких речовин належать, зокрема, багатоатомні феноли. В органічних розчинниках вони є пастками радикалів, і швидкість їх автоокиснення при низьких температурах незначна. У водних і особливо водно-лужних середовищах феноли можуть відновлювати кисень за механізмом PCET, перетворюючи останній на  $\text{O}_2^{\bullet-}$  - або  $\text{HO}_2^{\bullet}$ -радикал. Легкість одноелектронного відновлення  $\text{O}_2$  визначається як умовами проведення експерименту, так і будовою фенолу.

У водному середовищі за температури 373–413 К і тиску 30 атм. у розчинах з нейтральним рН без каталізаторів окиснюються навіть ті феноли, які є мало реакційноздатними щодо  $\text{O}_2$ . Швидкість автоокиснення фенолів зростає при переході від неполярних до полярних розчинників [172, 173, 174] і від нейтральних рН до лужних (див. рис. 2.1 і [175, 176, 177, 178]).

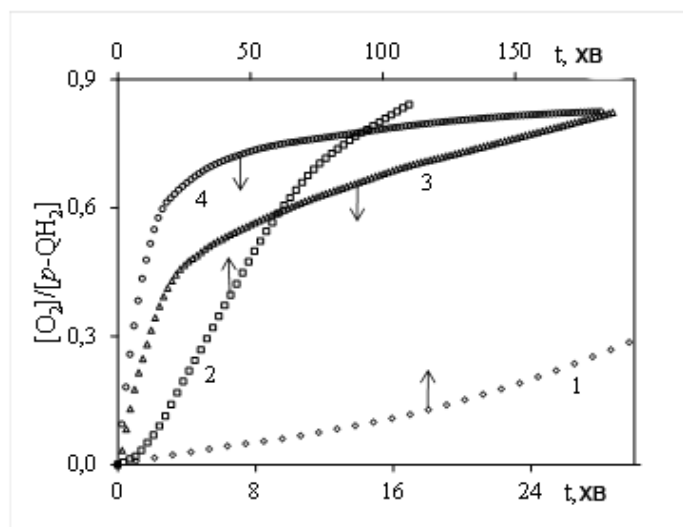


Рис. 2.1 Кінетика поглинання  $\text{O}_2$  при автоокисненні гідрокінону у водно-лужному середовищі при різних значеннях рН: 1. – 7.6 2. – 8.0; 3. – 9.2; 4. – 10.0.  $T = 303 \text{ K}$

за атмосферного тиску в межах рН 7.4–10.6 і за температури 303–308 К і відсутності спеціальних добавок ініціаторів піддаються окисненню киснево-повітряною сумішшю такі феноли: гідрокінон ( $p\text{-QH}_2$ ), хлоргідрокінон ( $\text{Cl-}p\text{-QH}_2$ ), 2,5-дихлоргідрокінон ( $2,5\text{Cl}_2\text{-}p\text{-QH}_2$ ), пірокатехін ( $o\text{-QH}_2$ ), 4-метилпірокатехін ( $4\text{CH}_3\text{-}o\text{-QH}_2$ ), пірогалол (PG), флороглюцин (PhG), 2,5-дигідроксibenзойна, 3,4-дигідроксibenзойна, 2,3-дигідроксibenзойна, галова (GK) і

Залежність швидкості окиснення фенолів від кислотності середовища в широкому інтервалі рН є не монотонною – вона мінімальна для нейтрального і слабкокислого середовищ (наприклад, для гідрокінону і пірокатехіну при рН 4 і 7) [175]. Це пояснюється іонізацією молекул фенолів, оскільки фенокисильні іони в таких реакціях є більш активними, ніж нейтральні молекули. Наприклад, іони фенолу і гідрокінону відповідно у 2 і 30 разів активніші щодо  $\text{O}_2$ , ніж їхні неіонізовані форми [175].

У водно-лужному середовищі

2,3,4-тригідроксибензойна кислоти (PGK). У цих умовах не окиснюються фенол (ArOH), Тролокс (ТхОН), *n*-гідроксибензойна кислота, резорцин і орцин. Тобто одноатомні та двоатомні феноли з *мета*-розташуванням гідроксильних груп досить стійкі до окиснення, навіть у сильнолужних водних середовищах. Отже, швидше окислюються ті феноли, які легко утворюють редокс-пару фенол-хінон. Причини, що обумовлюють високу окислюваність одних фенолів у водному середовищі і низьку реакційну здатність щодо кисню інших, до кінця незрозумілі.

У найпростішому випадку швидкість окислення багатоатомних фенолів ( $QH_m$ ) молекулярним киснем можна представити рівнянням:

$$V_{O_2} = k[QH_m]^{n_{QH_m}} \cdot [O_2]^{n_{O_2}}. \quad (2.18)$$

Кількість поглиненого в реакції  $O_2$  можна виміряти компенсаційним газоволюмометричним методом за його витрачанням з газової фази реактора при постійному парціальному тиску кисню [179]. У цьому випадку (2.18) набуде вигляду:

$$V_{O_2} = k_{eff}[QH_2]^{n_{QH_2}}; \text{ де } k_{eff} = k[O_2]^{n_{O_2}}.$$

Відображені на рис. 2.2а лінійні залежності вказують на можливість його застосування, а розраховані значення констант швидкості (табл. 2.2) характеризують реакційну здатність досліджених  $QH_m$  стосовно  $O_2$ .

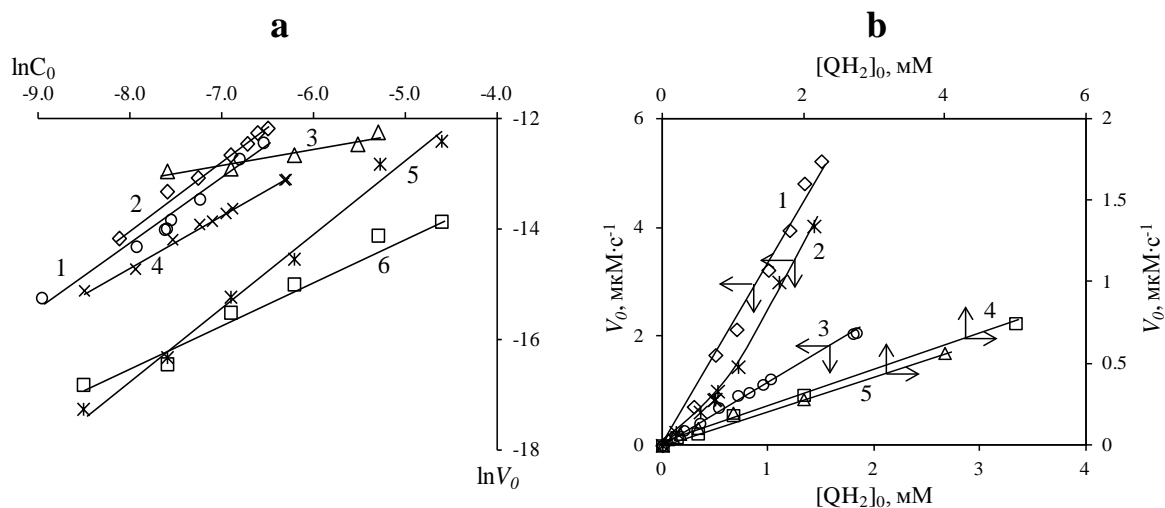


Рис. 2.2 Залежність початкової швидкості поглинання кисню від концентрації  $QH_n$ .

а) 1. – PG, pH 9.2; 2. – *p*-QH<sub>2</sub>, pH 9.2; 3. – Cl-*p*-QH<sub>2</sub>, pH 8.0;

4. – *o*-QH<sub>2</sub>, pH 9.9; 5. – *p*-Q, pH 9.2; 6. – *p*-QH<sub>2</sub>, pH 8.0.

б) 1. – *p*-QH<sub>2</sub>, pH 9.2; 2. – PG, pH 9.2; 3. – *o*-QH<sub>2</sub>, pH 9.9; 4. – *p*-QH<sub>2</sub>, pH 8.0; 5. – *o*-QH<sub>2</sub>, pH 9.2

Порядки реакції за субстратом для дослідженого ряду сполук близькі до одиниці, за винятком Cl-*p*-QH<sub>2</sub> і 2,5Cl<sub>2</sub>-*p*-QH<sub>2</sub> (табл. 2.2).

Про перший порядок реакції за  $p$ -QH<sub>2</sub> і  $o$ -QH<sub>2</sub> свідчать також лінійні залежності початкової швидкості поглинання кисню від концентрації двоатомних фенолів, однак для пірогалолола залежність нелінійна (рис. 2.2b). Перший порядок реакції за багатоатомним фенолом отримано і в роботі [177, 180].

Первинними продуктами окиснення багатоатомних фенолів є відповідні хінони (Q) і пероксид водню. Концентрації їх у системі змінюються симбатно (рис. 2.3). Кількість поглиненого кисню збігається з кількістю H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> лише на самому початку процесу. Потім концентрація H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> проходить через максимум і зменшується практично до нуля після вичерпання  $p$ -QH<sub>2</sub> в системі.

Сумарна кількість активного кисню приблизно у два рази перевищує концентрацію H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (рис. 2.3). Однак, у реакційному середовищі крім H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> присутній  $n$ -бензохінон ( $p$ -Q), який при використанні методу йодометричного титрування може виступати як акцептор електронів і реагувати з йодидом калію з виділенням I<sub>2</sub>.

Таблиця 2.2

Кінетичні параметри реакції автоокиснення QH<sub>m</sub> і  $n$ -бензохінону

Субстрат	Т, К	pH	$k_{eff} \cdot 10^3, c^{-1}$	$*k, M^{-1} \cdot c^{-1}$	$n_{QH_2}$
$p$ -QH <sub>2</sub>	303	8.0	$0.048 \pm 0.005$	$0.23 \pm 0.025$	$0.82 \pm 0.16$
		9.2	$13 \pm 2.8$	$59 \pm 13$	$1.2 \pm 0.14$
		9.9	$40 \pm 15$	$187 \pm 74$	$1.34 \pm 0.18$
$p$ -Q	308	9.2	$2.0 \pm 0.3$	$9.3 \pm 1.5$	$1.3 \pm 0.2$
$o$ -QH <sub>2</sub>	303	9.2	$0.022 \pm 0.002$	$0.104 \pm 0.008$	$0.7 \pm 0.1$
		9.9	$0.74 \pm 0.05$	$3.6 \pm 0.22$	$0.93 \pm 0.06$
		10.6	$1.11 \pm 0.11$	$5.1 \pm 0.5$	$1.0 \pm 0.12$
PG	303	9.2	$6.0 \pm 2.0$	$29 \pm 11$	$1.1 \pm 0.35$
		9.9	$8.6 \pm 2.7$	$41 \pm 13$	$1.2 \pm 0.2$
GK	303	9.2	$0.05 \pm 0.01$	$0.23 \pm 0.05$	$0.5 \pm 0.2$
		10.1	$0.9 \pm 0.25$	$4.0 \pm 1.2$	$0.9 \pm 0.3$
		10.6	$13 \pm 4$	$63 \pm 17$	$1.2 \pm 0.15$
Cl- $p$ -QH <sub>2</sub>	308	8.0	$0.022 \pm 0.0016$	$0.103 \pm 0.008$	$0.3 \pm 0.13$
2,5Cl <sub>2</sub> - $p$ -QH <sub>2</sub>	308	8.0	$0.076 \pm 0.006$	$0.36 \pm 0.03$	$0.35 \pm 0.12$

\* $k$  – розраховували як  $k_{eff} / [O_2]_0$ ;  $k_{eff}$  і  $n$  визначені за методом Вант-Гоффа; пояснення наведені у тексті

Для визначення кількості йоду, що утворився в реакції з  $p$ -Q, використовували селективний до H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> фермент каталазу. Виміряні у присутності ферменту концентрації реагенту, який взаємодіє з йодид-іоном, але не розкладається каталазою, наведені на рис. 2.3b (кр. 3). Ця крива у межах похибки експерименту добре збігається з кінетичною кривою накопичення  $p$ -Q (рис. 2.3b, кр. 1). Таким чином, можна зробити висновок, що крива 4 на рис. 2.3a відображає зміну сумарної концентрації H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> і  $p$ -Q. Цей висновок підтверджується даними, отриманими під час аналізу штучних сумішей  $p$ -Q і H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (див. табл. 2.3). Інші молекулярні інтермедіати не виявлені.

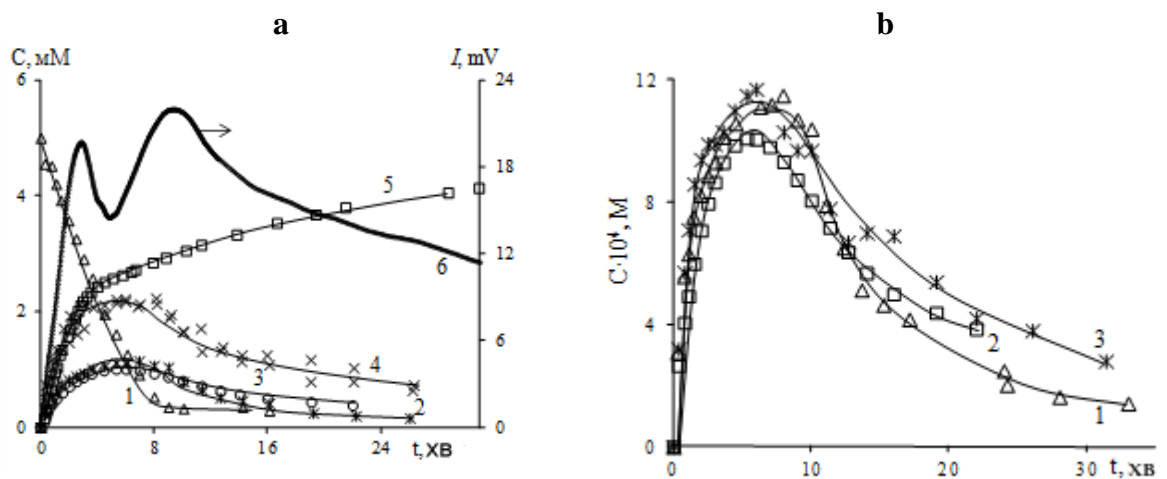


Рис. 2.3 Кінетичні криві хемілюмінесценції та витрачання реагентів, накопичення продуктів та інтермедіатів при автоокисненні гідрохінону ( $C_0 = 5.0$  mM). pH 9.2;  $T = 308$  K:

- а) 1. –  $p$ -QH<sub>2</sub>; 2. –  $p$ -Q; 3. – H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 4. – інтермедіат, що реагує з йодид-іоном; 5. – O<sub>2</sub>; 6. – ХЛ-світіння;  
 б) 1. –  $p$ -Q (визначений спектрофотометрично); 2. – H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 3. – активний щодо йодид-іонів реагент, що залишився в реакційній суміші після обробки її каталазою

Таблиця 2.3

Кількості (г·екв/л) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> і  $p$ -Q, визначені індивідуально і в їх суміші в дослідях з каталазою\*

Задано		Знайдено: $(C_{H_2O_2} + C_{p-Q}) \cdot 10^3$	
$C_{H_2O_2} \cdot 10^3$	$C_{p-Q} \cdot 10^3$	у вихідній суміші	з каталазою
$1.28 \pm 0.03$	$0.91 \pm 0.06$	$2.10 \pm 0.05$	$0.9 \pm 0.05$

\* концентрації речовин визначили методом зворотного йодометричного титрування

Окиснення фенолів, зокрема, галоїдної кислоти, гідрохінону, резорцину і пірогалолу в лужному середовищі у присутності H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, а також адреналіну і 6-гідроксипаміну киснем, одноелектронна активація менадіону, ферментативне окиснення семіхінонів супроводжуються хемілюмінесценцією [181, 182, 183, 184, 185]. Кінетичні криві хемілюмінесценції (ХЛ) в реакції неініційованого окиснення  $p$ -QH<sub>2</sub>, Cl- $p$ -QH<sub>2</sub>, 2,5-Cl<sub>2</sub>- $p$ -QH<sub>2</sub>,  $o$ -QH<sub>2</sub>, 4CH<sub>3</sub>- $o$ -QH<sub>2</sub>, PG і GK мають складний вигляд (рис. 2.4).

Інтенсивність ХЛ-світіння приблизно така ж, як при окисненні кумолу зі швидкістю ініціювання  $1 \cdot 10^{-6}$  M·с<sup>-1</sup> за відсутності активаторів ХЛ [186]. Вона особливо висока при автоокисненні PG. Мабуть, з цієї причини ХЛ, яка виникає при його окисненні у водно-лужних розчинах, вивчена набагато краще, ніж при окисненні інших QH<sub>m</sub>. ХЛ-світіння відсутнє при автоокисненні фенолу,  $n$ -гідроксibenзойної кислоти, резорцину, орцину, ТхОН і флороглюцину, тобто фенолів, продуктами окиснення яких не можуть бути хінони.



Характер кінетичних ХЛ-кривих залежить від будови фенолу і складу буферної системи. При окисненні  $p$ -QH<sub>2</sub>,  $o$ -QH<sub>2</sub> і GK в карбонатному буфері спостерігається два максимуми на кінетичних кривих ХЛ. Для 4-CH<sub>3</sub>- $o$ -QH<sub>2</sub>, PG, 2,3,4-тригідроксисбензойної, 2,3-дигідроксисбензойної і 3,4-дигідроксисбензойної кислот у цих умовах фіксується один екстремум (рис. 2.4).

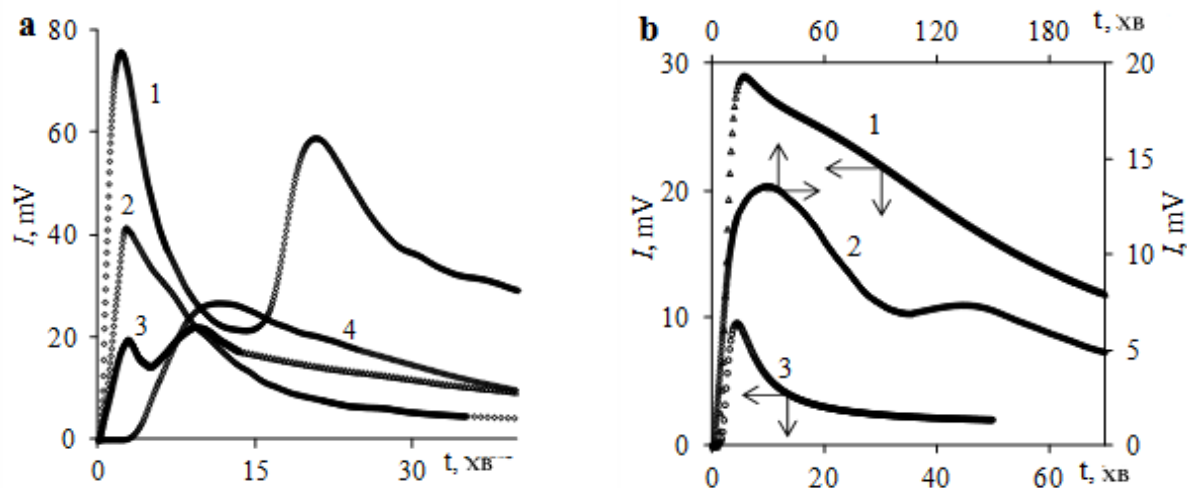


Рис. 2.4 Кінетичні криві хемілюмінесценції при автоокисненні QH<sub>n</sub> у водно-лужному середовищі. T=308 К. Концентрація PG і  $o$ -QH<sub>2</sub> дорівнює 75 мкМ і 3.5 мМ відповідно, всіх інших QH<sub>m</sub>—5.0 мМ:

а) рН 9.2: 1. — GK; 2. — PG; 3. —  $p$ -QH<sub>2</sub>; 4. — 4CH<sub>3</sub>- $o$ -QH<sub>2</sub>.

б) рН 8.0: 1. — Cl- $p$ -QH<sub>2</sub>; 2. —  $o$ -QH<sub>2</sub> (рН 9.2); 3. — 2,5Cl<sub>2</sub>- $p$ -QH<sub>2</sub>.

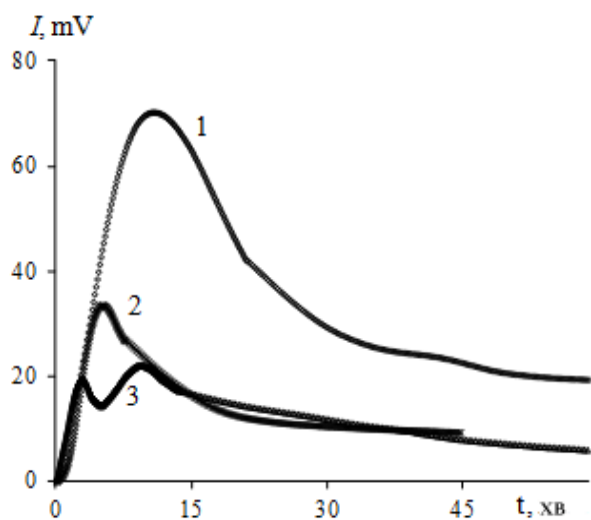


Рис. 2.5 Кінетичні криві ХЛ при автоокисненні  $p$ -QH<sub>2</sub>. C<sub>0</sub>=5.0 мМ, рН (9.15 ± 0.15), T=308 К. Буферна система:

1. — фосфатна; 2. — боратна;  
3. — карбонатна

Для деяких QH<sub>m</sub>, наприклад PG, вид кінетичних кривих ХЛ у процесі автоокиснення не залежить від складу буферного розчину. Однак при окисненні  $p$ -QH<sub>2</sub> в карбонатному буфері (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-NaHCO<sub>3</sub>) на кривих ХЛ є два піки, тоді як у фосфатній (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) і боратній (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>-NaOH) буферних системах, за тих же значень рН — один пік (рис. 2.5). Форма кривої ХЛ залежить від рН. Зі збільшенням початкової концентрації QH<sub>m</sub> інтенсивність ХЛ зростає. Для всіх досліджених фенолів залежності  $I_{max}$  від [QH<sub>m</sub>]<sub>0</sub> лінійні або мають вигляд кривих з насиченням.

Використання даних хемілюмінесцентних досліджень для вивчення кінетики реакцій засновано на

існуванні пропорційності між інтенсивністю світіння ( $I$ ) і швидкістю реакції ( $V$ ), що супроводжується ХЛ [26]:

$$I = \eta_1 \cdot \eta_2 \cdot V,$$

де  $\eta_1$  і  $\eta_2$  – квантові виходи збудження і люмінесценції відповідно.

Інтенсивність ХЛ-світіння у процесах рідиннофазного окиснення вуглеводнів, пропорційна швидкості рекомбінації пероксильних радикалів [26], тобто:

$$I = \eta \cdot k_t \cdot [\text{RO}_2^\cdot]^2,$$

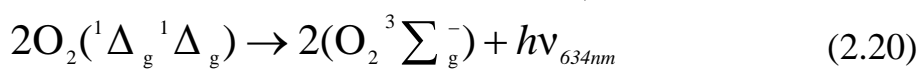
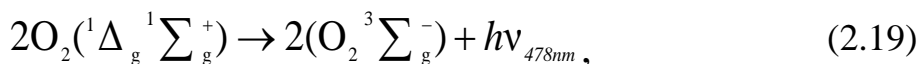
де  $\eta$  – величина квантового виходу ХЛ ( $\eta = \eta_1 \cdot \eta_2$ ).

Остання ж в умовах квазістаціонарного режиму завжди дорівнює швидкості зародження радикалів [26]. Якщо відштовхуватися від цього, то вид кінетичних кривих ХЛ при автоокисненні  $\text{QH}_m$  у воді (рис. 2.4) може свідчити на користь того, що зміна в часі інтенсивності ХЛ описує фактично зміну квазістаціонарних концентрацій радикалів, взаємодія яких призводить до утворення емітера хемілюмінесценції.

### 2.2.2 Механізм хемілюмінесцентного світіння

Пропонується два можливих механізми виникнення ХЛ при окисненні  $\text{QH}_m$ . Ймовірними емітерами можуть бути димолярні комплекси синглетного кисню або відповідні хінони, які є первинними продуктами окиснення  $\text{QH}_n$ .

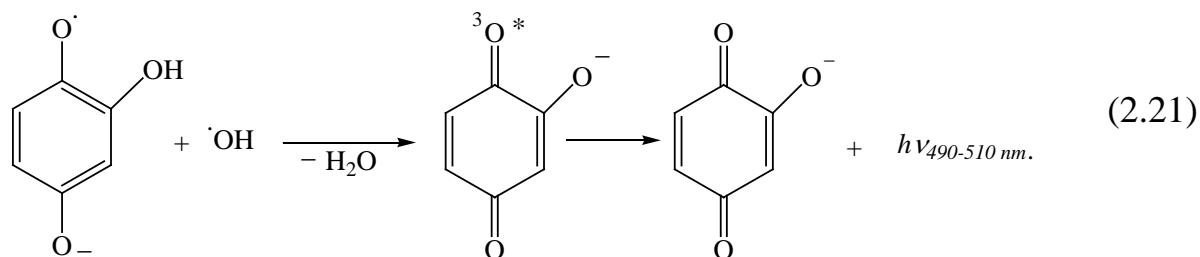
Однією з добре вивчених реакцій, яка супроводжується ХЛ, є окиснення пірогалолу у водно-лужному середовищі. У цьому процесі утворюється два емітери, максимуми смуг випромінювання яких складають 480 і 640 нм [181]. Ці смуги були віднесені до переходів димолярних комплексів синглетного кисню [181, 185]:



ХЛ-світіння здебільшого обумовлюється реакцією (2.20), оскільки форма  $^1\Sigma_g^+$  ефективно гаситься водою в  $^1\Delta_g$ . Припущення, що емітерами ХЛ-світіння в реакціях автоокиснення фенолів виступають димолярні комплекси синглетного кисню, поки не отримало прямих експериментальних доказів. До того ж, деякі експерименти щодо впливу СОД на автоокиснення пірогалолу ставлять під сумнів участь  $^1\text{O}_2$  в цій реакції [187].

Відомо, що окиснення гідрохінонів і семихінонов призводить до генерації Q в електроннозбудженому стані [177], наприклад, за реакцією (2.21).

Фотоемісія, що виникає при переході хінону зі збудженого стану в основний, чутлива до  $O_2$ , що вказує на триплетну природу збудженого стану, і протікає з квантовим виходом  $7.1 \cdot 10^{-8}$  [188]. Отже, хінони також можуть бути емітерами ХЛ при окисненні  $QH_m$  [186, 189].



У процесі автоокиснення  $QH_m$  у воді генерування  $^1O_2$  може здійснюватися за реакціями (2.7)–(2.9) [109, 181]. Реакція (2.7) не робить істотного внеску в сумарну швидкість окиснення  $QH_m$ , оскільки значення  $k_{2.7}$  дуже низьке (див. підрозділ 2.1.1). Використовуючи значення  $k_{2.7}$ ,  $k_{2.8}$ ,  $k_{2.9}$ , а також константу дисоціації для реакції (2.2), і беручи  $[O_2^{\cdot-}]_{\text{стац}} \approx 1 \cdot 10^{-8}$  М (див. підрозділ 2.1.1), можна оцінити, яка із зазначених реакцій буде давати основний внесок у генерування  $^1O_2$  у процесі окиснення  $QH_m$ . Так, наприклад, при рН 9.2 для реакцій (2.7), (2.8) і (2.9) значення швидкостей становлять відповідно  $3 \cdot 10^{-17}$ ,  $1 \cdot 10^{-13}$  і  $2 \cdot 10^{-19}$  М·с<sup>-1</sup>. Отже, у вивчених межах рН  $^1O_2$  повинен генеруватися в реакції (2.8). Якщо ХЛ при автоокисненні  $QH_m$  обумовлена реакціями (2.19) і (2.20), то інтенсивність світіння буде пропорційна швидкості утворення димолярних комплексів синглетного кисню. Однак, оскільки швидкість генерування  $^1O_2$  дуже низька ( $1 \cdot 10^{-13}$  М·с<sup>-1</sup>), а його активність щодо  $QH_m$  висока [94, 95], то навіть при значеннях констант швидкості реакції утворення комплексів  ${}^1\Delta_g {}^1\Sigma_g^+$  і  ${}^1\Delta_g {}^1\Delta_g$  близьких до  $10^{10}$  М<sup>-1</sup>·с<sup>-1</sup> і високому квантовому виході збудження, квазістаціонарні концентрації останніх будуть мізерно низькі.

Навпаки, набуваючи значення константи швидкості для реакції (2.22) рівним  $1 \cdot 10^8$  М<sup>-1</sup>·с<sup>-1</sup> [190] і враховуючи, що  $[Q^{\cdot-}]_{\text{стац}}$  при автоокисненні  $QH_m$  у воді приблизно на два порядки вище, ніж  $[O_2^{\cdot-}]_{\text{стац}}$  [171, 191], для швидкості реакції утворення хінону у збудженому стані отримаємо  $1 \cdot 10^{-6}$  М·с<sup>-1</sup> (без урахування квантового виходу збудження). Це на сім порядків вище швидкості генерування  $^1O_2$ . Тобто навіть якщо значення константи швидкості для реакції (2.22) на 3–4 порядки завищено, і квантовий вихід ХЛ для реакцій (2.19) і (2.20) буде вищим, ніж для реакції (2.22), хемілюмінесценція у процесі окиснення  $QH_m$  у водно-лужному середовищі, що обумовлена релаксацією димолярних комплексів синглетного кисню, є подією малої ймовірності. Найбільш ймовірними емітерами ХЛ-світіння є сполуки хіноїдної природи [178].

При рН 9.2 і 9.9 водно-лужний розчин PhG поглинає кисень, однак ХЛ немає. Це пояснюється тим, що при окисненні PhG не утворюється хінон, на

відміну від інших вивчених  $QH_m$ . Тобто ХЛ повинна спостерігатися при окисненні тих  $QH_m$ , які легко утворюють редокс-пару фенол-хінон.

Якщо емітерами ХЛ є димолярні комплекси синглетного кисню, то інтенсивність світіння буде пропорційна їхній квазістаціонарній концентрації, а остання повинна бути пропорційна реакційній здатності  $QH_m$  в реакції автоокиснення і, отже, зазначені вище параметри повинні мати тісний кореляційний зв'язок. Однак співвідношення початкових швидкостей автоокиснення  $QH_m$ , отриманих газоволюмометричним методом, не корелює зі співвідношенням інтенсивностей у максимумах ХЛ-світіння. Наприклад, для пар,

$V_{\text{почат}}^{PG} / V_{\text{почат}}^{p-QH_2}$ ,  $V_{\text{почат}}^{PG} / V_{\text{почат}}^{o-QH_2}$  і  $V_{\text{почат}}^{p-QH_2} / V_{\text{почат}}^{o-QH_2}$  отримаємо різницю 2.3, 9.6, 4.1, а для  $I_{\text{max}}^{PG} / I_{\text{max}}^{p-QH_2}$ ,  $I_{\text{max}}^{PG} / I_{\text{max}}^{o-QH_2}$  і  $I_{\text{max}}^{p-QH_2} / I_{\text{max}}^{o-QH_2}$  різниця становить 35, 37, 1.1,

відповідно. Отримані дані можна пояснити, якщо припустити, що під час окиснення вказаних субстратів утворюються емітери з різними квантовими виходами (наприклад, хінони різної будови).

Для з'ясування природи емітера ХЛ-світіння при автоокисненні  $p-QH_2$ ,  $o-QH_2$ , PG, галової і 2,3,4-тригідроксибензойної кислот у водно-лужному середовищі проведено аналіз спектрального складу. Смуги випромінювання емітерів ХЛ, що утворюються при автоокисненні  $QH_m$  у водно-лужному середовищі, отримані за допомогою набору зі 100 стандартних скляних світлофільтрів (СФ). Перелік даних СФ представлений у табл. 2.4. При варіюванні різних світлофільтрів (СФ) спостерігається зміна співвідношення інтенсивностей у максимумах кінетичних кривих ХЛ (рис. 2.6), тобто у процесі окислення  $p-QH_2$  в карбонатному буфері утворюються два різних емітера.

Для спектрального аналізу використовувалися СФ, спектр яких є простим, тобто вони мають одну смугу поглинання або однозначно відсікають певну область ближнього УФ або видимого спектрального діапазону (рис. 2.7).

Інтенсивність ХЛ-світіння, що пройшов через світлофільтр, розрахована в точці максимуму кінетичної кривої ХЛ за формулою:

$$I_{\text{відн}}(\%) = \frac{I^{C\Phi} \cdot 100}{I_{\text{вихідн}}} \cdot \frac{100}{T_{\text{max}}^{C\Phi}},$$

1

де  $I_{\text{відн}}(\%)$  – значення інтенсивності сигналу в максимумі ХЛ-кривої, що пройшов крізь цей світлофільтр, щодо максимально можливого за його відсутності;  $I^{C\Phi}(\text{mV})$  – значення максимальної інтенсивності сигналу ХЛ, що пройшов крізь цей світлофільтр;  $I_{\text{вихідн}}(\text{mV})$  – значення максимальної інтенсивності ХЛ за відсутності СФ;  $T_{\text{max}}^{C\Phi}(\%)$  – значення середнього максимального пропускання СФ. Додатковий множник  $100/T_{\text{max}}^{C\Phi}$  є поправочним, що враховує ступінь пропускання СФ.

Таблиця 2.4

Перелік світлофільтрів, що застосовувався  
для аналізу спектрального складу ХЛ-світіння

QH <sub>2</sub>	*Буфер, рН	Назва СФ												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
p-QH <sub>2</sub>	КБС, 9.2	ФС-1	ФС-6	СС-8	СЗС-21	СЗС-22	СЗС-23	ЖС-18	ОС-14	КС-10	КС-11	КС-15	КС-19	–
	ФБС, 8.0	ФС-6	ПС-11	СС-4	ЖС-12	ЖС-16	ЖС-18	ЖС-20	ОС-13	ОС-14	КС-10	КС-11	КС-17	КС-18
PG	КБС, 9.2	УФС-1	ФС-6	СС-4	СС-5	СЗС-22	ЖС-16	ЖС-18	ОС-13	КС-10	КС-14	–		
GK	КБС, 9.2	ФС-6	СС-4	ОС-13	КС-10	КС-15	КС-19	–						
o-QH <sub>2</sub>	КБС, 9.9	ФС-6	СС-8	СС-15	СЗС-9	СЗС-8	СЗС-22	СЗС-21	СЗС-23	КС-10	КС-11	КС-17	КС-19	–

\*Карбонатна і фосфатна буферні системи – КБС і ФБС

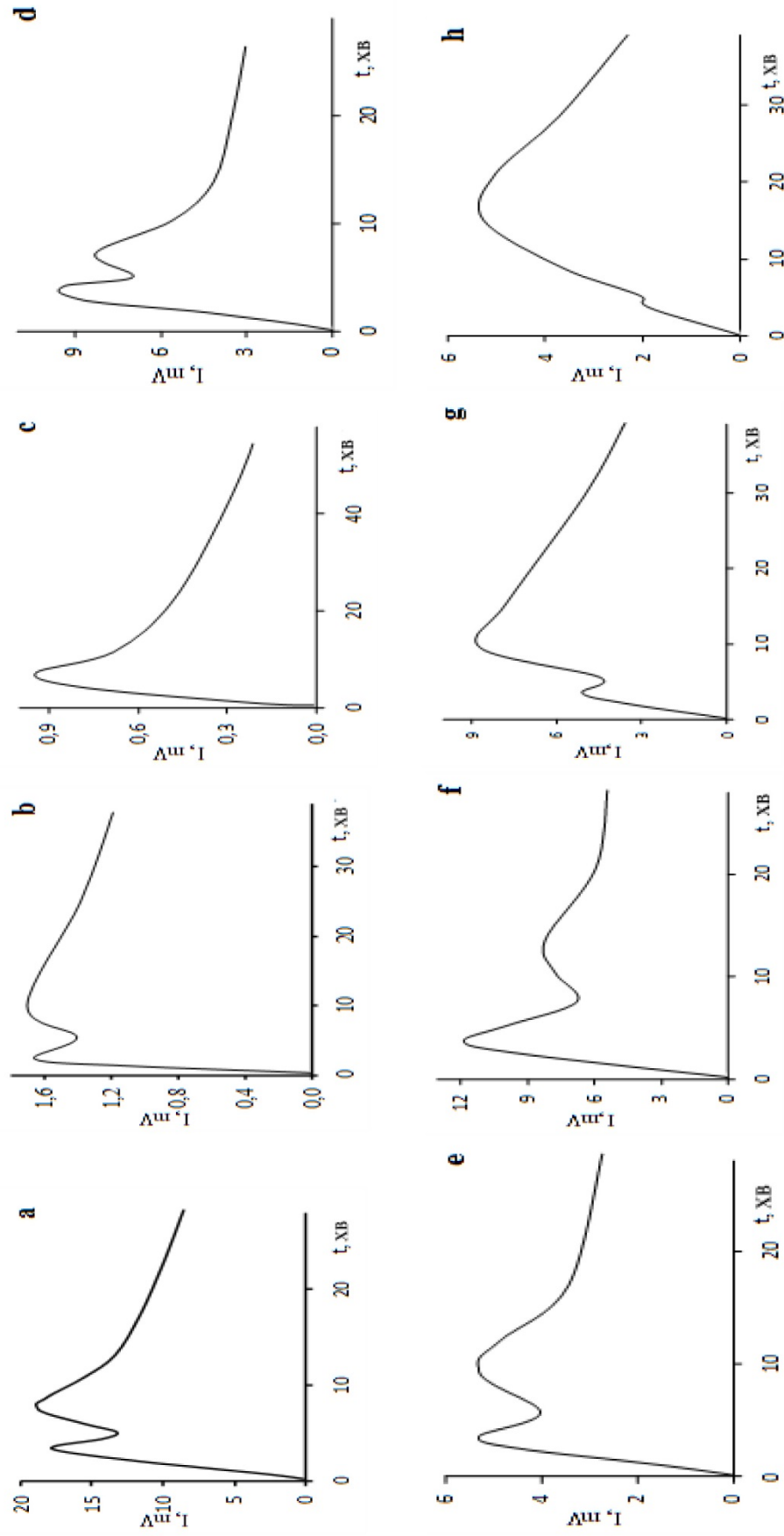


Рис. 2.6 Кінетичні криві ХЛ при автоокисненні  $p\text{-QH}_2$  ( $C_0=5.0 \text{ mM}$ ), отримані з використанням світлофільтрів,  $\text{pH } 9.2$ ,  $T = 308 \text{ K}$ : а) без світлофільтрів; б) ФС-1; в) ЖЗС-18; г) КС-10; д) КС-15

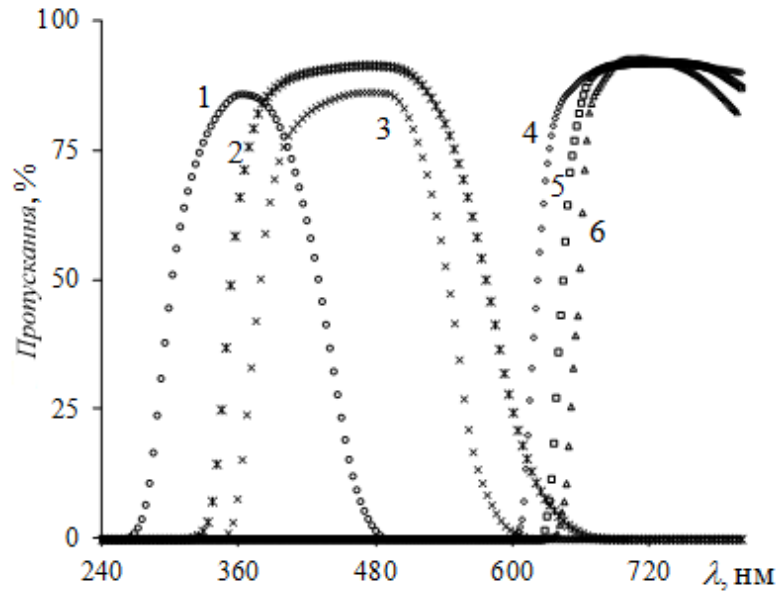


Рис. 2.7 Спектри поглинання стандартних скляних СФ: 1. – ФС-6; 2. – СЗС-21; 3. – СЗС-22; 4. – КС-11; 5. – КС-14; 6. – КС-15

На підставі отриманих з використанням різних СФ даних можна оцінити спектральні характеристики ХЛ-світіння у процесі автоокиснення  $QH_m$ .

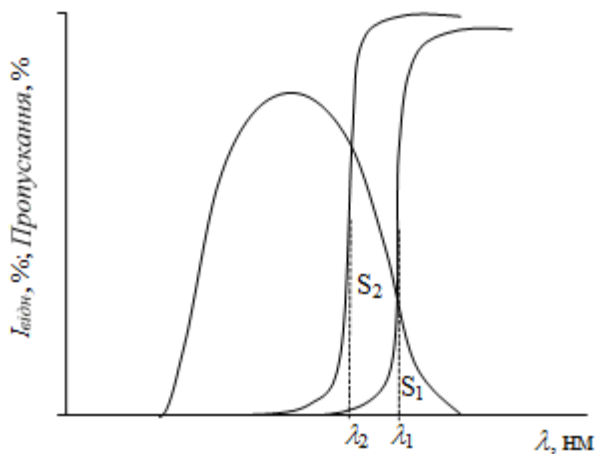


Рис. 2.8 Зображення процедури послідовного відсікання смуги емітера ХЛ за допомогою скляних світлофільтрів

Аналіз смуг випромінювання емітерів ХЛ проводили, зважаючи на таке: світлофільтр відсікає частину спектральної смуги емітера ХЛ, як показано на рис. 2.8, і зменшує інтегральну інтенсивність ХЛ-світіння. Тоді  $I_{відн1}$  і  $I_{відн2}$  пропорційні величинам площ  $S_1$  і  $S_2$ , що відсікаються. Вони характеризують ту частину смуги емітера, яку пропускають ці СФ (рис. 2.8). Отже, в якості критерію  $\lambda_{max}$  смуги емітера можна використовувати значення  $I_{відн} = 50\%$ , оскільки СФ з відповідними цій умові спектральними характеристиками пропускає половину ХЛ-

світіння від медіани смуги випромінювання емітера в сторону довгохвильової або короткохвильової області спектра. Отже, смуги випромінювання емітерів можна змодельовати залежністю  $I_{відн}(\%)$  від значення  $\lambda_{max}/2$  для даного СФ [186]. Величину  $\lambda_{max}$  смуги емітера ХЛ, що утворюється у процесі автоокиснення  $QH_n$  у водному середовищі, можна знайти за точкою перетину двох прямих, отриманих із лінійних залежностей  $I_{відн}(\%)$  від  $\lambda_{max}/2$ , побудованих у межах значень  $I_{відн}$  від 0 до 50 %.

Аналізуючи спектри ХЛ-світіння для  $p\text{-QH}_2$ , можна зазначити, що максимумами смуг випромінювання емітерів в межах похибки збігаються: в карбонатному за рН 9.2 –  $550 \pm 8$  нм (1-й пік) і фосфатному за рН 8.0 –  $547 \pm 5$  нм (див. рис. 2.9). Це дає підстави говорити про те, що емітери ХЛ-світіння, які утворюються у фосфатному буфері і в області першого екстремуму кінетичної кривої ХЛ в карбонатному буфері, є ідентичними. Розраховані енергії збуджених станів емітерів склали  $218 \pm 4$  кДж/моль у карбонатному і  $219 \pm 3$  кДж/моль у фосфатному буферах. Оскільки енергія триплет-синглетного переходу для  $p\text{-Q}$  дорівнює 221 кДж/моль [192], то емітером, що утворюється у дослідженій системі, найімовірніше, є  $n$ -бензохінон.

В області другого максимуму кінетичної кривої ХЛ при окисненні  $p\text{-QH}_2$  в карбонатному буфері за рН 9.2 випромінює емітер з  $\lambda_{\text{max}} = 593 \pm 5$  нм (рис. 2.9). Це не збігається з максимумами смуг випромінювання димолярних комплексів синглетного кисню (реакції (2.19) і (2.20)). Можна припустити, що цим емітером виступає димолярний комплекс діоксиду вуглецю (II), який утворюється в реакціях рекомбінації карбонатних іон-радикалів. Останні зі свого боку генеруються при взаємодії карбонат- і гідрокарбонат-іонів з кисеньцентрованими радикалами [193]. Однак за даними [194], розрахована енергія розпаду цього комплексу складає 551.8 кДж/моль, що може викликати емісію з максимумом довжини хвилі 220 нм.

Довжини хвиль у максимумах смуг випромінювання, отримані для емітерів, що утворюються при автоокисненні  $p\text{-QH}_2$ ,  $o\text{-QH}_2$ , PG, GK і PGK, різні (рис. 2.9). І цей факт ставить під сумнів припущення про виникнення ХЛ внаслідок релаксації димолярних комплексів синглетного кисню.

Зважаючи на зазначене, можна припустити, що ймовірними емітерами ХЛ у реакції автоокиснення  $\text{QH}_m$  у водно-лужному середовищі є молекули відповідних хінонів, що утворюються в електронно-збудженому стані.

Для виникнення ХЛ необхідне виконання двох основних умов. По-перше, перетворення вихідних речовин у кінцеві продукти має відбуватися через один або кілька елементарних актів, які супроводжуються значним виділенням енергії. У радикально-ланцюгових реакціях окислення органічних речовин у рідкій фазі такими елементарними актами є реакції обриву ланцюга. Вірогідно, і при автоокисненні багатоатомних фенолів у воді найбільш імовірним джерелом ХЛ будуть реакції між радикалами. По-друге, для появи ХЛ сполука, яка утворюється в актах рекомбінації радикалів у збудженому стані, переходить (релаксує) в основний стан з виділенням енергії у вигляді квантів світла. Квантовий вихід такого переходу повинен бути достатнім для можливості реєстрації його за допомогою наявної апаратури. Сполуками, які задовольняють цій умові, є найчастіше речовини з карбонильною групою, в тому числі хінони [26, 177, 186].



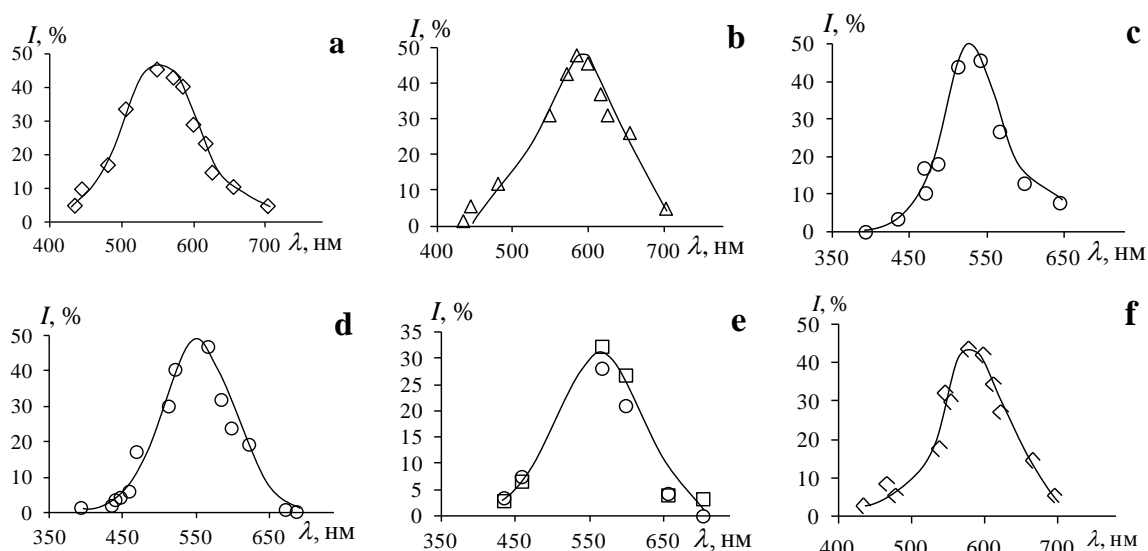
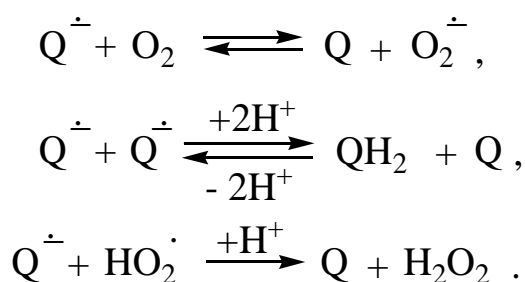


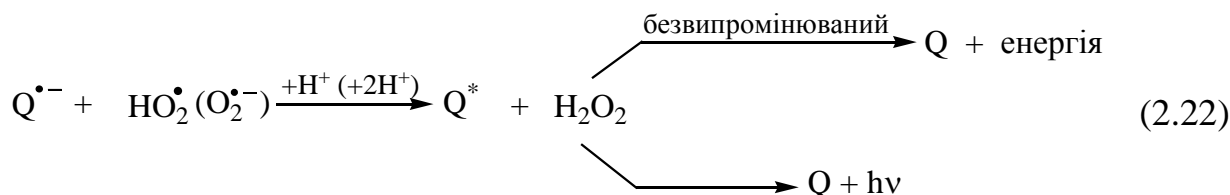
Рис. 2.9 Смути випромінювання емітерів ХЛ-світіння, що утворюються при автоокисненні  $QH_m$  у водно-лужних середовищах.  $C_0 = 5.0$  мМ,  $T = 308$  К:

- а)  $p$ - $QH_2$  на першому піку, рН 9.2,  $\lambda_{\max} = 550 \pm 8$  нм;
- б)  $p$ - $QH_2$  на другому піку, рН 9.2,  $\lambda_{\max} = 593 \pm 5$  нм;
- с) PG, рН 9.2,  $\lambda_{\max} = 527 \pm 7$  нм;
- д)  $p$ - $QH_2$ , рН 8.0,  $\lambda_{\max} = 547 \pm 5$  нм;
- е) GK на першому і другому піку позначені ( $\circ$ ) і ( $\square$ ), відповідно, рН 9.2,  $\lambda_{\max} = 559 \pm 12$  нм;
- ф)  $o$ - $QH_2$ , рН 9.9,  $\lambda_{\max} = 580 \pm 7$  нм.

При автоокисненні багатоатомних фенолів хінон може утворюватися у кількох елементарних реакціях, наприклад, для двохатомних фенолів це можна подати у такому вигляді:



З огляду на уявлення про механізм виникнення ХЛ, наведені вище експериментальні дані і враховуючи симбатну зміну концентрацій хінону і  $H_2O_2$  при автоокисненні  $p$ - $QH_2$ , можна стверджувати, що емітер ХЛ утворюється в реакції (2.22):



Для хінону, що утворюється у триплетному збудженому стані, характерний подальший перехід в основний стан ( $^3\text{Q} \rightarrow ^1\text{Q}_0$ ) або хімічна взаємодія. Для  $^3\text{Q}$  будуть характерні реакції 1,2-циклоприєднання до олефінів і відрив атома водню від відповідних донорів ( $^3\text{Q} + \text{SH} \rightarrow \text{HQ}^{\bullet} + \text{S}^{\bullet}$ ) [192, 195]. Взаємодія дурохінону у триплетному стані з амінами відбувається шляхом хімічного перетворення (відрив від аміну електрона або H-атома) або фізичного гасіння [144]. Відомі також процеси, пов'язані з фотозбудженням менадіону в окисгенованих розчинах, що призводить до фотоокислення тиміну і тимідину [196]. Кетони в триплетно-збудженому стані реагують з  $\text{AscH}_2$ , вітаміном Е і глутатіоном з константами швидкостей  $1.2 \cdot 10^9$ ,  $6.7 \cdot 10^9$ ,  $0.67 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  відповідно [197].

### 2.2.3 Зародження радикалів

Перша стадія складного багатостадійного механізму автоокиснення  $\text{QH}_m$  – це стадія утворення радикалів. Для двохатомних фенолів ( $\text{QH}_2$ ) пропонуються реакції, включені у схему 2.2 [146, 150, 167, 190].

Згідно з [176, 177, 198, 199, 200], при автоокисненні фенолів у воді первинним окисником виступає молекулярний кисень. Для реакції зародження радикалів (2.23) у разі автоокиснення гідрохінону, використовуючи стандартні електродні потенціали:

$$\begin{aligned}
 & -0.16 \text{ V для } \text{O}_2/\text{O}_2^{\bullet-} [123, 201, 202], \\
 & +0.459 \text{ V [202] або } +0.448 \text{ V [190, 191] для } \text{Q}^{\bullet-}/\text{QH}_2, \\
 & +0.023 \text{ V для } \text{Q}^{\bullet-}/\text{Q}^{2-} [202]),
 \end{aligned}$$

отримаємо  $\Delta E^0 = -0.18 \text{ V}$  за рН 13.5 і  $\Delta E^0 = -0.62 \text{ V}$  за рН 7.0. Тобто за стандартних умов ця реакція характеризується позитивною вільною енергією Гіббса. Для катехола і тролокса ця тенденція ще більш виражена [174]. До того ж в експериментах не спостерігається кореляції між здатністю  $\text{QH}_m$  окислюватися і одноелектронним  $\left(\text{QH}_{(m-1)}^{\bullet-}/\text{QH}_m\right)$  [180] або двоелектронним  $\left(\text{QH}_{(m-2)}/\text{QH}_m\right)$  [202] редокс-потенціалами.

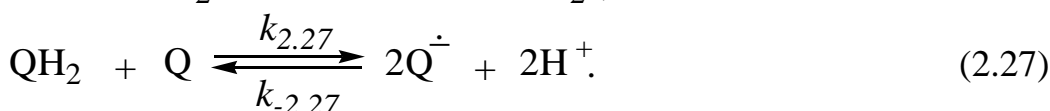
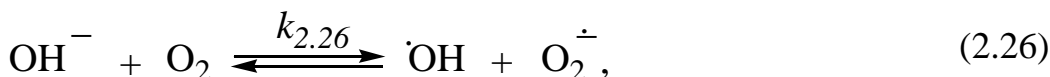
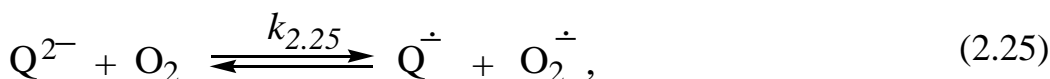
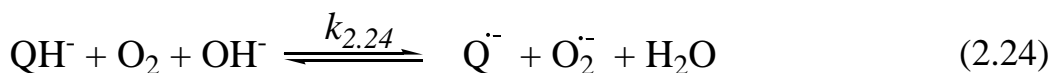
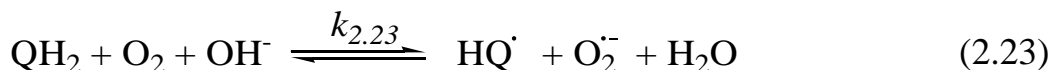
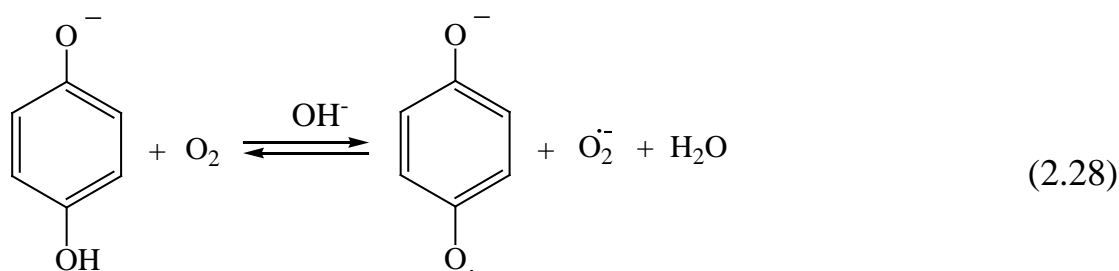
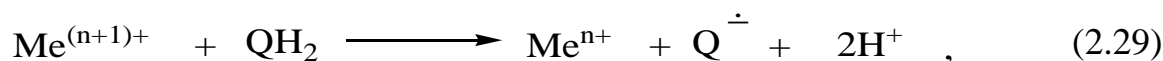


Схема 2.2 Елементарні реакції активації молекулярного кисню при автоокисненні фенолів у водному середовищі

Радикалоутворення можливе і за реакцією (2.28), але для неї  $\Delta G^\circ > 0$  [203].



Іншим шляхом зародження радикалів при окисненні органічних сполук, у тому числі  $\text{QH}_m$ , є каталіз іонами металів змінної валентності [175, 204, 205, 206, 207], які завжди присутні в незначних кількостях у водних середовищах. Каталіз іонами металів, що знаходяться у нижчих ступенях окислення ( $\text{Me}^{n+}$ ), може здійснюватися за рахунок безпосередньої активації  $\text{O}_2$  (див. схему 2.1), а в більш високих ( $\text{Me}^{(n+1)+}$ ) – за реакціями (2.29, 2.30) [208, 209]:



Крім іонів металів процес можуть ініціювати хінони – продукти окиснення відповідного багатоатомного фенолу. Вони в невеликих кількостях завжди є навіть у ретельно очищеному препараті  $\text{QH}_n$  і можуть каталізувати процес [190, 191]. На це вказує той факт, що автоокиснення багатьох  $\text{QH}_m$  відбувається з видимим самоприскоренням, і також може бути прискорене додаванням хінонів [198, 210, 211]. Так, добавки незначних кількостей *n*-бензохінону зменшують періоди індукції на кінетичних кривих ХЛ при автоокисненні *p*- $\text{QH}_2$ , а

максимальна інтенсивність ХЛ-світіння збільшується (рис. 2.10). Залежність зворотної величини періоду індукції від концентрації введеного  $p$ -Q є лінійною (рис. 2.10а). При введенні гідрохінону і  $n$ -бензохінону в рівних кількостях (5.0 мМ) період індукції на кінетичних кривих ХЛ повністю зникає, але без добавок останнього його величина становить 35 хв.

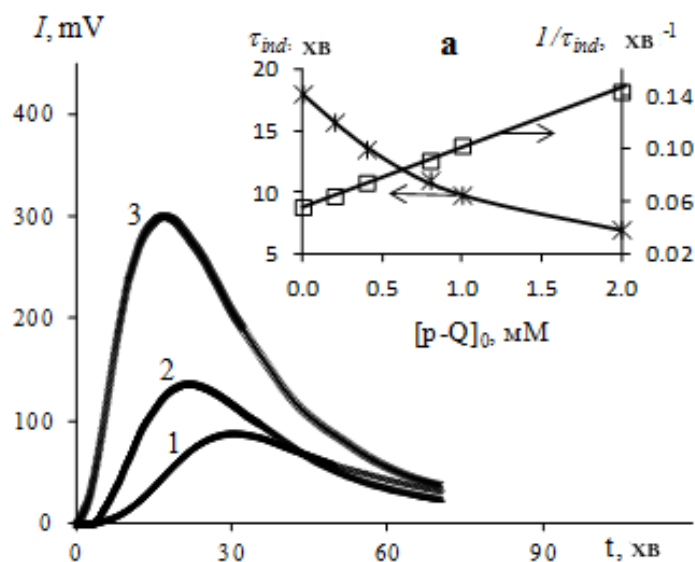


Рис. 2.10 Кінетичні криві ХЛ при автоокисненні  $p$ -QH<sub>2</sub> ( $C_0 = 5.0$  мМ) в присутності  $p$ -Q; рН 8.0.  $T = 308$  К: 1. – без  $p$ -Q; 2. –  $[p-Q]_0 = 0.8$  мМ; 3. –  $[p-Q]_0 = 2.0$  мМ; а) залежність періода індукції на кривих ХЛ від концентрації  $p$ -Q

Прискорення хінонами автоокиснення багатоатомних фенолів не спостерігається при високих значеннях рН. Наприклад, при автоокисненні  $p$ -QH<sub>2</sub> (рН  $\geq 9.2$ ) період індукції зникає (див. рис. 2.1 і 2.11).

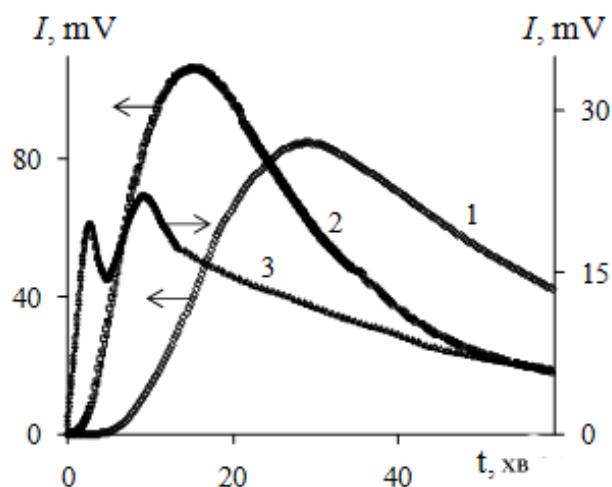


Рис. 2.11 Кінетичні криві ХЛ за різних значень рН при автоокисненні  $p$ -QH<sub>2</sub> ( $C_0 = 5.0$  мМ).  $T = 308$  К. рН: 1. – 8.0; 2. – 8.6; 3. – 9.2

Цей результат не залежить від складу буферної суміші. Додавання  $p$ -Q до початку реакції не впливає на форму кінетичної кривої ХЛ (положення її максимумів не змінюється), а лише знижує інтенсивність світіння. Періоди індукції на кінетичних кривих ХЛ у процесі автоокиснення  $QH_m$  зменшуються і при зменшенні початкової концентрації субстрату, що узгоджується з уявленнями про ініціювання реакції хінонами.

Отже, можна зробити висновок, що вірогідним шляхом зародження радикалів є одна з реакцій (2.23)–(2.25) або (2.27). Значення стандартних одноелектронних редокс-потенціалів для кисню і ряду фенолів у водному середовищі за  $pH = 7$  ( $E^{0'}$ ) відомі. У табл. 2.5 вони скориговані за рівнянням 2.31 на конкретні величини  $pH$  ( $E^{pH}$ ) [212]:

$$E^{pH} = E_{Q, 2H^+/QH_2}^{0'} + \frac{RT}{F} \cdot n_{H^+} \cdot (7-pH) \quad (2.31)$$

Величини ЕРС розраховували за рівнянням Нернста [212]. Розрахунки для реакції (2.23) виконані за рівнянням:

$$\Delta E^{pH} = \Delta E^{0'} + \frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{[O_2] \cdot [QH_2]}{[O_2^{\cdot-}] \cdot [Q^{\cdot-}] \cdot [H^+]^2}, \quad (2.32)$$

для реакції (2.27) за рівнянням:

$$\Delta E^{pH} = \Delta E^{0'} + \frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{[Q] \cdot [QH_2]}{[Q^{\cdot-}]^2 \cdot [H^+]^2}. \quad (2.33)$$

У водних середовищах квазістаціонарні концентрації феноксильних аніон-радикалів при автоокисненні  $QH_m$  складають зазвичай  $10^{-7} - 10^{-6}$  М [191, 213], а  $O_2^{\cdot-}$ -радикалів –  $10^{-9} - 10^{-8}$  М [171]. Отже, в розглянутих умовах пряме перенесення електрона на  $O_2$  є можливим для гідрохінону, пірокатехіну, галлової кислоти і  $CoQH_2$ , а для  $ArOH$  і резорцину – ні (див. рис. 2.12), що підтверджується експериментом [178].

Таблиця 2.5

Значення одноелектронних редокс-потенціалів фенолів і кисню у воді: стандартних ( $E^{0'}$ ) і скорегованих на  $pH \neq 7$  ( $E^{pH}$ );  $T = 308$  К

Редокс-пара	$E^{0'}$ , mV	Джерело	$E^{pH*}$ , mV	
			pH 8.0	pH 9.2
$PhO^{\cdot-}, H^+ / PhOH$	900	[214]	841	770

Редокс-пара	$E^{0'}$ , mV	Джерело	$E^{pH*}$ , mV	
			pH 8.0	pH 9.2
(1) $Q^{\dot{-}}, 2H^+ / QH_2$	448	[190]	330	188
(2) $Q^{\dot{-}}, 2H^+ / QH_2$	530	[215]	412	270
(3) $Q^{\dot{-}}, 2H^+ / QH_2$	810	[215]	692	550
(4) $Q^{\dot{-}}, 2H^+ / QH_2$	450	[216]	272	60
$CoQ^{\dot{-}}, 2H^+ / CoQH_2$	200	[217]	82	-60
(1) $Q / Q^{\dot{-}}$	78	[190]	–	–
(2) $Q / Q^{\dot{-}}$	210	[215]	–	–
$O_2 / O_2^{\dot{-}}$	-160**	[123]	–	–

$*E^{pH}$  – розраховували за рівнянням (2.31) для 308 K; індексами (1), (2), (3) і (4) позначені  $p$ -QH<sub>2</sub>,  $o$ -QH<sub>2</sub>, резорцин і GK, відповідно; \*\*для концентрації розчиненого у воді O<sub>2</sub> за  $p_{O_2} = 1$  атм

Для реакції (2.27) у випадку  $p$ -QH<sub>2</sub> і  $o$ -QH<sub>2</sub> система знаходиться зліва від точки рівноваги при концентраціях відповідних аніон-радикалів семихінонів  $<2.0 \cdot 10^{-5}$  і  $<5.1 \cdot 10^{-5}$  М при pH 9.2,  $<1.4 \cdot 10^{-6}$  і  $<3.6 \cdot 10^{-6}$  М за pH 8.0 (рис. 2.13). Тобто утворення радикалів можливе і за реакцією (2.27), з тією різницею, що реакція (2.23) веде до активних  $O_2^{\dot{-}}$ -радикалів, а (2.27) – до малоактивних  $Q^{\dot{-}}$ -радикалів.

В якості вихідних окисників фенолів можуть також виступати  $O_2^{\dot{-}}$  - або  $HO_2^{\dot{-}}$ -радикали [218, 219, 220]. Однак між константами швидкості реакції (2.34) і електронно-донорними властивостями фенолів значної кореляції не спостерігається [174]. Так, в ряду електронно-акцепторних замісників – СНО, – СОСН<sub>3</sub>, – СОСН<sub>2</sub>НСН<sub>3</sub>, – SO<sub>3</sub><sup>-</sup>, в молекулі пірокатехіну константа швидкості реакції окислення повинна зменшуватися, а не збільшуватися, як це спостерігається експериментально.

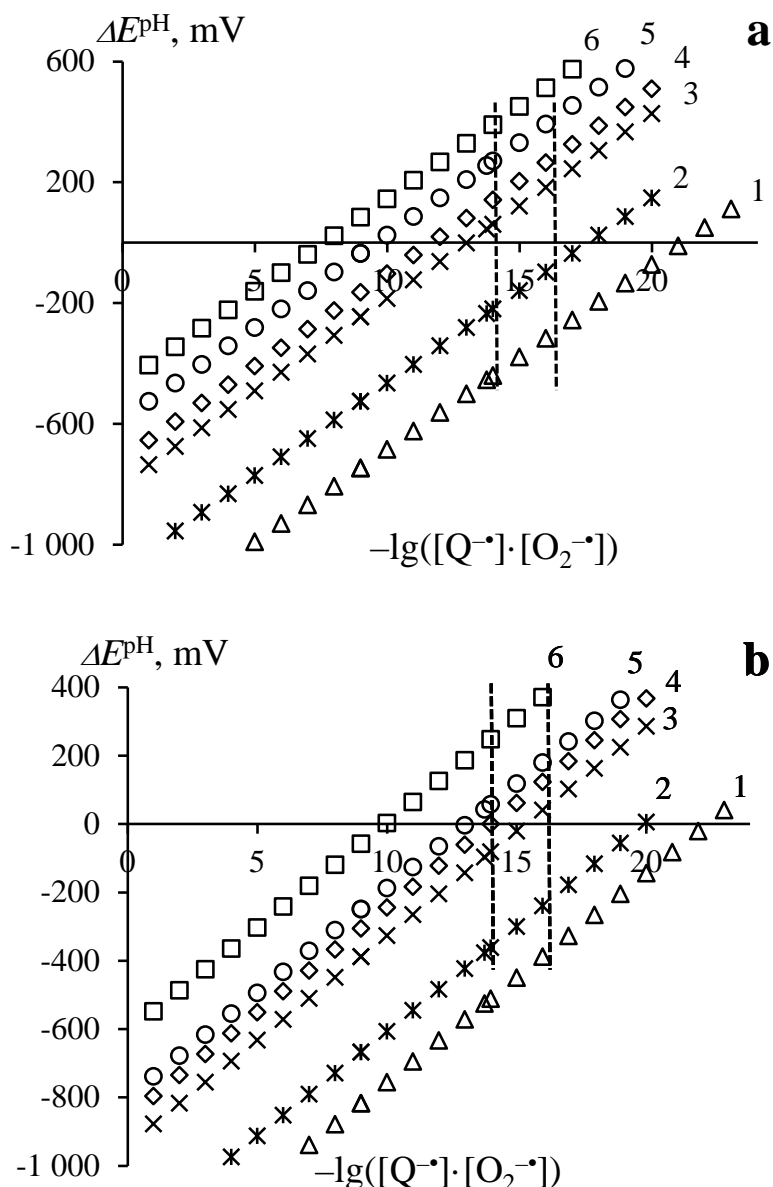
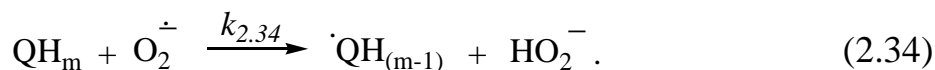


Рис. 2.12 Залежність ЕРС від добутку концентрацій радикалів, що утворюються за реакцією (2.23) при автоокисненні  $QH_n$ .  $T = 308\text{ K}$ ,  $[QH_m]_0 = 5.0\text{ mM}$ ,  $[O_2]_0 = 0.2\text{ mM}$ ; pH 9.2 (a); pH 8.0 (b):  
1. – ArOH; 2. – резорцин; 3. – *o*-QH<sub>2</sub>; 4. – *p*-QH<sub>2</sub>; 5. – GK; 6. – CoQH<sub>2</sub>.

Константа швидкості реакції  $O_2^{\cdot-}$ -радикалів з 1,2-дигідроксибензен-3,5-дисульфоною кислотою (Тірон), яку запропоновано в якості специфічної пастки даних радикалів [221], варіює в межах від  $1 \cdot 10^7$  [220] до  $5 \cdot 10^8\text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  [219]. Природа радикала, що утворюється з Тірон, точно не встановлена [219, 220]. Перенесення електрона з аніона Тролоксу і моноаніона дитрет-бутилпірокатехіну на  $O_2^{\cdot-}$  є термодинамічно малоймовірним [222, 223].



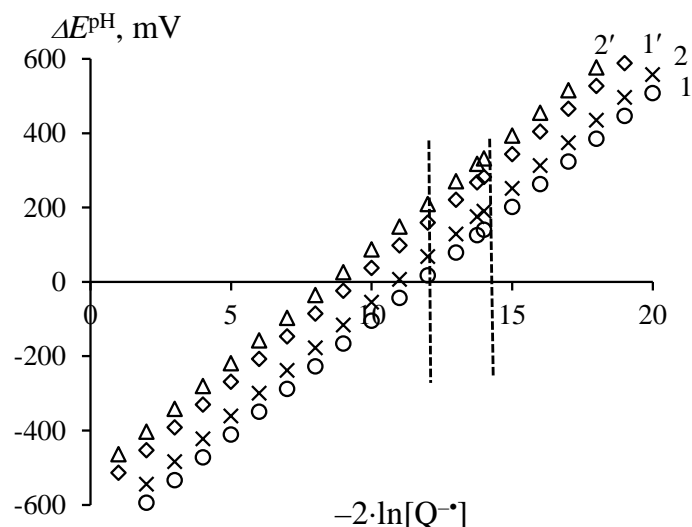


Рис. 2.13 Залежність ЕРС від добутку концентрацій радикалів, що утворюються за реакцією (2.27) при автоокисненні  $\text{QH}_n$ .  $T = 308 \text{ K}$ ,  $[\text{QH}_m]_0 = 5.0 \text{ mM}$ ,  $[\text{Q}]_0 = 5.0 \text{ мкМ}$ : 1. і 2. –  $p\text{-QH}_2$  і  $o\text{-QH}_2$  за  $\text{pH } 8.0$ ; 1'. і 2'. –  $p\text{-QH}_2$  і  $o\text{-QH}_2$  за  $\text{pH } 9.2$

Згідно з [115] у водному середовищі радикали можуть генеруватися внаслідок термічної дисоціації гідроксид-іона за реакцією (2.26). Стандартний редокс-потенціал при  $\text{pH } 7.0$  для реакції дорівнює  $+2310 \text{ mV}$  [224], тобто, щоб гідроксид-іон виступав у якості одноелектронного відновника, він повинен бути в парі зі сполукою, що володіє дуже сильною окисною здатністю. Значення

$\Delta E$  реакції (2.26) буде позитивною величиною, якщо добуток  $[\cdot\text{OH}] \cdot [\text{O}_2^{\cdot-}]$  в реакційній суміші буде менше  $7.0 \cdot 10^{-41}$  і  $1.0 \cdot 10^{-37}$  при  $\text{pH } 9.2$  і  $12.5$ , відповідно ( $[\text{O}_2] = 0.2 \text{ mM}$ ). Отже, ймовірність здійснення цієї реакції мізерно мала.

У сильноокислому середовищі швидкість окиснення фенолів вища, ніж у слабнокислих або нейтральних, про що говорилося раніше. Це пояснюється тим, що прекурсорами при утворенні радикалів у цьому випадку є не нейтральні форми фенолів, а їхні оксонієві іони [208].

Таким чином, на сьогодні немає єдиної точки зору щодо механізму активації молекулярного кисню при автоокисненні фенолів у воді. Найімовірніше, у водному середовищі при нейтральних і лужних  $\text{pH}$  радикали зароджуються за реакціями (2.24), (2.25) або (2.27).

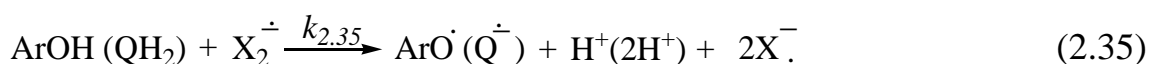
#### 2.2.4 Елементарні реакції за участю радикальних інтермедіатів

При одноелектронному окисненні фенолів утворюються фенокисьні радикали. Серед них виділяють радикали двох типів, що відрізняються будовою, властивостями і реакційною здатністю. Фенокисьні радикали першого типу утворюються з моногідроксибензенів і багатоатомних фенолів, у яких гідрок-



сильні групи заходяться в *мета*-положенні. До другого типу відносять семихінонні радикали ( $\dot{Q}$ ), первинні інтермедіати окиснення  $QH_m$  з орто- і парарозташуванням ОН-груп, утворення яких на прикладі *n*-семихінонів показано ще Міхаелісом [225]. Зазвичай термін «феноксильні радикали» об'єднує всю сукупність різних за будовою радикалів фенольного типу, а семихінони є їхнім окремим випадком.

Феноксильні радикали утворюються при взаємодії  $O_2^{\cdot-}$  і аніон-радикалів галогенів ( $X_2^{\cdot-}$ , де  $X = Cl, Br, I$ ) з фенолами або фенолят-іонами за реакціями (2.34) і (2.35) відповідно.



Значення констант швидкостей цих реакцій збільшуються з ростом електронно-донорної сили замісника. Фенолят-іони виявляють, як правило, більш високу активність, порівняно з їх протонованими формами (див. табл. 2.6). Інформація про кінетичні параметри реакції (2.34) має важливе значення під час розгляду процесу автоокиснення фенолів, оскільки її внесок визначає ланцюговий або неланцюговий механізм реакції. Інформація про  $k_{2.34}$  в літературі нечисленна і суперечлива. Так, у джерелах [94, 95] наводяться значення порядку  $10^2 - 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$  (див. табл. 2.6), а в [4, 157, 226] для неї вказуються межі  $10^5 - 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ .

Таблиця 2.6

Константи швидкості ( $\text{M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ ) реакцій радикалів і АФК з фенолами і фенолят-іонами [94, 95]

АФК	$C_6H_5OH$	$C_6H_5O^-$	4- $CH_3OC_6H_5OH$	4- $CH_3OC_6H_5O^-$
$e_{aq}^-$	$2 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^6$	—	—
$HO^\bullet$	$1 \cdot 10^{10}$	$1 \cdot 10^{10}$	$3 \cdot 10^{10}$	—
$O_2^{\cdot-}$	$6 \cdot 10^2$	—	—	$2 \cdot 10^4$
$^1O_2$	$2 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^8$	$1 \cdot 10^7$	$7 \cdot 10^8$
$Cl_2^{\cdot-}$	$3 \cdot 10^8$	—	$1 \cdot 10^9$	—
$Br_2^{\cdot-}$	$6 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^8$	$8 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^9$
$I_2^{\cdot-}$	не реагує	$3 \cdot 10^7$	—	—
$(SCN)_2^{\cdot-}$	$1 \cdot 10^6$	$3 \cdot 10^8$	$5 \cdot 10^7$	—

При взаємодії  $HO^\bullet$ -радикала з фенолами у водному середовищі утворюється феноксильний радикал за реакцією відриву Н-атома, або через проміжний радикал дигідроксициклогексادیєніла, який у подальшому піддається спонтанній дегідратації (схема 2.3) [196].

Імовірність приєднання  $HO^\bullet$ -радикала в пара-, орто- або мета-положення становить 9:6:1 [227], що вказує на електрофільний характер  $HO^\bullet$ -радикала в

цьому процесі. Механізм приєднання-елімінування при утворенні фенокисильних радикалів (схема 2.3) на сьогодні зареєстрований для великої кількості заміщених фенолів [196, 228, 229], катехолів [229, 230], резорцину [228], гідрокінонів [229]. 4-Нітрофенол і 4-нітрофенолят-іон можуть утворювати лише ОН-аддукт без подальшої дегідратації [231]. *Пара*-ізомери на порядок швидше піддаються дегідратації, яка каталізується протонами, ніж *орто*-ізомери [227, 232]. Значення  $k_{sp}$  для гідрокінону, резорцину і крезолу складають  $4.6 \cdot 10^4$ ,  $4.3 \cdot 10^4$  [174] і  $2.4 \cdot 10^3$  с<sup>-1</sup> [196]. При введенні в бензольне ядро електронно-акцепторних замісників, таких як -CN, -CHO, -COCH<sub>3</sub>, значення  $k_{sp}$  зростають і дорівнюють  $3 \cdot 10^5$ ,  $4 \cdot 10^5$  і  $7 \cdot 10^5$  с<sup>-1</sup>, відповідно, але вони менші, ніж для незаміщених фенолів,  $k_{sp} \geq 10^7$  с<sup>-1</sup> [174]. Зображена на схемі 2.3 реакція для лужного середовища є лише частиною більш складного механізму. В цьому випадку константи швидкості збільшуються при зменшенні потенціалу іонізації вихідних сполук [174].

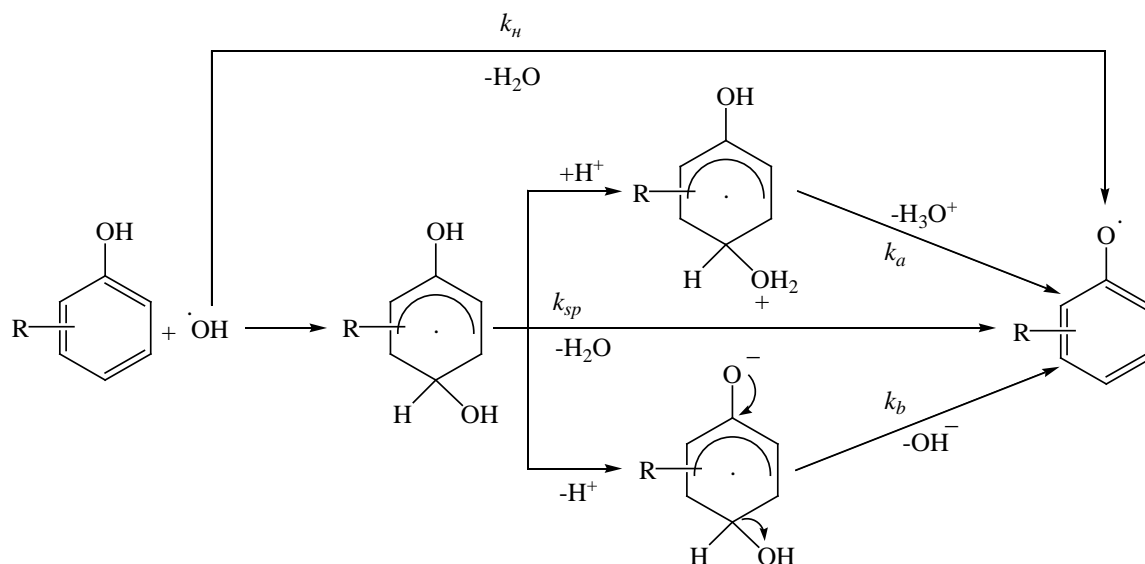


Схема 2.3 Механізм утворення фенокисильних радикалів при взаємодії фенолів з HO•-радикала

Катіон-радикали метоксибензенів також ефективно окислюють феноли. Наприклад, при взаємодії катіон-радикалів анізолу, 1,3-диметоксибензену, 1,3,5-триметоксибензену з фенолами при pH = 1 вихід фенокисильних радикалів становить  $\geq 90$  %. Константи швидкості цих реакцій для більшості заміщених монофенолів, а також AscH<sub>2</sub> близькі до дифузійних [174].

Отже, фенокисильні радикали легко утворюються при взаємодії фенолів з широким колом різних одноелектронних окислювачів. З високими швидкостями численні багатоатомні феноли реагують також зі стабільними радикалами, наприклад 1,1-дифеніл-2-пікрилгідразилом (•DPPH) [233]. За допомогою •DPPH можна оцінити реакційну здатність гідроксильних груп молекули QH<sub>m</sub> у процесах одноелектронного окислення. Однак широкому дослідженню кінетики цієї реакції у водному середовищі перешкоджає як висока швидкість

реакції при кімнатній температурі (необхідність використання швидких струменевих методів), так і обмежена розчинність  $\bullet\text{DPPH}$  у воді. Дослідження кінетики реакції  $p\text{-QH}_2$ ,  $\text{Cl-}p\text{-QH}_2$ ,  $2,5\text{Cl}_2\text{-}p\text{-QH}_2$ ,  $o\text{-QH}_2$ ,  $4\text{CH}_3\text{-}o\text{-QH}_2$ , PG, GK з  $\bullet\text{DPPH}$  у лужному середовищі при кімнатній температурі звичайним спектрофотометричним методом є фактично неможливим, оскільки взаємодія між реагентами відбувається в момент змішування (1-3 с). Тому для отримання достовірних кінетичних кривих реакція вивчена у водно-спиртовій суміші при низьких температурах (див. рис. 2.14).

Радикал  $\bullet\text{DPPH}$  повільно взаємодіє з фенолом і резорцином (див. табл. 2.7). Це узгоджується з тим, що ці феноли слабо окислюються. Початкові швидкості реакції  $p\text{-QH}_2$  і  $o\text{-QH}_2$  з  $\bullet\text{DPPH}$  не відрізняються (табл. 2.7, а також [234], в якій вказується на незначні відмінності у значеннях елементарних констант швидкості реакції між цими фенолами і пероксильними радикалами). Швидкості їхнього автоокиснення у водному середовищі відрізняються більше, ніж на порядок (див. табл. 2.2). На це також вказують і автори роботи [172].

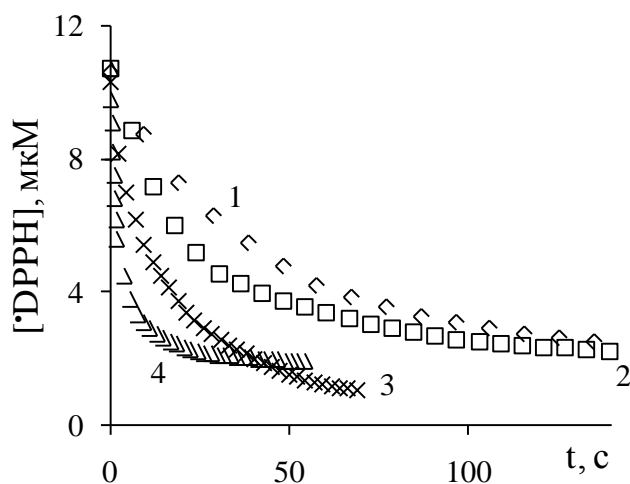


Рис. 2.14 Кінетичні криві витрачання радикала  $\bullet\text{DPPH}$  в реакції з  $\text{QH}_m$ .  
 $T = 281 \text{ K}$ , вода/етанол = 1.6,  $[\bullet\text{DPPH}]_0 = [\text{QH}_m]_0 = 10 \text{ мкМ}$ :  
 1. –  $p\text{-QH}_2$ ; 2. –  $o\text{-QH}_2$ ; 3. – GK; 4. – PG

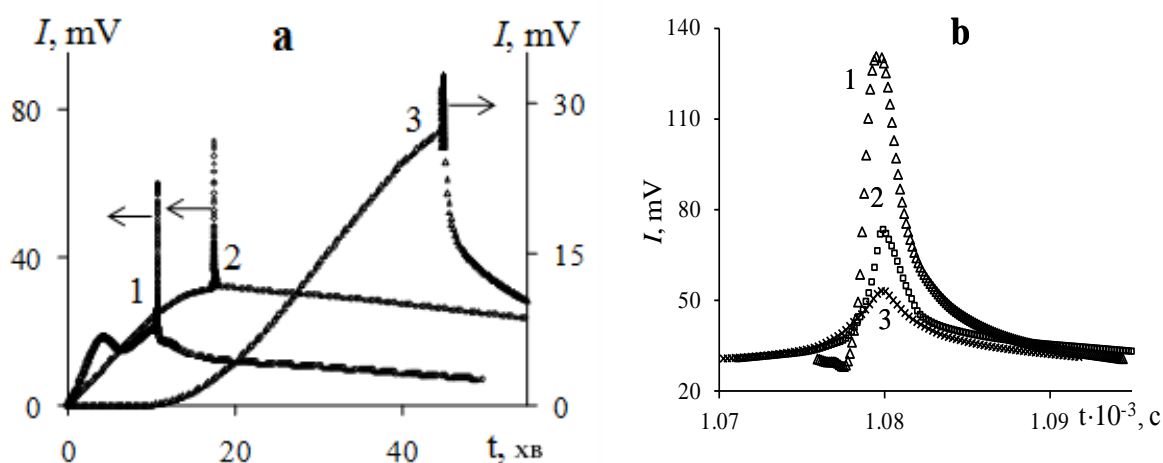
Оскільки при автоокисненні  $\text{QH}_m$  генеруються семихінонні радикали, слід очікувати впливу добавок  $\bullet\text{DPPH}$  на кінетику процесу. При введенні малих кількостей  $\bullet\text{DPPH}$  у максимумі кінетичної кривої ХЛ при автоокисненні  $\text{QH}_m$  спостерігається сплеск ХЛ-світіння, інтенсивність якого залежить від концентрації радикала (рис. 2.15). Згідно зі Схемою 2.3 добавки  $\bullet\text{DPPH}$  призводять до швидкого зростання квазістаціонарних концентрацій семихінонних радикалів. Це повинно збільшувати швидкість реакції утворення емітера ХЛ, а, отже, й інтенсивність ХЛ-світіння (рис. 2.15).

Таблиця 2.7

Кінетичні параметри реакції фенольних сполук з  $\bullet\text{DPPH}$ ;  $T = 281\text{ K}$ 

Сполука	$V_0 \cdot 10^6, \text{M} \cdot \text{c}^{-1}$	$k, \text{M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}, \text{M}^{-2} \cdot \text{c}^{-1}$	$n$
Пірогалол	$5.3 \pm 0.3$	$(1.0 \pm 0.2) \cdot 10^{10}$	3
Гідрохінон	$0.3 \pm 0.02$	$(2.5 \pm 0.2) \cdot 10^3$	2
Пірокатехін	$0.37 \pm 0.04$	$(2.1 \pm 0.7) \cdot 10^9$	3
Галова кислота	$1.7 \pm 0.1$	$(1.03 \pm 0.05) \cdot 10^4$	2
Хлоргідрохінон	$2.6 \pm 0.6$	–	дробовий
Фенол	Протягом години $\bullet\text{DPPH}$ не витрачається		
Резорцин			

$V_0$  – початкова швидкість реакції  $\text{QH}_m$  з  $\bullet\text{DPPH}$ ,  $n$  – порядок реакції,  $[\bullet\text{DPPH}] = [\text{QH}_m] = 10\text{ мкМ}$

Рис. 2.15 Вплив добавок  $\bullet\text{DPPH}$  на кінетику ХЛ при автоокисненні  $\text{QH}_m$ .

$T = 308\text{ K}$ . Реагенти вводили в максимумі кривої ХЛ:

- а) 1. –  $[p\text{-QH}_2]_0 = 5.0\text{ мМ}$ ,  $[\bullet\text{DPPH}]_0 = 70\text{ мкМ}$ ,  $\text{pH } 9.2$ ;  
 2. –  $[\text{PG}]_0 = 0.5\text{ мМ}$ ,  $[\bullet\text{DPPH}]_0 = 25\text{ мкМ}$ ,  $\text{pH } 8.0$ ;  
 3. –  $[p\text{-QH}_2]_0 = 2.0\text{ мМ}$ ,  $[\bullet\text{DPPH}]_0 = 60\text{ мкМ}$ ,  $\text{pH } 8.0$ .  
 б) Сплеск ХЛ при введенні  $\bullet\text{DPPH}$ ,  $[\text{PG}]_0 = 0.5\text{ мМ}$ ,  $\text{pH } 8.0$ ,  $[\bullet\text{DPPH}]$ :  
 1. –  $110\text{ мкМ}$ ; 2. –  $25\text{ мкМ}$ ; 3. –  $13\text{ мкМ}$ .

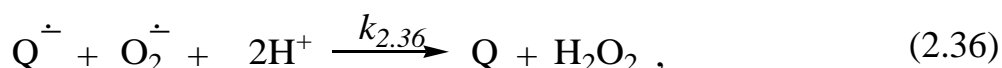
Оскільки механізм, який зумовлює виникнення цих ефектів, радикальний, слід чекати на короткочасний сплеск ХЛ, який визначається тривалістю реакції  $\bullet\text{DPPH}$  з  $\text{QH}_m$ , тобто декількома секундами. Дійсно, тривалість сплеску ХЛ-світіння знаходиться в межах 4–7 с (рис. 2.15b). Добавки незначних кількостей  $\bullet\text{DPPH}$  на початку реакції не впливають на кінетику ХЛ-світіння.

Феноксильні радикали швидко реагують з  $\text{O}_2^{\bullet-}$  [235] шляхом:

- приєднання в *орто*- або *пара*-положення з подальшою перебудовою та розкриттям бензольного кільця;
- перенесення електрона з  $\text{O}_2^{\bullet-}$  на феноксильний радикал з утворенням  $\text{O}_2$  і фенолят-іона;

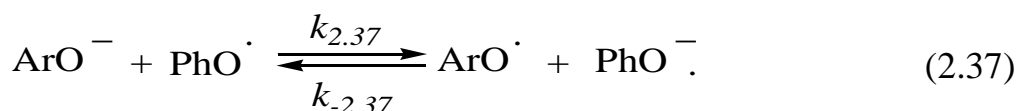
- перенесення електрона з семіхінонного радикала на  $O_2^{\cdot -}$  з відновленням останнього до пероксиду водню.

Продуктами першої реакції є нестабільні гідроперокси, при відщепленні  $O_2$  від яких утворюється вихідний фенол. Раніше вказувалося на те, що інший шлях – пряме перенесення електрона – є другорядним [236]. Однак константи швидкості перенесення електрона високі, наприклад,  $4.5 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  для реакції між радикалом Тролоксу і  $O_2^{\cdot -}$ , а, отже, вона може бути ключовою [237]. Можливий також і третій шлях перетворення, властивий для семіхінонних радикалів:



проте інформації про можливість реалізації цієї реакції небагато, а кінетичні параметри чітко не визначені.

У водних середовищах високу активність щодо феноксильних радикалів проявляють самі фенолят-іони, що взаємодіють за реакцією (2.37).



Значення  $k_{2.37}$  для більшості фенолів високі (табл. 2.8). Феноксильні радикали можуть взаємодіяти і з іншими молекулами за механізмом відриву атома водню. Константи швидкості останніх реакцій приблизно на п'ять порядків нижчі, ніж для дифузійно-контрольованих процесів [174], тобто реакції феноксильних радикалів з нейтральними молекулами, як правило, йдуть повільніше, ніж з іонами. Тому висока ймовірність участі фенолів у реакціях переносу електрона навіть у нейтральних середовищах, хоча в органічних розчинниках або кислих водних розчинах реакція здійснюється шляхом відриву H-атома [238].

На кінетику ХЛ у процесі автоокиснення гідрохінону впливають феноли, які в умовах експерименту самі не окиснюються. Додавки до водно-лужного розчину  $p$ -QH<sub>2</sub> до початку реакції таких сполук, як ТхОН, резорцин, орцин, PhG зменшують інтенсивність ХЛ-світіння, а фенолу – збільшує її (рис. 2.16).

Інтенсивність світіння знижується зі збільшенням концентрації гасника (рис. 2.16b). При введенні PhG в реакційну суміш з  $p$ -QH<sub>2</sub>, що окиснюється, на кінетичних кривих поряд зі зниженням інтенсивності ХЛ, обумовленої протіканням основної реакції, з'являється додаткове світіння в періоді індукції (рис. 2.16a, кр. 6).

Таблиця 2.8

Константи швидкості реакції (2.37) оберненої взаємодії арилокси- радикалів ( $\text{ArO}^\bullet$  і  $\text{PhO}^\bullet$ ) і аніонів фенолів ( $\text{ArO}^-$  і  $\text{PhO}^-$ )

$\text{ArO}^-$ ( $\text{ArO}^\bullet$ )	$\text{PhO}^-$ ( $\text{PhO}^\bullet$ )	pH	$k_{2.37},$ ( $\text{M}\cdot\text{c})^{-1}$	$k_{-2.37},$ ( $\text{M}\cdot\text{c})^{-1}$	Посилання
Фенол	Фенол	11.5	$1.9\cdot 10^8$	$1.9\cdot 10^8$	[239]
Пірокатехін	Гідрохінон	13.5	$2.0\cdot 10^6$	$8.5\cdot 10^5$	[174]
3,4-дигідрокси-бензойна к-та	Гідрохінон	13.5	$6.0\cdot 10^6$	$1.2\cdot 10^5$	
2,3-дигідрокси-бензойна к-та	Гідрохінон	13.5	$4.2\cdot 10^5$	$9\cdot 10^3$	
Резорцин	2,3-дигідрокси-бензойна к-та	13.5	$4.7\cdot 10^7$	$5.2\cdot 10^4$	
Резорцин	3,4-дигідрокси-бензойна к-та	13.5	$2.5\cdot 10^8$	$1.9\cdot 10^5$	
DMAP	гідрохінон	13.5	$1\cdot 10^8$	$3\cdot 10^5$	[215]
DMAP	пірокатехін	13.5	$3\cdot 10^7$	$2\cdot 10^5$	
DMAP	резорцин	13.5	$2\cdot 10^4$	$7\cdot 10^7$	
Тролокс С	пірокатехін	13.5	$7\cdot 10^7$	$3\cdot 10^5$	

DMAP – *n*-N,N-диметиламінофенол

Інтенсивність ХЛ підвищується з ростом початкової концентрації PhG у невеликому інтервалі концентрацій гасників, а потім воно зникає при тих концентраціях PhG (5.0 мМ і вище), які повністю гасять ХЛ. Вплив добавок спостерігається також і при їх введенні на максимумах кривих ХЛ (рис. 2.16b, кр. 2). Різке підвищення інтенсивності ХЛ після введення резорцину залежить від концентрації останнього (рис. 2.16d). Такий характер його впливу вказує на радикальний механізм автоокиснення *p*-QH<sub>2</sub>. За ефективністю гасіння ХЛ резорцин, орцінол і PhG (тобто багатоатомні феноли), близькі, але ця ефективність нижче приблизно на порядок для одноатомного фенолу – ТхОН (рис. 2.16с).

Найпростіший механізм гасіння ХЛ полягає у фізичній дезактивації збудженої частинки при подвійних зіткненнях із гасником. У цьому випадку залежність інтенсивності світіння від концентрації гасників (*q*) виражається рівнянням Штерна–Фольмера [26]:

$$I_0/I = 1 + k_q \cdot \xi \cdot [q], \quad (2.38)$$

де  $I_0$  і  $I$  – інтенсивність світіння за відсутності і при наявності гасника;  $\xi$  – час життя збудженої частки за відсутності гасника;  $k_q$  – константа швидкості реакції між збудженою часткою і гасником.

Отже, якщо механізм гасіння ХЛ фізичний, слід очікувати лінійну залежність  $I_0/I - f([q])$ . Як видно з рис. 2.16с, ці залежності істотно нелінійні для всіх досліджених фенолів – гасників ХЛ.

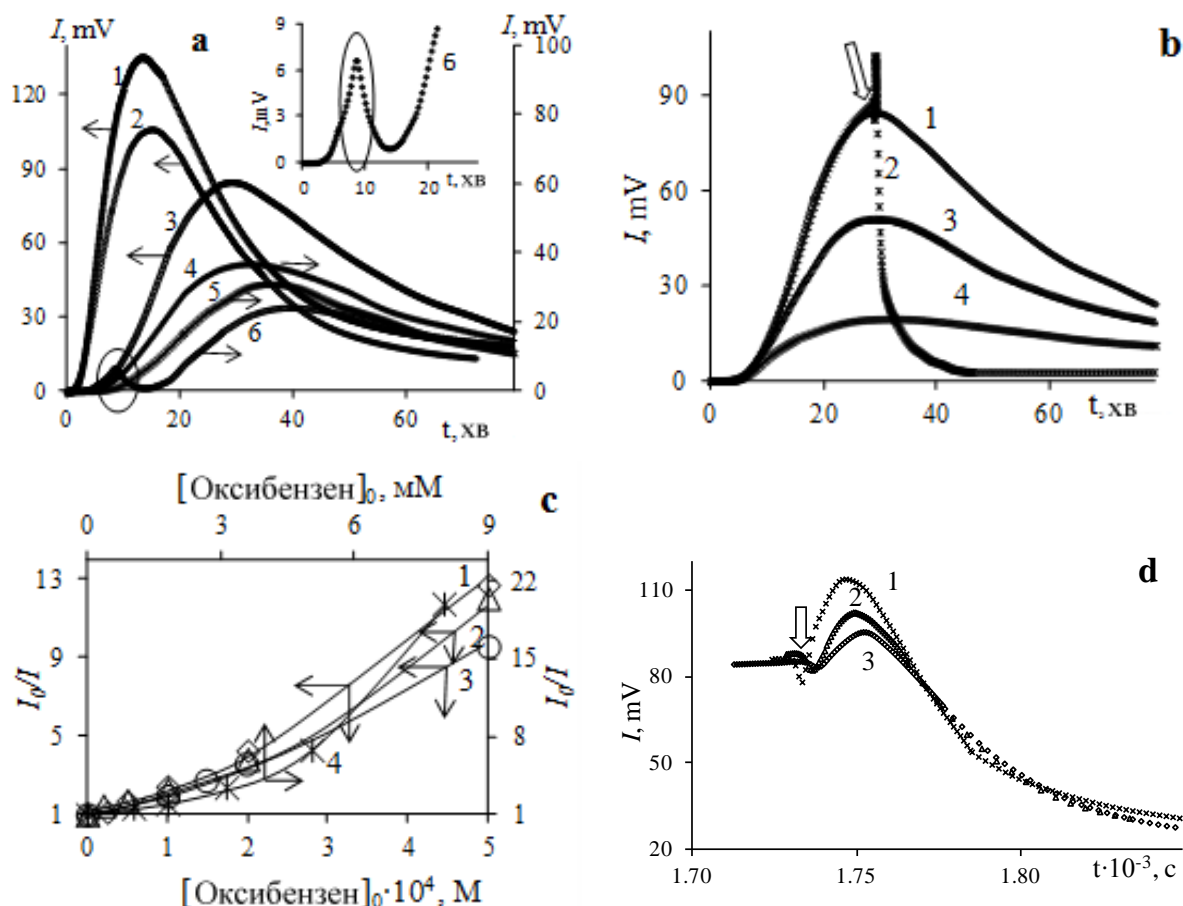
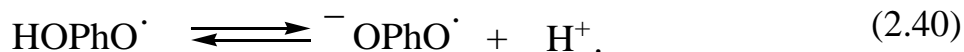


Рис. 2.16 Вплив добавок фенолів, що мало окиснюються, на ХЛ при автоокисненні  $p$ -QH<sub>2</sub> ( $C_0 = 5.0$  mM).  $T = 308$  K. Час введення добавок позначений стрілкою.

- a) 1. –  $[\text{Фенол}]_0 = 9.7$  mM, pH 8.6; 2. – без добавок, pH 8.6; 3. – без добавок, pH 8.0; 4. –  $[\text{TxOH}]_0 = 1.8$  mM, pH 8.0; 5. –  $[\text{Орцин}]_0 = 0.1$  mM, pH 8.0; 6. –  $[\text{PhG}]_0 = 0.2$  mM, pH 8.0.
- b) Добавки резорцину, pH 8.0: 1. – без добавок; 2. – 4.0 mM; 3. – 0.05 mM; 4. – 0.2 mM.
- c) Залежність співвідношення інтенсивності ХЛ від концентрації гасника, pH 8.0: ( $\diamond$ ) – резорцин; ( $\Delta$ ) – орцин; ( $\circ$ ) – PhG; ( $*$ ) – TxOH.
- d) Сплеск ХЛ при введенні резорцину, pH 8.0: 1. – 7.0 mM; 2. – 4.0 mM; 3. – 3.0 mM.

Залишається припускати, що механізм гасіння хімічний. Можливо, що добавки ArOH, TxOH, резорцину, орцину і PhG змінюють квазістаціонарні концентрації радикалів, що встановилися в реакційній суміші у процесі автоокиснення QH<sub>m</sub>. Це обумовлює їхній прямий вплив на швидкість реакції утворення емітера ХЛ і, отже, на інтенсивність ХЛ-світіння.

У водних розчинах  $Q^{\bullet-}$ -радикали беруть участь у кислотно-основних рівновагах. Реакція (2.39) є важливою лише в сильноокислому середовищі, оскільки значення  $pK_a$  для фенокисьного,  $o$ -,  $m$ -,  $p$ -гідроксифенокисьного радикалів дорівнюють  $-2.00$ ,  $-1.62$ ,  $-2.22$ ,  $-1.30$  відповідно [240].



Дисоціація таких груп, як –ОН (2.40) і –СООН в кільці фенокисьного радикала, має місце у слабокислих і лужних середовищах. Значення  $pK_a$  реакції (2.40) для  $Q^\bullet$ -радикалів залежать від розташування гідроксильних груп у бензольному кільці (див. табл. 2.9).

Таблиця 2.9

Константи дисоціації семихінонних радикалів

Радикал	$pK_a$	Посилання
Бензосемихінон-1,2	5.0	[228]
Бензосемихінон-1,3	7.1	[228]
5-Гідроксибензосемихінон-1,3	6.5; 8.6*	[241]
Бензосемихінон-1,4	4.0	[242]
2-Гідроксибензосемихінон-1,4	4.8; 8.9*	[243]
2-Метилбензосемихінон-1,4	4.5	[148]
2-Карбоксибензосемихінон-1,4	6.5	[244]

\* $pK_{a2}$  для другої гідроксильної групи фенокисьного радикала

Фенокисьні радикали можуть взаємодіяти один з одним. Продукти цієї реакції різні для радикалів першого і другого типів. Фенокисьні радикали першого типу здебільшого димеризуються. Константи швидкості даної реакції близькі до дифузійних ( $\approx 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ) [245, 246]. Оскільки непарний спін делокалізований на атомі кисню і на *орто*- і *пара*-атомах вуглецю, то утворюються поєднання димерів О – С, С – С і О – О. Димери, що містять зв'язок О – О, менш стабільні. Наприклад, при взаємодії фенокисьних радикалів у водних розчинах утворюється 80 % С – С, 10 % О – С продуктів димеризації і 10 % неідентифікованих продуктів, що можливо включають деякі пероксидні сполуки. Основна група продуктів включає 2,2'-, 2,4'- і 4,4'-дигідроксидифеніл у співвідношенні 0.7: 1.7: 1.0. Друга група включає 2- і 4-феноксифенол [247].

Радикали семихінонів здебільшого диспропорціонують за реакцією (2.27). Швидкість зворотної реакції зменшується з ростом рН, а стійкість семіхінонов зростає [248]. Для більшості значення констант  $k_{-2.27}$  близькі до  $1 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  [177, 249] і тільки для деяких з них значно менші цієї величини, наприклад для азиридиніл- і 2-метокси-заміщених семихінонів [250]. Реакція (2.27) оборотна, тому, коли в системі присутні одночасно хінон і фенол, завжди буде утворюватися певна кількість семихінонних радикалів. Розподіл в тріади можна провести на підставі значень  $K_{2.27} = \frac{[Q][QH_2]}{[Q^\bullet]^2[H^+]^2}$ . Такий аналіз представлений графічно на рис. 2.17 [176]. Дуросемихінон має вище значення вільної енергії, порівнюючи дурохінол і дурохінон. Тобто  $K_{2.27}$



для цієї системи буде високою, а концентрація аніон-радикалів низькою. Для двох інших систем високими значеннями енергії характеризуються хінони, і, відповідно більш низькими – гідрохінон. Невеликі значення констант рівноваги (див. рис. 2.17) обумовлюють відносно високі концентрації семихінонних радикалів, що проявляється в можливості їхнього прямого детектування методом ЕПР [251].

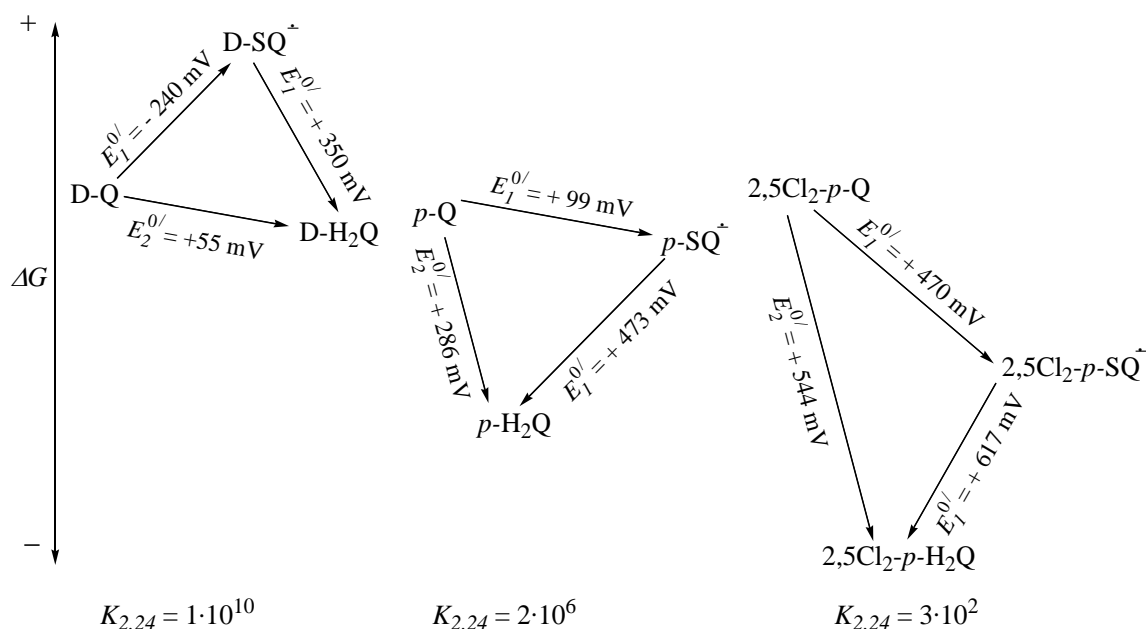
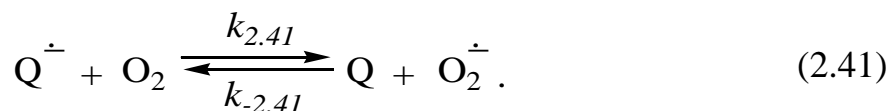


Рис. 2.17 Стандартні одноелектронні ( $E_1^{0/}$ ) і двоелектронні ( $E_2^{0/}$ ) редокс-потенціали для тріад дурохінону (D-Q), бензохінону-1,4, 2,5-дихлорбензохінону-1,4

Введення метильних груп у кільце хінону призводить до зменшення електрофільності останнього. Так, значення лінійно знижуються з ростом числа метильних радикалів у хіноновому кільці від одного до чотирьох [176], що ускладнює перехід електронів на Q з утворенням Q<sup>•-</sup>. Значення  $\Delta E^{0'}$  для хлорзаміщених хінонів стають більш позитивними зі збільшення кількості атомів хлору в хіноновому кільці і змінюються від +99 mV до +650 mV при переході від бензохінону-1,4 до тетрахлорбензохінону-1,4 [176].

Крім реакції диспропорціонування (2.27) семихінонні радикали у водному середовищі схильні до полімеризації під дією кислот і основ [175]. Це збільшує число імовірних продуктів, які можуть утворюватися при глибокому окисненні QH<sub>n</sub>. Однак у літературі відсутні достовірні дані про кількісний вихід полімерних продуктів, який за оцінками не перевищує 5–10 %.

Потенційно важливою для процесу автоокиснення QH<sub>m</sub> є реакція (2.41) [174, 176, 190, 191].



Використовуючи одноелектронні редокс-потенціали для хінонів, можна визначити  $K_{2.41}$  (рівняння (2.42)), яка залежить від структури семихінонів. Наприклад, для бензосемихінону і дурсемихінону, з рівняння (2.42),  $K_{2.41}$  становлять  $2 \cdot 10^{-5}$  і 26, відповідно.

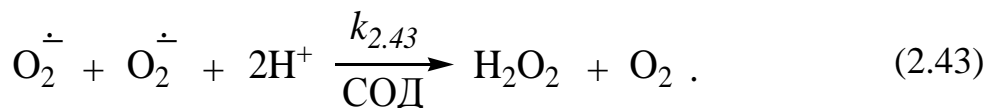
$$E^{0'}(\text{O}_2/\text{O}_2^{\dot{-}}) - E^{0'}(\text{Q}/\text{Q}^{\dot{-}}) = \frac{RT}{F} \cdot \ln K. \quad (2.42)$$

Радикали семихінонів, до складу яких входять електронно-акцепторні групи, є більш стійкими до кисню порівняно з тими, які містять електронно-донорні групи [251]. Це не узгоджується з тим, що електронно-акцепторні замісники роблять гідрохінон більш сприйнятливим до автоокиснення [176, 252]. Така невідповідність пояснюється тим, що багатоатомні феноли, семихінони яких легко продукують  $\text{O}_2^{\dot{-}}$ -радикали за реакцією (2.41), будуть самі відносно стабільними щодо  $\text{O}_2$ . А семихінони, що повільно взаємодіють з  $\text{O}_2$ , утворюються з 1,4-дигідроксibenzenів, які відносно легко з ним реагують [176].

Оскільки  $\text{O}_2$  незаряджений, теорія Маркуса передбачає, що константи швидкості реакції з  $\text{O}_2$  будуть корелювати з вільною енергією реакції. Залежність  $\ln k_{2.41}$  від  $E^{0'}(\text{Q}/\text{Q}^{\dot{-}})$  має параболічну форму, що, головним чином, узгоджується з теорією Маркуса [239]. На ній з безлічі пар можна виділити дві групи, для кожної з яких спостерігаються близькі до лінійної залежності. Точка перетину двох прямих близька до значення  $E^{0'}(\text{Q}/\text{Q}^{\dot{-}}) = -155 \text{ mV}$  [176].

Якщо  $E(\text{Q}/\text{Q}^{\dot{-}})$  хінону менше, ніж одноелектронний редокс-потенціал  $\text{O}_2$ , наприклад, у разі мітоміцину С, адриаміцину і менадіону [176], то стан рівноваги реакції (2.41) буде зміщений вправо, сприяючи утворенню  $\text{O}_2^{\dot{-}}$ . Застосовуючи дані для вище зазначених двох груп, кожна з яких описується лінійною залежністю в координатах  $\ln k_{2.41}$  від  $E^{0'}(\text{Q}/\text{Q}^{\dot{-}})$ , можна оцінити  $k_{2.41}$  для різних семихінонів, якщо відомі значення  $E^{0'}(\text{Q}/\text{Q}^{\dot{-}})$ . Наприклад, для 2,5-дихлорбензосемихінону-1,4; 2,3,5,6-тетрахлорбензосемихінону-1,4 та антрасемихінону  $k_{2.41}$  дорівнює 0.7, 0.003 і  $5 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ , що узгоджується зі значеннями  $E^{0'}(\text{Q}/\text{Q}^{\dot{-}}) = +470, +648$  і  $-445 \text{ mV}$ . Таким чином, константи швидкості утворення  $\text{O}_2^{\dot{-}}$ -радикалів у реакції (2.41) можуть відрізнятися у крайньому разі на 11 порядків [141]. На відміну від семихінонів монооксибензильні радикали не реагують з  $\text{O}_2$  [253].

Фермент супероксиддисмутаза (СОД) каталізує диспропорціонування  $\text{O}_2^{\dot{-}}$ -радикалів за реакцією (2.43) з константою  $2.4 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  [193],  $2 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  [4]. Тому введення СОД у реакційну суміш у процесі автоокиснення  $\text{QH}_m$  може змінювати швидкості реакцій (2.34), (2.36) і (2.41). Вплив цього ферменту на автоокиснення  $\text{QH}_m$  фіксується як в кінетиці поглинання кисню, так і в ХЛ. Воно може бути як стимулюючим, так і інгібуючим, і залежить від концентрації ферменту, досягаючи при певних його значеннях насичення [190].



Добавки СОД знижують швидкість поглинання  $\text{O}_2$  при автоокисненні  $p\text{-QH}_2$ , однак на кінетику окислення  $o\text{-QH}_2$  вони не впливають (рис. 2.18).

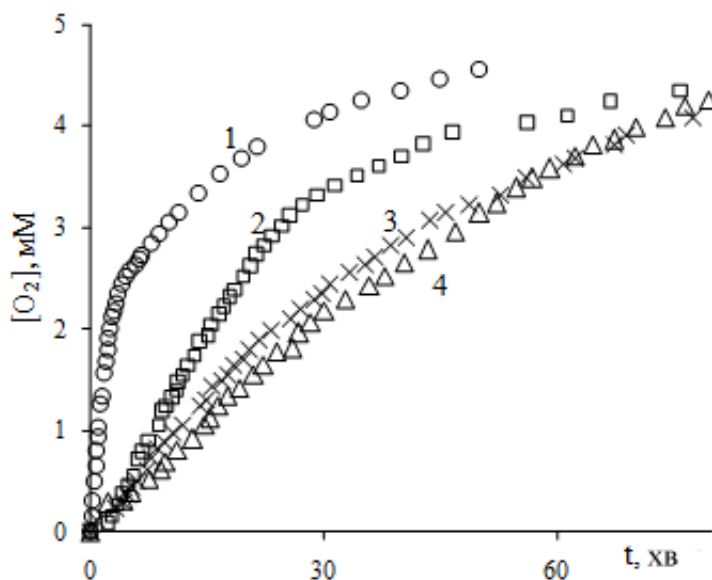


Рис. 2.18 Кінетичні криві поглинання кисню при автоокисненні  $p\text{-QH}_2$  і  $o\text{-QH}_2$ .  $[\text{QH}_2]_0 = 5.0$  мМ; рН 9.2;  $T = 308$  К. Активність фермента  $1.0 \cdot 10^4$  У/мл: 1. і 2. –  $p\text{-QH}_2$  без і в присутності СОД; 3. і 4. –  $o\text{-QH}_2$  у присутності і без СОД

При інгібованому СОД автоокисненні  $\text{QH}_m$  реакція (2.43), в якій  $\dot{\text{O}}_2^-$ -радикали дисмутують у ферментативному процесі, конкурує з процесами їхнього неферментативного витрачання, наприклад, у реакціях (2.34), (2.36) і (2.41) [190].

Таким чином, при рівній активності СОД у різних реакційних сумішах, її вплив на кінетику процесу буде більш вираженим у тій системі, в якій квазістаціонарна концентрація  $\dot{\text{O}}_2^-$ -радикалів буде вища. Вплив СОД можливо був би більш значним, проте, згідно з [193], фермент зберігає свою активність у межах рН 5.0 – 9.5. У лужних середовищах його активність буде значно нижча, ніж при оптимумі рН.

Введення СОД у реакційну систему проявляється і в кінетиці ХЛ-світіння при автоокисненні  $\text{QH}_m$ , однак добавки ферменту залежно від умов дослідження можуть як знижувати, так і посилювати ХЛ-світіння (рис. 2.19).

Справжні причини такої неоднозначності до кінця не зрозумілі, але одна з них може бути в тому, що добавки СОД з одного боку зменшують квазістаціонарну концентрацію радикалів  $\dot{\text{O}}_2^-$ , а з іншого – збільшують швидкість утворення продукту реакції їх дисмутації –  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Перше гасить ХЛ, друге – буде її посилювати через реакцію  $\text{H}_2\text{O}_2$  з хінонами, що протікає з ХЛ-світінням, як було показано у спеціальних дослідженнях.

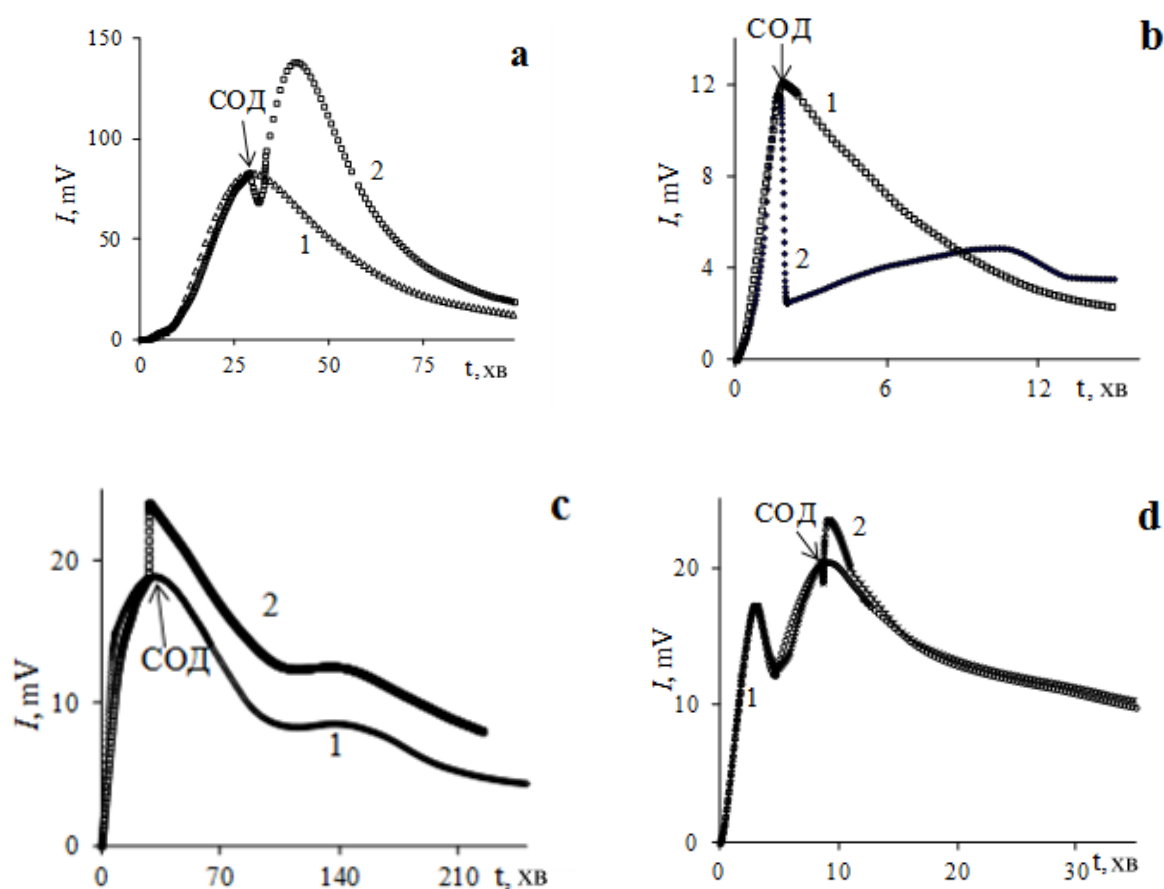


Рис. 2.19 Вплив СОД на ХЛ при автоокисненні  $\text{QH}_m$ : 1. – за відсутності, 2. – в присутності СОД. Момент додавання ензиму позначено стрілкою:

- a)  $[\text{p-QH}_2]_0 = 5.0 \text{ mM}$ ,  $\text{pH } 8.0$ ,  $1.0 \cdot 10^4 \text{ U/мл}$ ;
- b)  $[\text{PG}]_0 = 25 \text{ мкМ}$ ,  $\text{pH } 9.2$ ,  $1.2 \cdot 10^3 \text{ U/мл}$ ;
- c)  $[\text{o-QH}_2]_0 = 5.0 \text{ mM}$ ,  $\text{pH } 9.2$ ,  $1.0 \cdot 10^4 \text{ U/мл}$ ;
- d)  $[\text{p-QH}_2]_0 = 5.0 \text{ mM}$ ,  $\text{pH } 9.2$ ,  $1.0 \cdot 10^4 \text{ U/мл}$ ,  $T=308 \text{ K}$

Для підтвердження цієї гіпотези була досліджена система, в якій замість СОД були взяті іони  $\text{Cu}^{2+}$ , як найпростіша модель реакційного центру цього ферменту. Як з'ясувалося, сульфат міді (II) дійсно впливає на кінетику поглинання  $\text{O}_2$  і ХЛ при автоокисненні  $\text{QH}_m$ . На відміну від СОД, отриманий однозначний ефект гасіння ХЛ (рис. 2.20) і зниження швидкості поглинання  $\text{O}_2$  (рис. 2.21). Інгібуючий ефект сульфату міді (II) пов'язаний з впливом на процес катіона солі, оскільки сульфат, хлорид і ацетат міді (II) діють однаково.

Швидкість поглинання  $\text{O}_2$  знижується зі збільшенням концентрації сульфату міді (II) і підвищується з ростом концентрації  $\text{QH}_2$  (рис. 2.21).

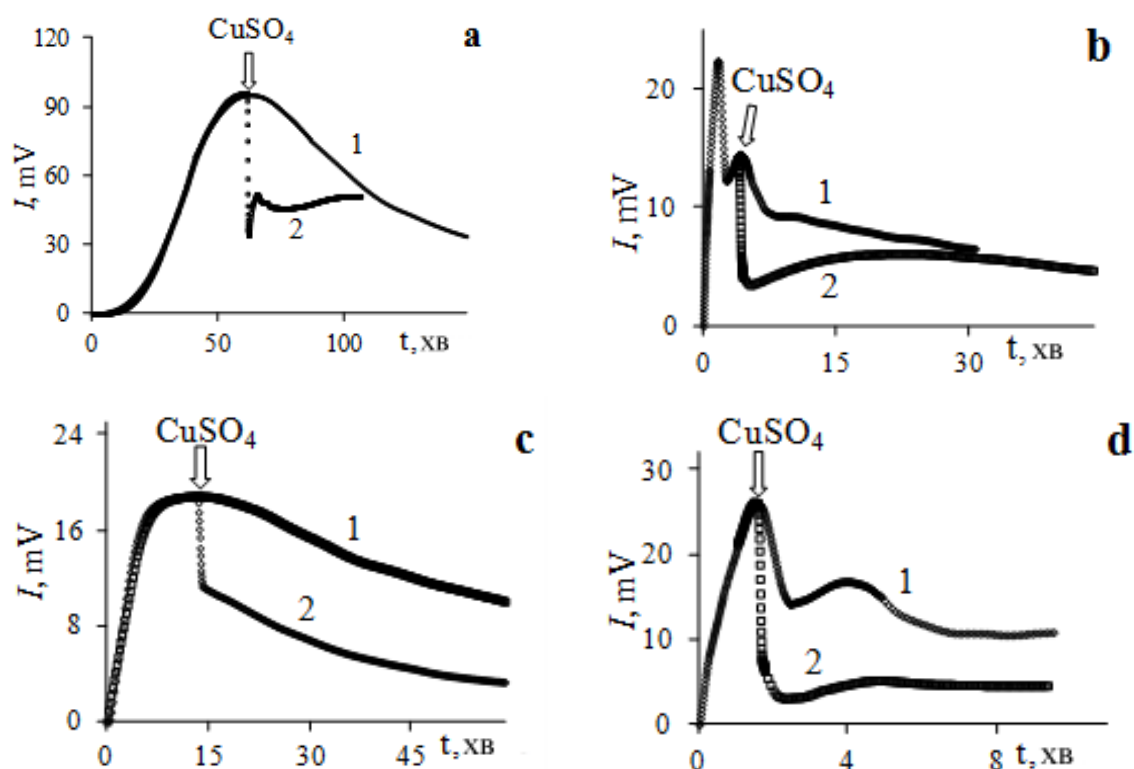


Рис. 2.20 Вплив сульфату міді (II) на ХЛ при автоокисненні  $\text{QH}_2$ . Момент додавання інгібітора позначено стрілкою. **1.** – за відсутності  $\text{CuSO}_4$ ; **2.** – у присутності  $\text{CuSO}_4$ :

- a)  $\text{pH } 7.6$ ,  $[\text{p-QH}_2]_0 = 10.0 \text{ mM}$ ,  $[\text{CuSO}_4]_0 = 0.5 \text{ mM}$ ;
- b)  $\text{pH } 9.9$ ,  $[\text{p-QH}_2]_0 = 5.0 \text{ mM}$ ,  $[\text{CuSO}_4]_0 = 0.5 \text{ mM}$ ;
- c)  $\text{pH } 9.9$ ,  $[\text{o-QH}_2]_0 = 5.0 \text{ mM}$ ,  $[\text{CuSO}_4]_0 = 0.7 \text{ mM}$ ;
- d)  $\text{pH } 9.9$ ,  $[\text{p-QH}_2]_0 = 5.0 \text{ mM}$ ,  $[\text{CuSO}_4]_0 = 0.5 \text{ mM}$ .

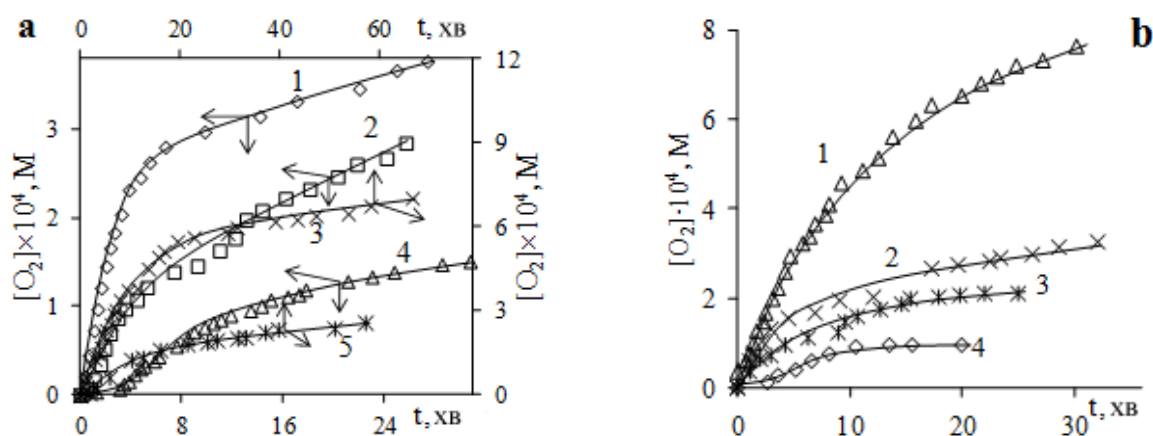


Рис. 2.21 Кінетичні криві поглинання кисню при автоокисненні  $\text{QH}_2$  у присутності  $\text{CuSO}_4$ .  $T=303 \text{ K}$ :

- a)  $[\text{QH}_2]_0 = 0.5 \text{ mM}$ ,  $[\text{CuSO}_4]_0$ : 1. –  $\text{p-QH}_2$ , без солі; 2. –  $\text{p-QH}_2$ ,  $50 \text{ мкМ}$ ; 3. –  $\text{o-QH}_2$ , без солі; 4. –  $\text{p-QH}_2$ ,  $150 \text{ мкМ}$ ; 5. –  $\text{o-QH}_2$ ,  $200 \text{ мкМ}$ ;
- b)  $[\text{CuSO}_4]_0 = 0.8 \text{ mM}$ ,  $[\text{p-QH}_2]_0$ : 1. –  $1.0 \text{ mM}$ ; 2. –  $0.51 \text{ mM}$ ; 3. –  $0.4 \text{ mM}$ ; 4. –  $0.2 \text{ mM}$

Солі міді (II) зменшують інтенсивність ХЛ-світіння як при їх додаванні до  $QH_m$  до початку процесу, так і при введенні на максимумі інтенсивності ХЛ (рис. 2.20 і 2.23). В експериментах з  $p$ - $QH_2$  і  $o$ - $QH_2$ , при використанні в якості гасників ХЛ сульфату міді (II), рівняння (2.38) не виконується (рис. 2.23b). Це вказує на те, що іони  $Cu^{2+}$  знижують інтенсивність ХЛ за механізмом хімічного гасіння, тобто виступають у ролі інгібітора.

Порядки реакції, які визначали за методом Вант-Гоффа (рис. 2.22), за  $p$ - $QH_2$  і  $CuSO_4$  у карбонатному буфері при рН 9.9 становлять 1 і 0.5, а в тих же умовах за  $o$ - $QH_2$  і  $CuSO_4$  дорівнюють 1 і –1 відповідно.

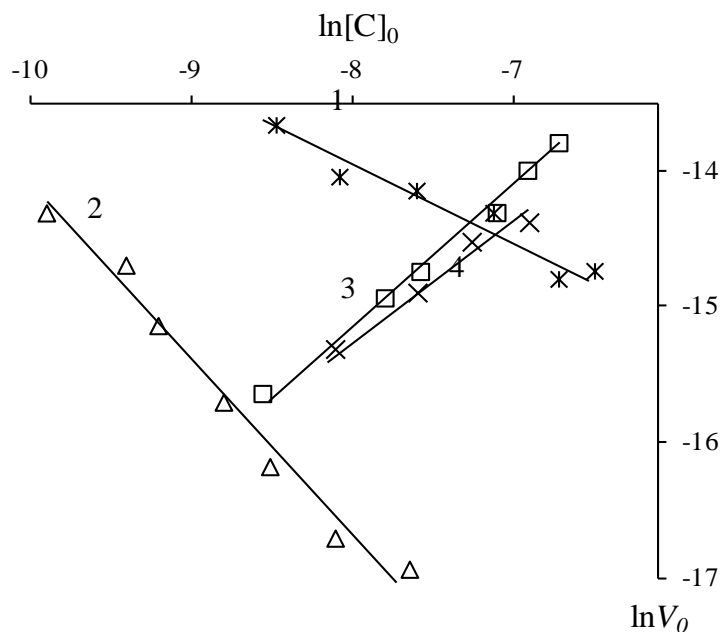
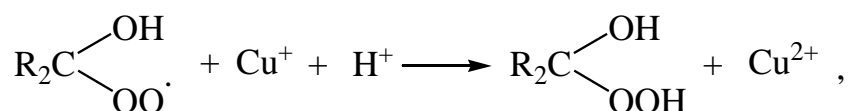
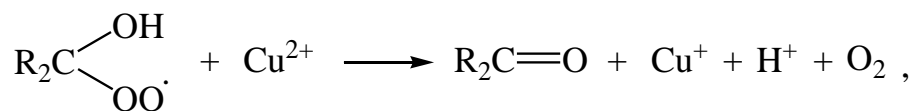


Рис. 2.22 Залежність початкової швидкості поглинання кисню від концентрації  $QH_2$  і  $CuSO_4$  в логарифмічних координатах:

1. –  $[CuSO_4]_0$  при  $[p\text{-}QH_2]_0 = \text{const}$ ;
2. –  $[CuSO_4]_0$  при  $[o\text{-}QH_2]_0 = \text{const}$ ;
3. –  $[p\text{-}QH_2]_0$  при  $[CuSO_4]_0 = \text{const}$ ;
4. –  $[o\text{-}QH_2]_0$  при  $[CuSO_4]_0 = \text{const}$ .  $T=303\text{ K}$

У монографії [254] зазначалося, що сульфат і стеарат міді повністю гальмують окислення циклогексанолу. Інгібуюча дія обумовлена здатністю іонів  $Cu^{2+}$  багаторазово обривати ланцюги окиснення за реакціями [254]:



завдяки тому, що  $\alpha$ -гідроксипероксильні радикали виявляють одночасно окисні і відновні властивості.

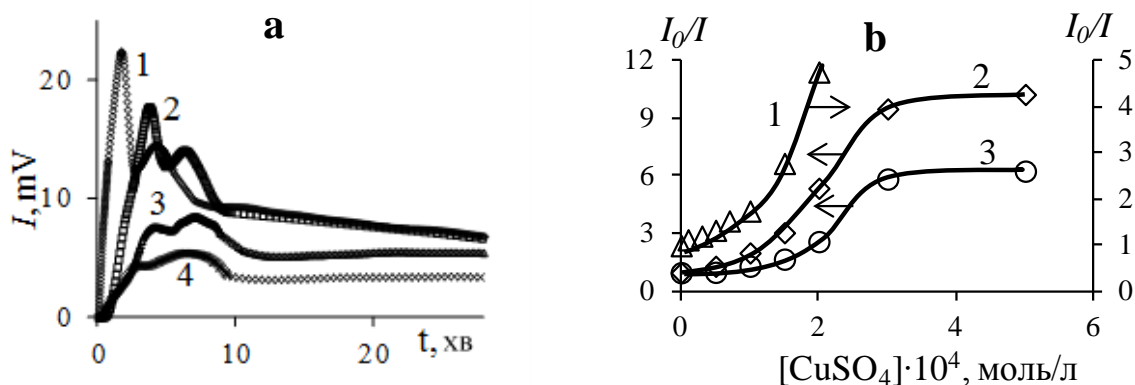
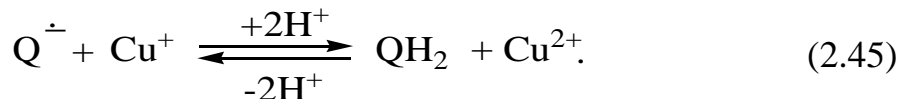
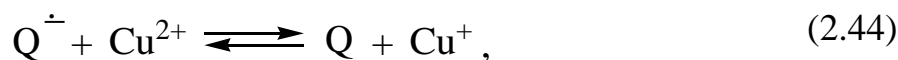


Рис. 2.23 Вплив сульфату міді (II) на ХЛ при автоокисненні QH<sub>2</sub>:

- а)  $[p\text{-QH}_2]_0 = 5.0$  мМ, рН 9.9,  $[CuSO_4]_0$ : 1. – без солі; 2. – 0.05 мМ; 3. – 0.15 мМ; 4. – 0.2 мМ;  
 б) Залежність співвідношення інтенсивності ХЛ від концентрації інгібітора, рН 9.9: 1. –  $o$ -QH<sub>2</sub>; 2. –  $p$ -QH<sub>2</sub> для першого максимуму; 3. –  $p$ -QH<sub>2</sub> для другого максимуму

З метою з'ясування механізму інгібуючої дії іонів  $Cu^{2+}$  проведено термодинамічний аналіз окисної і відновлювальної здатності семіхінонних радикалів у реакціях:



Стандартні одноелектронні редокс-потенціали для окислювально-відновних пар  $Cu^{2+}/Cu^+$ ;  $p\text{-Q}/p\text{-Q}^{\cdot-}$  і  $p\text{-Q}^{\cdot-}/p\text{-QH}_2$  дорівнюють відповідно: +153 mV [255]; +78 mV [190] і +448 mV [190]. Термодинамічна оцінка ймовірностей протікання реакцій (2.44) і (2.45) виконана з використанням рівняння Нернста [212] (2.46) і (2.47):

$$\Delta E = E_{Cu^{2+}/Cu^+}^{0'} - E_{p\text{-Q}/p\text{-Q}^{\cdot-}}^{0'} + \frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{[Cu^{2+}] \cdot [p\text{-Q}^{\cdot-}]}{[Cu^+] \cdot [p\text{-Q}]}, \quad (2.46)$$

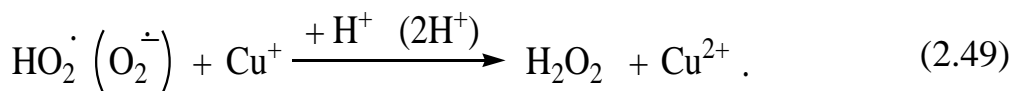
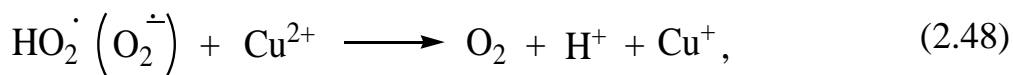
$$\Delta E = E_{p\text{-Q}^{\cdot-}, 2H^+/p\text{-QH}_2}^{0'} - E_{Cu^{2+}/Cu^+}^{0'} + \frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{[Cu^+] \cdot [p\text{-Q}^{\cdot-}]}{[Cu^{2+}] \cdot [p\text{-Q}]}. \quad (2.47)$$

Розрахунки виконані для початкових концентрацій  $p\text{-QH}_2$  і  $Cu^{2+}$  рівних 5.0 мМ і 0.1 мМ, відповідно. За такої початкової концентрації  $p\text{-QH}_2$  максимальна концентрація  $p\text{-Q}$  у реакційному середовищі досягає значень 1.0 мМ і 0.5 мМ при рН 9.2 і 8.0, відповідно. Згідно з [191, 213], стаціонарна концентрація семіхінонних радикалів у реакційному середовищі при автоокисненні гідрохінонів у воді знаходиться в межах  $10^{-6}$  –  $10^{-7}$  М. Розглянемо два випадки

рівноважних концентрацій учасників реакції автоокиснення  $p\text{-QH}_2$  в досліджуваній системі, в яких змінюється тільки співвідношення концентрацій  $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$ :

1.  $[\text{Cu}^{2+}]$ ,  $[\text{Cu}^+]$ ,  $[p\text{-Q}]$  і  $[p\text{-Q}^\bullet]$  дорівнюють відповідно 0.1, 0.01, 1.0 і 0.001 mM;
2.  $[\text{Cu}^{2+}]$ ,  $[\text{Cu}^+]$ ,  $[p\text{-Q}]$  і  $[p\text{-Q}^\bullet]$  дорівнюють відповідно 0.1, 0.001, 1.0 і 0.001 mM.

Розраховані за рівнянням (2.46) і (2.47) значення  $\Delta E$  становлять  $-45$  і  $+15$  mV, а також  $+50$  і  $-12$  mV, для першого і другого випадків, відповідно. Отже, чим нижчий одноелектронний потенціал і вище співвідношення концентрацій у системі, тим сильніше стан рівноваги реакції (2.44) буде зміщений вліво, тобто, тим більш від'ємною буде величина вільної енергії Гіббса для прямої реакції (2.44). Однак реакція (2.45) є також термодинамічно дозволеною, а, отже, іони міді можуть каталізувати процес дисмутації семіхінонних радикалів. Іони міді володіють і супероксиддисмутазною активністю, тобто здатністю переводити  $\text{HO}_2^\bullet$ - або  $\text{O}_2^\bullet$ -радикали в менш активні молекулярні продукти за реакціями:



Таким чином, ефект гальмування автоокиснення  $\text{QH}_m$  солями двохвалентної міді обумовлений зниженням квазістаціонарної концентрації  $\text{Q}^\bullet$  і  $\text{O}_2^\bullet$  аніонрадикалів у реакційній суміші за рахунок участі іонів  $\text{Cu}^{2+}$  в реакціях (2.44), (2.45), (2.48) і (2.49).

### 2.2.5 Вплив складу буферного розчину на кінетику хемілюмінесценції

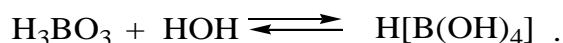
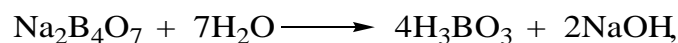
Механізм автоокиснення  $\text{QH}_m$  у водному середовищі радикальний. Тому для його дослідження були взяті буферні системи (карбонатна, фосфатна і боратна), до складу яких входять тільки неорганічні компоненти. Очікувалася відсутність впливу іонів цих розчинів на кінетику реакції. Однак не всі з обраних буферних розчинів виявилися хімічно інертними по щодо учасників процесу.

Істотний вплив на окиснення  $\text{QH}_m$  спричиняють компоненти боратного буфера. При введенні  $o\text{-QH}_2$  і  $4\text{CH}_3\text{-}o\text{-QH}_2$  в цей буфер (рН 9.3) швидкість поглинання кисню знижується більше, ніж на порядок, а ХЛ відсутня, що не спостерігається при їхньому окисненні в карбонатному буфері (рис. 2.4). Швидкість автоокиснення  $p\text{-QH}_2$ , однак, практично не змінюється при переході від карбонатного до боратного буфера. Таким чином, значне зниження

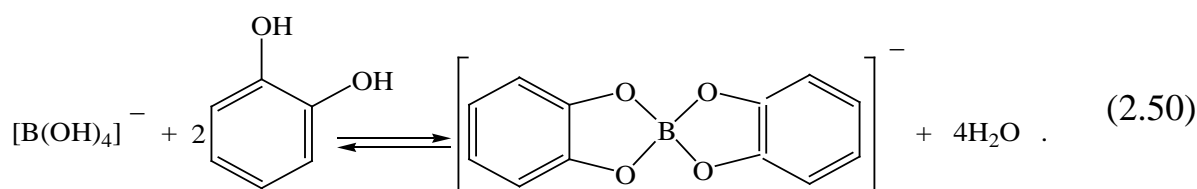


реакційної здатності щодо кисню в боратному буфері характерне для  $\text{QH}_m$  з *орто*-розташуванням  $\text{OH}$ -груп.

Вплив боратного буфера на автоокиснення  $o\text{-QH}_2$  і  $4\text{CH}_3\text{-}o\text{-QH}_2$  можна пояснити утворенням стійких молекулярних продуктів при взаємодії цих фенолів з компонентами буферної системи. Одним з компонентів цього буфера є тетрагідроксиборат-іон, що утворюється при приготуванні розчину [256]:



У літературі є відомості про те, що іони  $[\text{B}(\text{OH})_4]^-$  можуть взаємодіяти з багатоатомними спиртами і вуглеводами [257, 258], в яких  $\text{OH}$ -групи мають віцинальне розташування, а також із двохатомними фенолами [259],  $\text{OH}$ -групи яких мають *орто*-розташування за реакцією (2.50). Це призводить до зменшення концентрації вільного  $\text{QH}_2$ , а, отже, до зниження швидкості його окислення.



З огляду на вище зазначене, інгібуючий ефект борат-іонів при автоокисненні  $\text{QH}_2$  з *орто*-розташованими гідроксильними групами буде визначатися співвідношенням концентрацій  $\text{QH}_2/[\text{B}(\text{OH})_4]^-$  і значенням  $K_a$  реакції (2.50). Дійсно, при збільшенні концентрації тетраборату натрію (рис. 2.24) і борної кислоти інтенсивність ХЛ-світіння зменшується. Злам на кривій залежності  $I_{\text{max}}$  від концентрації тетраборату спостерігається при співвідношенні  $[4\text{CH}_3\text{-}o\text{-QH}_2] / [\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7] \approx 4$ , тобто при відношенні  $[4\text{CH}_3\text{-}o\text{-QH}_2] / [\text{H}[\text{B}(\text{OH})_4]] \approx 1$  (рис. 2.24а).

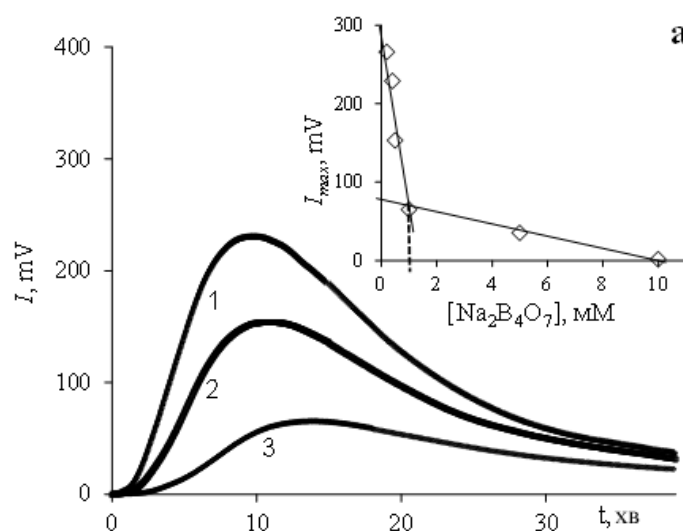
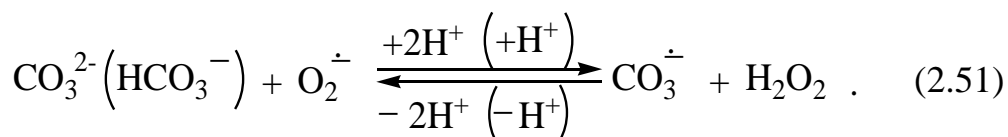


Рис. 2.24 Вплив добавок тетраборату натрію на ХЛ при автоокисненні  $4\text{CH}_3\text{-}o\text{-QH}_2$  ( $C_0 = 5.0$  mM); pH 9.2, КБС.  $T = 308$  K:  $[\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7]_0$  mM: 1. – 0.4; 2. – 0.5; 3. – 1.0: а) залежність екстремума на кривих ХЛ від  $[\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7]_0$

У деяких роботах [193, 260] вказується на те, що іони карбонатного буфера можуть посилювати ХЛ. Так, реакція між  $\text{CO}_3^{2-}$  і сильним окислювачем у лужному розчині супроводжується ХЛ [261]. Ймовірними емітерами ХЛ-світіння можуть бути димерні комплекси триплетно-збуджених молекул вуглекислого газу, які генеруються в реакції рекомбінації карбонатних аніон-радикалів ( $\text{CO}_3^{\bullet-}$ ) [261]. Останні утворюються в реакції (2.51) [96], яка є оборотною, згідно з [261].



Звідси, іони  $\text{CO}_3^{2-}$  і  $\text{HCO}_3^-$  можуть знижувати квазістаціонарну концентрацію  $\text{O}_2^{\bullet-}$ -радикалів у реакційній суміші, впливаючи на швидкість реакції (2.22) і на інтенсивність ХЛ-світіння. Мабуть, з цієї причини ХЛ при автоокисненні  $p$ -QH<sub>2</sub> в карбонатному буфері нижче, ніж у фосфатному і боратному (рис. 2.5). Оскільки значення  $I_{\text{max}}$  найвище при автоокисненні  $p$ -QH<sub>2</sub> в розчині фосфатної солі (рис. 2.5), то вплив її іонів на кінетику ХЛ відсутній або є мінімальним.

Гідрокарбонат-іони в полярних середовищах реагують з  $\text{H}_2\text{O}_2$  за реакцією [262]:



Утворення пероксимоникарбонат-іона ( $\text{HCO}_4^-$ ) при 298 К і нейтральному рН у водному середовищі або водно-спиртових сумішах відбувається відносно швидко. Наприклад, у суміші етанол/вода (1.76: 1) період напівперетворення становить 300 с, а ефективна константа рівноваги реакції (2.52) дорівнює  $27 \pm 1$  [261]. Оскільки одним із продуктів автоокиснення багатоатомних фенолів є  $\text{H}_2\text{O}_2$ , то при здійсненні цього процесу в карбонатному буфері може утворюватися  $\text{HCO}_4^-$ . Його максимальна концентрація при автоокисненні  $p$ -QH<sub>2</sub> в цьому буфері при рН 9.2 і 298 К, згідно з розрахунками, може становити  $4.4 \cdot 10^{-5}$  М. У таких кількостях  $\text{HCO}_4^-$  може впливати на кінетику автоокиснення QH<sub>нв</sub>, але даних про його реакційну здатність стосовно QH<sub>м</sub> або Q в літературі не знайдено.

### 2.2.6 Реакції глибокого окиснення багатоатомних фенолів

Первинними продуктами окисної деструкції багатоатомних фенолів є хінони. Вони широко представлені в навколишньому світі і виступають компонентами електронно-транспортних ланцюгів і білків класу карбоксилаз [263, 264]. Серед них є забруднюючі агенти [265] й активні протипухлинні препарати [266]. Хінони виявлені в міжзоряному пилу [267], у зв'язку з чим були віднесені до найстаріших органічних молекул Всесвіту.

У водному середовищі, на відміну від органічного, хінони не стійкі і зазнають подальші окисні перетворення (див. рис. 2.3, а також [175, 177]). Однак ці перетворення здійснюються з меншою швидкістю, ніж окиснення їхніх попередників – багатоатомних фенолів. Наприклад, при автоокисненні  $p$ -QH<sub>2</sub> початкова швидкість поглинання кисню і швидкість на ділянці кривої, на якій кількість поглиненого O<sub>2</sub> перевищує початкову концентрацію субстрату, становить  $1.2 \cdot 10^{-5}$  і  $4.5 \cdot 10^{-7}$  М·с<sup>-1</sup>, відповідно. Це узгоджується з даними, отриманими для первинного продукту окислення  $p$ -QH<sub>2</sub> –  $p$ -бензохінону, оскільки швидкість автоокиснення останнього нижча (табл. 2.2). Окисні перетворення  $p$ -Q супроводжуються ХЛ-світінням (рис. 2.25), однак інтенсивність його нижче, ніж при автоокисненні  $p$ -QH<sub>2</sub>.

Окислювально-відновні властивості Q пов'язані з електрофільністю карбонільних груп і поляризацією подвійних зв'язків під дією нуклеofilів:

- а) реакції нуклеофільного приєднання, що супроводжуються відновленням або окисненням хінонового кільця;
- б) процеси, що включають тільки перенесення електронів.

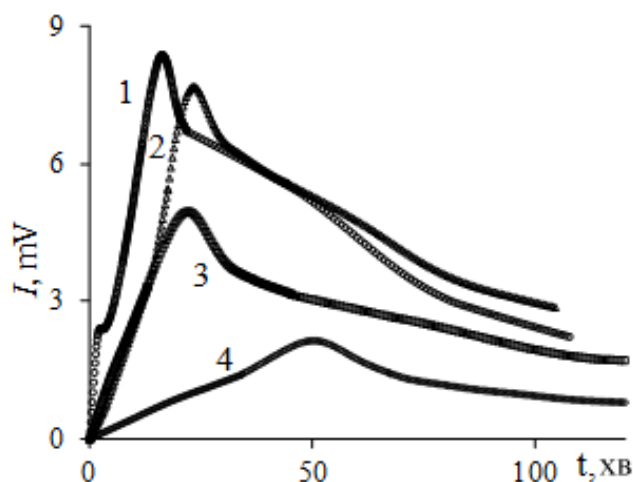
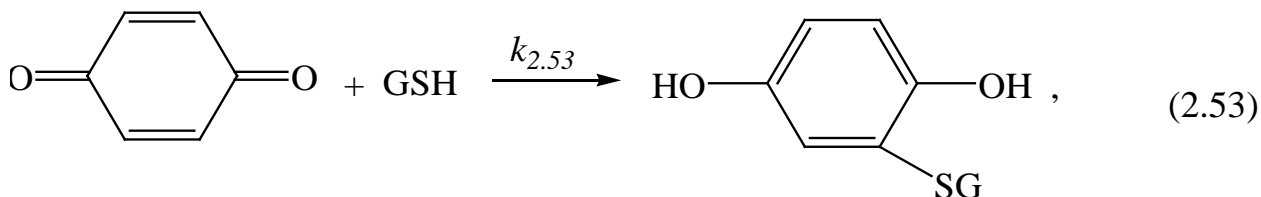
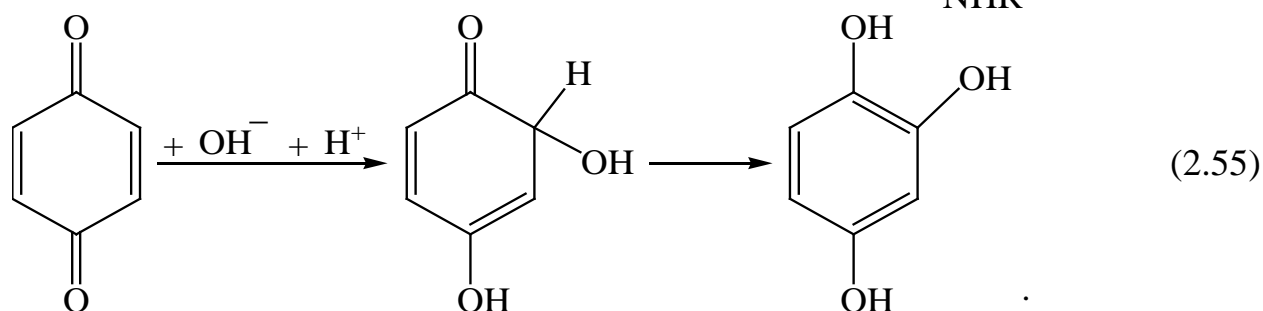
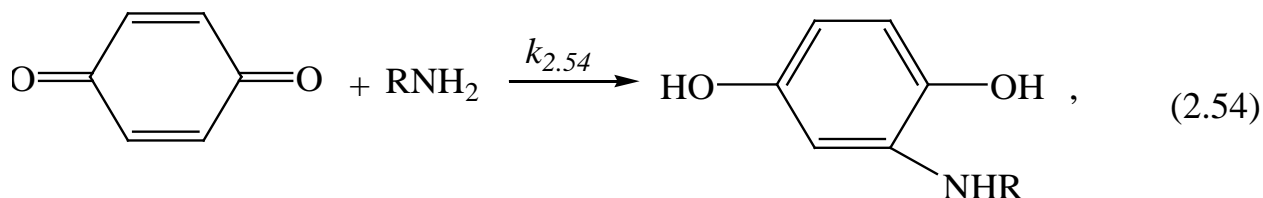


Рис. 2.25 Кінетичні криві ХЛ при автоокисненні  $p$ -Q. рН 9.2. Т = 308 К:  
 1. –  $[p\text{-Q}]_0 = 5.0$  мМ,  $[p\text{-QH}_2]_0 = 1.0$  мМ; 2. –  $[p\text{-Q}]_0 = 5.0$  мМ;  
 3. –  $[p\text{-Q}]_0 = 1.6$  мМ; 4. –  $[p\text{-Q}]_0 = 0.5$  мМ

Шляхом відновного приєднання (реакція Міхаеля) з хінонами реагують меркаптани (2.53), аміни (2.54), гідроксид-іон (2.55) та інші нуклеофільні агенти [177, 268].





Новоутворений за реакцією (2.53) багатоатомний фенол GS-H<sub>2</sub>Q може окислюватися до хінону GS-Q, з подальшим відновлювальним приєднанням, що призводить до (GS)<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>Q. Такий окисно-відновний цикл може відбуватися доти, поки всі чотири «вільних» положення бензохінону не будуть зайняті [252]. Значення  $k_{2.53}$  при приєднанні першої молекули тіолу до хінону становить приблизно  $10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  при pH = 6.0 [269], а при pH = 7.0 зростає на порядок [239]. Швидкості приєднання глутатіону до бензохінону-1,4, метил-, 2,6-диметил-, 2,5-диметил-, 2,3,5-триметилбензохінону-1,4 становлять  $2.0 \cdot 10^6$ ,  $1.9 \cdot 10^5$ ,  $1.7 \cdot 10^3$ ,  $6.7 \cdot 10^2$ ,  $1.6 \cdot 10^2 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ , відповідно, а реакція з тетраметилбензохіноном-1,4 – не фіксується [270]. Аміни – слабші нуклеофіли, ніж тіолат-іони. Значення  $k_{2.54}$ , якщо нуклеофілами є амінокислоти, дорівнює  $10^{-2} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  при pH 7.4 [271]. Тобто відмінності в константах швидкості реакцій нуклеофільного приєднання до хінонів органічних тіолів і амінів складають вісім порядків.

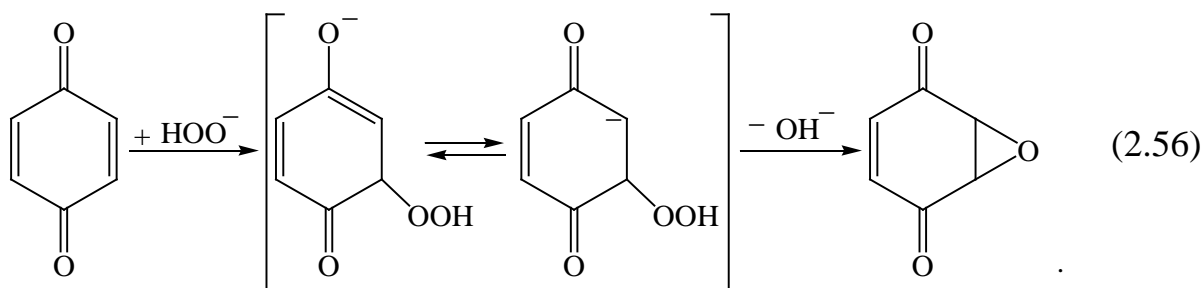
Бензохінони-1,4 і нафтохінони-1,2 нестабільні у присутності H<sub>2</sub>O, тоді як нафтохінони-1,4 і антрахінони-9,10 проявляють меншу реакційну здатність стосовно неї [272]. Приєднання H<sub>2</sub>O до бензохінону-1,4 і нафтохінону-1,2 призводить до утворення відповідних багатоатомних фенолів, які в подальшому піддаються автоокисненню [177]. Наприклад, гідроксигідрохінон, що утворюється в реакції (2.55) з бензохінону-1,4, окиснюється до гідроксибензохінону.

Хінони, які мають більш високі редокс-потенціали, будуть реагувати швидше з нуклеофілами [273]. В ряду заміщених *p*-бензохінонів, що мають електронно-донорні заступники, такі як -CH<sub>3</sub>, -OH, -OCH<sub>3</sub>, електронно-акцепторна здатність вуглецевих атомів хінонового кільця селективно зменшується порівняно з незаміщеними. Активність вуглецевих центрів у хіноновому кільці для монозаміщених Q в реакціях нуклеофільного приєднання матиме такий розподіл [177]:

- а) для електронно-акцепторних замісників – C<sub>3</sub>>>C<sub>6</sub>>C<sub>5</sub>;
- б) для електронно-донорних замісників – C<sub>5</sub>>C<sub>6</sub>>C<sub>3</sub>.

Шляхом окисного приєднання з хінонами взаємодіє пероксид водню, реакція (2.56). Швидкість цієї реакції низька при фізіологічних значеннях pH,

оскільки концентрація  $\text{HOO}^-$  така мала, що нею можна знехтувати ( $pK_{a1}$  для  $\text{H}_2\text{O}_2$  становить 11.7 [274], 12.2 [121]). У лужних середовищах цей процес буде конкурувати з приєднанням  $\text{OH}^-$  до хінонів за реакцією (2.55) [189], однак  $\text{HOO}^-$  є більш сильним нуклеофілом, ніж  $\text{OH}^-$  [176]. Епоксиди хінонів також утворюються при взаємодії з деякими аналогами вітаміну К [275]. Швидкість реакції (2.56) залежить від кількості метильних замісників у хіноновому кільці. Вона буде вищою для вакантних бензо-, нафтохінонів-1,4 і обернено пропорційна числу алкільних замісників [276]. Гальмуюча роль  $-\text{CH}_3$ -груп у цьому процесі пояснюється зміною розподілу електронної щільності в Q за рахунок індуктивного ефекту цього замісника [276]. Це підтверджується близькістю констант швидкості другого порядку для епоксидування бензо- і нафтохінону-1,4 ( $0.26 - 0.28 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ), з одного боку, а також 2,6-диметилбензохінону-1,4 і 2-метилнафтохінону-1,4 ( $0.07 - 0.09 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ), з іншого [177]. Епоксиди хінонів є більш стійкими щодо нуклеофільних агентів, ніж попередній Q. Епоксид бензохінону-1,4 є найменш стійким, у воді його оксирановий цикл повільно руйнується з утворенням  $\alpha$ -гідроксихінону [177].



Окисні перетворення  $p$ -Q супроводжуються ХЛ-світінням (див. рис. 2.25). Його інтенсивність збільшується з початковою концентрацією  $p$ -Q. Додавання на початку реакції автоокиснення  $p$ -Q незначних кількостей  $p$ -QH<sub>2</sub> практично не впливає на інтенсивність ХЛ-світіння і час виходу кривих на максимум (рис. 2.25). Однак на кінетичній кривій з'являється додатковий пік. Емітер, який зумовлює появу цього піку, утворюється за реакцією (2.22), оскільки його характеристики практично не відрізняються від тих, які властиві першому піку на кінетичних кривих ХЛ при автоокисненні  $p$ -QH<sub>2</sub> ( $C_0 = 1.0 \text{ mM}$ ) –  $(2.6 \pm 0.3) \text{ хв.}$  і  $(3.9 \pm 0.3) \text{ mV}$ . Розбіжності в ХЛ-кривих обумовлені впливом  $p$ -Q на кінетику окиснення  $p$ -QH<sub>2</sub>.

Екстремум на кривих ХЛ при окисненні  $p$ -Q з'являється пізніше максимуму другого піку при окисненні  $p$ -QH<sub>2</sub>. Швидкість поглинання кисню при окисненні  $p$ -Q також нижча, ніж  $p$ -QH<sub>2</sub> (табл. 2.2). Найімовірніше, при автоокисненні  $p$ -QH<sub>2</sub> утворюється інтермедіат, який сприяє окисній трансформації  $p$ -Q. Такою речовиною може бути  $\text{H}_2\text{O}_2$ . На це вказує те, що криві зміни концентрацій  $p$ -Q і  $\text{H}_2\text{O}_2$  при автоокисненні  $p$ -QH<sub>2</sub> симбатні (рис. 2.3). Одночасне введення в карбонатний буфер  $p$ -Q і  $\text{H}_2\text{O}_2$  призводить до появи додаткового піку на кривих ХЛ, у процесі окисної трансформації  $p$ -Q, інтенсивність якого збільшується з ростом концентрації  $\text{H}_2\text{O}_2$  (рис. 2.26а). Також відбувається

незначне збільшення інтенсивності світіння основного піку і зміщення його за віссю часу в бік початку реакції (рис. 2.26a). При додаванні  $\text{H}_2\text{O}_2$  до розчину  $p$ -Q у двократному надлишку на кривих ХЛ зникає другий пік, а інтенсивність першого піку зростає, тобто  $p$ -Q витрачається тільки в тій реакції, яка йде швидше (рис. 2.26a, кр. 1).

Таким чином, при одночасній наявності в реакційній суміші  $\text{H}_2\text{O}_2$  і  $p$ -Q (при співвідношенні  $\frac{[\text{H}_2\text{O}_2]}{[p-Q]} < 2$ ), перетворення останнього йде за двома напрямками:

- швидке перетворення за рахунок взаємодії з  $\text{H}_2\text{O}_2$ ;
- повільне перетворення без участі  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

Оскільки при автоокисненні  $p$ -QH<sub>2</sub> в реакційній суміші утворюється  $p$ -Q, то можна очікувати вплив добавок  $\text{H}_2\text{O}_2$  на кінетику ХЛ, що підтверджується експериментом (рис. 2.26b).

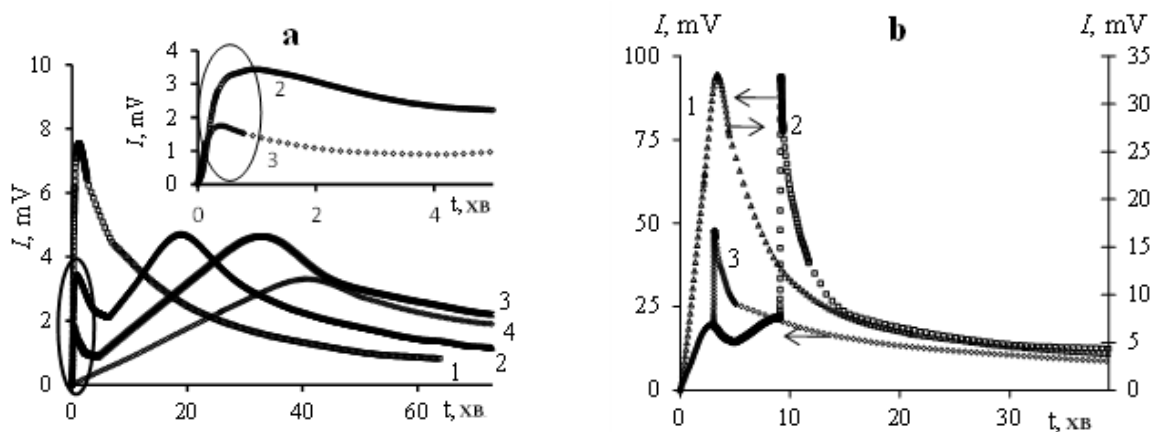


Рис. 2.26 Кінетичні криві ХЛ при окисненні  $p$ -Q і  $p$ -QH<sub>2</sub>. рН 9.2.  $T=308$  К:

- а)  $[p-Q]_0 = 1.0$  мМ,  $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ : 1. – 2.0 мМ; 2. – 1.0 мМ; 3. – 0.34 мМ; 4. – без  $\text{H}_2\text{O}_2$ . (реагенти змішували до початку реакції);
- б)  $[p\text{-QH}_2]_0 = 5.0$  мМ,  $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ : 1. – 2.6 мМ (реагенти змішували до початку реакції); 2. і 3. – 3.8 мМ

Вплив на ХЛ-криві спостерігається при введенні  $\text{H}_2\text{O}_2$  на першому і другому піках (рис. 2.26b, кр. 3 і 2), оскільки  $p$ -Q в обох інтервалах часу присутній у реакційній суміші (рис. 2.3). Цей ефект, мабуть, викликаний швидкою реакцією  $p$ -Q з  $\text{H}_2\text{O}_2$ . При додаванні  $\text{H}_2\text{O}_2$  до початку автоокиснення  $p$ -QH<sub>2</sub> інтенсивність першого піку зростає, а другий зникає (рис. 2.26b, кр. 1). Ці дані узгоджується з наведеними вище експериментами щодо впливу добавок  $\text{H}_2\text{O}_2$  на кінетику окисної трансформації  $p$ -Q, якщо врахувати, що максимальна кількість останнього, що утворюється в реакції автоокиснення  $p$ -QH<sub>2</sub> (рис. 2.3), приблизно у 2,5 рази менше тієї концентрації  $\text{H}_2\text{O}_2$ , яку вводили в реакційну суміш (рис. 2.26b, кр. 1).

Оскільки інтенсивність ХЛ пропорційна швидкості елементарної реакції утворення емітера, то час виходу на другий максимум кривої ХЛ має збігатися

з часом досягнення максимальної швидкості його генерування. Швидкість витрачання  $p$ -Q в реакційній суміші досягає максимального значення через 10 хв, що збігається за часом з другим піком на кривих ХЛ при автоокисненні  $p$ -QH<sub>2</sub> в карбонатному буфері при рН 9.2 (див. рис. 2.27). Кінетичні криві накопичення і витрачання  $p$ -Q і H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> симбатні (рис. 2.3), а, отже, симбатні і швидкості їхнього витрачання. Якщо емітер ХЛ утворюється при взаємодії  $p$ -Q з H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, то швидкість його генерування пропорційна швидкості витрачання  $p$ -Q і, отже, повинна мати місце симбатна залежність між  $-\left(\frac{d[p-Q]}{dt}\right)$  та інтенсивністю ХЛ, що чітко проявляється в експерименті (рис. 2.27). Таким чином, другий пік на кінетичних ХЛ-кривих при автоокисненні  $p$ -QH<sub>2</sub> в карбонатному буфері обумовлений утворенням емітера, який генерується в реакції  $p$ -Q з H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, проте його природа не встановлена.

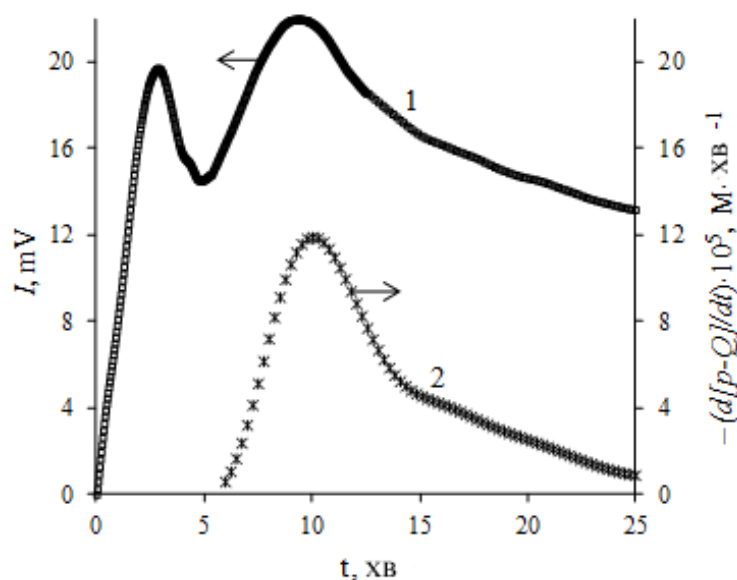
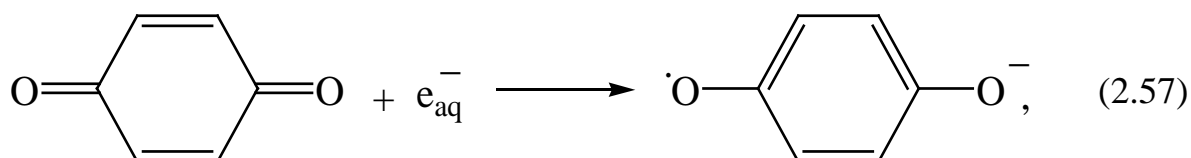
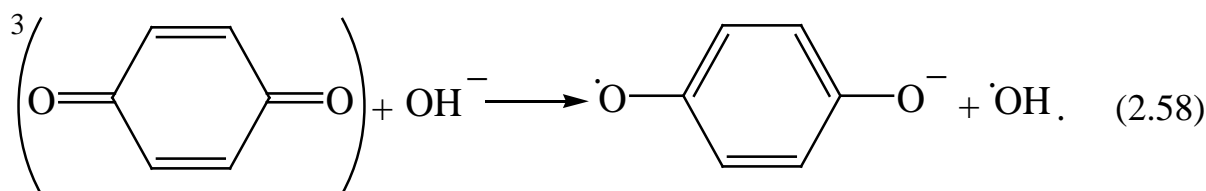


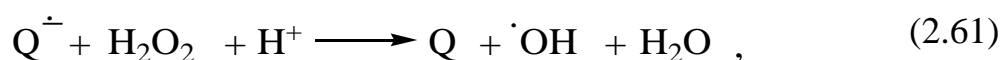
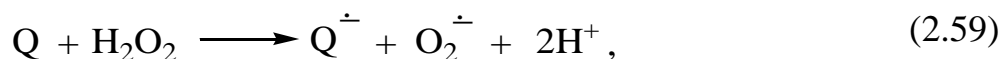
Рис. 2.27 ХЛ-світіння (1) і зміна швидкості витрачання  $p$ -Q (2) при автоокисненні  $p$ -QH<sub>2</sub>. рН 9.2; T = 308 K

До другого типу можна віднести реакції, що ведуть до утворення семихінонів: відновлення хінонів O<sub>2</sub><sup>•-</sup>-радикалами і внаслідок радіолізу (2.57); взаємодія триплетного хінону з відповідними електроно-донорами (2.58) [277]. ЕПР-спектри інтермедіатів, що утворюються при взаємодії O<sub>2</sub><sup>•-</sup>-радикалів з  $n$ -бензохіноном (2.41) і гідрохіноном (2.11), ідентичні [278]. Тобто у цих реакціях утворюється один і той же семихінон, а O<sub>2</sub><sup>•-</sup>-радикал діє і як окисник, і як відновлюючий агент.





Можливі одноелектронні реакції за участю  $\text{QH}_2$ ,  $\text{Q}^\bullet$  і  $\text{Q}$  наведені нижче [172, 177, 279, 280]:



Можливість їхнього самодовільного протікання у водному середовищі була оцінена за допомогою рівняння Нернста. Розрахунки для реакцій (2.59), (2.60), (2.61) і (2.62), у тому випадку, коли в якості одного з реагентів виступає  $p\text{-QH}_2$ ,  $p\text{-Q}^\bullet$  або  $p\text{-Q}$ , виконані відповідно за рівняннями (2.63), (2.64), (2.65) і (2.66).

$$\Delta E = E_{\text{Q}/\text{Q}^\bullet}^{0'} - E_{\text{O}_2^\bullet, 2\text{H}^+/\text{H}_2\text{O}_2}^{0'} + \frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{[\text{Q}] \cdot [\text{H}_2\text{O}_2]}{[\text{Q}^\bullet] \cdot [\text{O}_2^\bullet]}, \quad (2.63)$$

$$\Delta E = E_{\text{H}_2\text{O}_2, \text{H}^+/\cdot\text{OH}, \text{H}_2\text{O}}^{0'} - E_{\text{Q}^\bullet, 2\text{H}^+/\text{QH}_2}^{0'} + \frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{[\text{QH}_2] [\text{H}_2\text{O}_2]}{[\cdot\text{OH}] \cdot [\text{H}_2\text{O}] \cdot [\text{Q}^\bullet]}, \quad (2.64)$$

$$\Delta E = E_{\text{H}_2\text{O}_2, \text{H}^+/\cdot\text{OH}, \text{H}_2\text{O}}^{0'} - E_{\text{Q}/\text{Q}^\bullet}^{0'} + \frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{[\text{H}_2\text{O}_2] \cdot [\text{Q}^\bullet]}{[\cdot\text{OH}] \cdot [\text{H}_2\text{O}] \cdot [\text{Q}]}, \quad (2.65)$$

$$\Delta E = E_{\text{Q}/\text{Q}^\bullet}^{0'} - E_{\cdot\text{OH}, \text{H}^+/\text{H}_2\text{O}}^{0'} + \frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{[\text{Q}] \cdot [\text{H}_2\text{O}]}{[\text{Q}^\bullet] \cdot [\cdot\text{OH}]}. \quad (2.66)$$

Значення відповідних стандартних одноелектронних редокс-потенціалів наведені в табл. 2.5 і 2.10.

Реакція (2.59) у нейтральному середовищі термодинамічно заборонена (див. табл. 2.11). Однак з підвищенням рН  $E_{\text{O}_2^\bullet, 2\text{H}^+/\text{H}_2\text{O}_2}^{0'}$  буде знижуватися, досягаючи при рН 10.0 значення +585 mV. Виконані розрахунки вказують на те, що в реакційній суміші, з рН вище цієї величини, реакція (2.59) може йти самодовільно.



Згідно з [170, 191, 213], співвідношення  $\frac{[Q^\bullet]}{[\cdot\text{OH}]}$  буде перебувати в межах  $10^6$ – $10^7$ , оскільки семихітонні радикали значно стійкіші за гідроксильні. При такому співвідношенні концентрацій радикалів реакція (2.61) може йти самодовільно (табл. 2.11).

Таким чином, у водному середовищі при рН 7.0 і концентраційних умовах, представлених у табл. 2.11, елементарні реакції (2.60) і (2.61) є термодинамічно дозволеними, а (2.59) і (2.62) – забороненими.

Не виключена можливість витрачання  $\text{H}_2\text{O}_2$  і  $p\text{-Q}$  за реакцією нуклеофільного приєднання аніона пероксиду водню до  $\alpha$ -вуглецевого атома молекули  $p\text{-Q}$  (2.56), з подальшою конверсією первинного продукту, що утвориться.

Таблиця 2.10

Стандартні одноелектронні потенціали  $E^{0'}$

Редокс-пара	$E^{0'}$ , mV	Посилання
$\text{O}_2^\bullet, 2\text{H}^+/\text{H}_2\text{O}_2$	940	[201, 281]
$\text{H}_2\text{O}_2, \text{H}^+/\cdot\text{OH}, \text{H}_2\text{O}$	320	[224]
$\cdot\text{OH}, \text{H}^+/\text{H}_2\text{O}$	2310	[224]

Таблиця 2.11

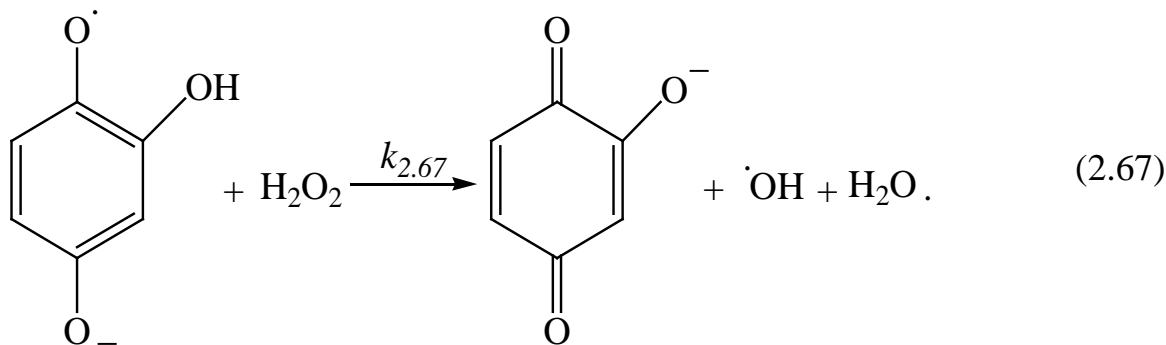
Добуток і співвідношення концентрацій радикалів\*

Реакція	$[p\text{-QH}_2]_0$ , mM	$[p\text{-Q}]_0$ , mM	$[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ , mM	$[\text{H}_2\text{O}]_0$ , M	$\Delta E \geq 0$		
					$[Q^\bullet] \cdot [\text{O}_2^\bullet]$ , M <sup>2</sup>	$[\cdot\text{OH}] \cdot [Q^\bullet]$ , M <sup>2</sup>	$\frac{[Q^\bullet]}{[\cdot\text{OH}]}$
(2.59)	–	1.0	1.0	–	$\leq 8.5 \cdot 10^{-21}$	–	–
(2.60)	5.0	–	1.0	55.56	–	$\leq 7.3 \cdot 10^{-10}$	–
(2.61)	–	1.0	1.0	55.56	–	–	$\geq 6.2 \cdot 10^{-3}$
(2.62)	–	5.0	–	55.56	–	$\leq 1.0 \cdot 10^{-37}$	–

\*Концентрації радикалів розраховані для реакцій (2.59)–(2.62) у водному середовищі при рН 7.0;  $T = 308 \text{ K}$

Термодинамічні розрахунки вказують на те, що багато  $Q^\bullet$ -радикалів можуть брати участь в одноелектронному відновленні  $\text{H}_2\text{O}_2$  [279]. До них відносять гідроксисемихітон, що реагує за реакцією (2.67) [279], а також семихітони, що утворюються з антрахінонів [279], антрациклінів [282], нафтахінонів

і деяких убіхінонів [279, 283]. Константи швидкості реакції (2.67) за участю різних семихінонних радикалів сильно відрізняються. Наприклад, для реакції семихінонів адриаміцину з пероксидом водню  $k_{2.67}$  знаходиться в межах  $10^4$ – $10^5$   $\text{M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$  [282], а радикали, що утворюються з антрахінон-9,10-сульфонової-2 кислоти, не розкладають  $\text{H}_2\text{O}_2$ .



Отже, отримані численні експериментальні дані вказують на те, що механізм утворення емітера ХЛ при автоокисненні  $\text{QH}_n$  є радикальним. ХЛ-світіння на початковому етапі протікання процесу обумовлено релаксацією молекул хінонів в основний стан із збудженого, який утворюється в актах рекомбінації між семихінонами і гідропероксильними радикалами. Емітер, який зумовлює появу другого піку на кінетичних кривих ХЛ при автоокисненні  $p\text{-QH}_2$  в карбонатному буфері, утворюється за реакцією  $p\text{-Q}$  з  $\text{H}_2\text{O}_2$ , однак природа його не встановлена. Складний характер кінетичних кривих ХЛ обумовлений тим, що зміна в часі інтенсивності ХЛ описує, найімовірніше, зміну квазістаціонарних концентрацій радикалів, взаємодія яких призводить до утворення емітера.

Буферні розчини, до складу яких входять неорганічні сполуки, не завжди є хімічно інертними стосовно учасників реакції автоокиснення  $\text{QH}_m$ , оскільки інтенсивність ХЛ-світіння і форма кінетичних кривих залежать від виду іонів, що входять до складу буферних систем. Вплив компонентів буферного розчину може бути значним внаслідок утворення комплексів між ними і  $\text{QH}_m$ . Це уповільнює взаємодію останніх з молекулярним киснем. Вплив буферного розчину несуттєвий, коли його компоненти взаємодіють з активними центрами, що утворюються в ході автоокиснення, але не змінюють реакційної здатності самих реагентів.

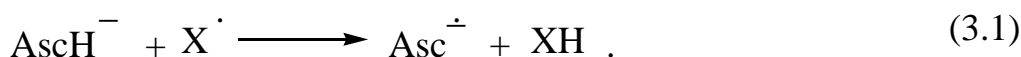
## РОЗДІЛ III

### КІНЕТИКА І МЕХАНІЗМ ЗАРОЖДЕННЯ РАДИКАЛІВ ПРИ АВТООКИСНЕННІ БАГАТОАТОМНИХ ФЕНОЛІВ У ВОДІ

#### 3.1 Інгібоване автоокиснення багатоатомних фенолів

Ефективними пастками радикалів у водному середовищі є  $\text{AscH}_2$  і сполуки, що містять тіольну групу [177, 252, 268, 284, 285]. Тому вони можуть бути застосовані в якості інгібіторів автоокиснення багатоатомних фенолів. У цьому розділі наведені експериментальні дані щодо автоокиснення гідрохінону, пірокатехіну, 4-метилпірокатехіну, хлоргідрохінону, 2,5-дихлоргідрохінону, пірогалолу і галової кислоти, кінетика яких була досліджена в інтервалі pH 7.4–10.6, з добавками  $\text{AscH}_2$  і гомоцистеїну (HCys) хемілюмінесцентним, газоволюмометричним і спектрофотометричним методами.

Антиоксидантна активність аскорбінової кислоти обумовлена здатністю швидко відновлювати  $\bullet\text{OH}$ ,  $\text{RO}\bullet$ ,  $\text{GS}\bullet$ ,  $\text{O}_2\bullet^-$ ,  $\text{ROO}\bullet$  токоферил та інші радикали за реакцією (3.1) [279, 285, 286]. Константи швидкості реакції моноаніона аскорбінової кислоти ( $\text{AscH}^-$ ) з першими трьома радикалами (реакція 3.1) складають:  $1.1 \cdot 10^{10}$  [95],  $1.6 \cdot 10^9$  [287],  $6.0 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  [288] відповідно.



Механізм інгібування автоокиснення  $\text{QH}_m$  обумовлений здатністю аскорбінової кислоти відновлювати фенокисьні радикали і хінони до вихідних фенолів, а кисеньцентровані радикали до  $\text{H}_2\text{O}_2$  або  $\text{H}_2\text{O}$ . Цей процес у водно-лужному середовищі на прикладі двоатомних фенолів можна зобразити такою схемою [286, 289, 290, 291]:

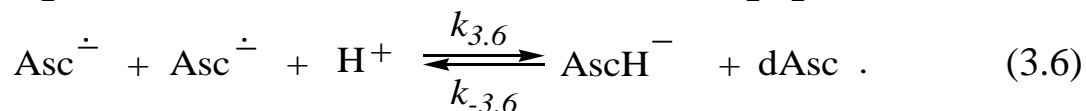
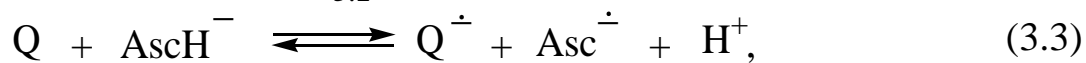
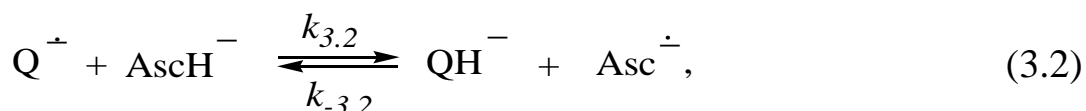


Схема 3.1 Механізм інгібованого аскорбіновою кислотою автоокиснення  $\text{QH}_m$  у воді

Стандартний одноелектронний редокс-потенціал для пари  $\text{Asc}\dot{-}/\text{AscH}^-$  дорівнює +282 mV [292], а для пари  $\text{Q}\dot{-}/\text{QH}^-$  в разі 9,10-фенантренгідрохінону і менадіолу: +178 [292, 293] і +193 mV [294], відповідно. В цьому випадку

рівновагу реакції (3.2) буде зміщено вліво, що характерно і для деяких флавоноїдів [295]. Однак для більшості заміщених полігідроксибензенів у воді при нейтральних рН значення вище, ніж +282 mV [176, 190], що сприятиме протіканню реакції (3.2) у прямому напрямку. Значення  $k_{3,2}$  знаходяться, як правило, в межах  $10^7$ – $10^9$   $\text{M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$  [174, 291]. Наприклад, для оксильного радикала Тролоксу воно становить  $1.3\cdot 10^7$   $\text{M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$  [290]. Однак для семихінонів, що мають електронно-донорні замісники у кільці, значення  $k_{3,2}$  трохи нижчі і змінюються в межах  $10^4$ – $10^5$   $\text{M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$  [290]. Таким чином, при одночасному перебуванні в реакційній суміші  $\text{AscH}_2$  і фенолів може виникати синергетичний ефект у реакціях окислення органічних речовин, що характерно, наприклад, для вітамінів E і C при автоокисненні ліпідів [296].

Значення  $\text{pK}_a$  для аскорбатаніон-радикала ( $\text{Asc}^{\bullet-}$ ), продукту реакцій (3.2), (3.3) і (3.5), становить  $-0.86$  [297]. Він малоактивний і не взаємодіє з  $\text{O}_2$ . Утворені  $\text{Asc}^{\bullet-}$ -радикали витрачаються здебільшого у реакції диспропорціонування. Для водних розчинів величини  $k_{3,6}$  складають  $(1.6\text{--}2.4)\cdot 10^6$  [298],  $\approx 1\cdot 10^6$  [285],  $1.4\cdot 10^5$   $\text{M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$  [299]. В роботі [299] вказується на те, що її значення зростає приблизно на порядок у присутності фосфатів.

Константа рівноваги реакції (3.6):

$$K_{3,6} = \frac{[\text{dAsc}] \cdot [\text{AscH}_2]_{\text{total}}}{[\text{Asc}^{\bullet-}]^2 \cdot [\text{H}^+] \cdot (1 + [\text{H}^+]/K_{\text{AscH}_2})},$$

дорівнює  $5\cdot 10^{14}$   $\text{M}^{-1}$  [299], де  $K_{\text{AscH}_2}$  – константа дисоціації кислоти за першим ступенем.  $\text{Asc}^{\bullet-}$ -радикал проявляє вкрай слабкі окисні і відновні властивості, оскільки його неспарений електрон делокалізований. В літературі відсутні достовірні дані, що вказують на його здатність реагувати з біологічно важливими молекулами. Також виявлено, що він може співіснувати з фенокиськими [298], нітрокиськими [300] і семихіноновими [301] радикалами. Тому  $\text{Asc}^{\bullet-}$ -радикали ефективно витрачаються в реакції (3.6), хоча в ряді робіт [286, 290] вказується і на можливість протікання реакції (3.4).

Згідно зі схемою 3.1 аскорбінова кислота у водному середовищі перешкоджає автоокисненню багатоатомних фенолів, і в її присутності  $\text{QH}_m$  не витрачається. Досягається це за рахунок швидкого відновлення  $\text{Q}^{\bullet-}$ -радикалів і  $\text{Q}$ -моноаніоном аскорбінової кислоти до феноксіаніона. Аскорбінова кислота витрачається за нульовим порядком зі швидкістю генерування радикалів. Отже, доти, поки  $\text{AscH}_2$  присутня в системі, не буде витрачання  $\text{QH}_m$  і накопичення  $\text{Q}$ . Нами отримані експериментальні докази, що свідчать на користь схеми 3.1. Вони представлені на рис. 3.1. Видно, що в періоді індукції автоокиснення, загальмованого аскорбіновою кислотою, гідрохінон не витрачається,  $n$ -бензохінон не накопичується, і його квазістаціонарна концентрація в реакційному середовищі становить менше 5.0 мкМ. Важливим моментом є те, що кінетична крива витрачання  $p$ - $\text{QH}_2$  при виході системи з періоду індукції практично ідентична до такої за відсутності інгібітора (рис. 3.1, кр. 1 і 2). Саме так і має бути, якщо  $\text{AscH}_2$  виконує роль сильного інгібітора радикального окислення  $\text{QH}_m$ .

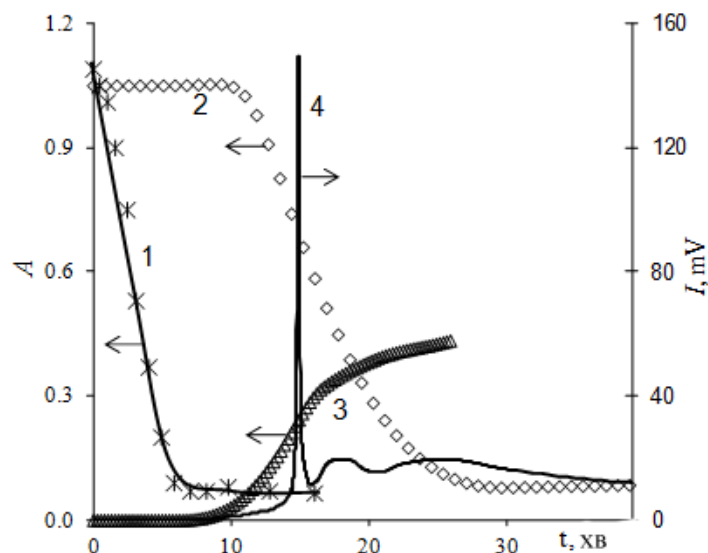


Рис. 3.1 Кінетика інгібованого аскорбіною кислотою ( $C_0 = 7.5$  мМ) автоокиснення  $p$ -QH<sub>2</sub> ( $C_0 = 5.0$  мМ). рН 9.2;  $T = 308$  К:

1. і 2. – витрачання  $p$ -QH<sub>2</sub> без і у присутності AscH<sub>2</sub>;  
3. і 4. – накопичення  $p$ -Q і ХЛ-світіння у присутності AscH<sub>2</sub>

Здатність аскорбінової кислоти відновлювати хінони, реакція (3.3), проявляється при змішуванні AscH<sub>2</sub> і  $p$ -Q у воді. Спектральні смуги поглинання  $p$ -Q ( $\lambda_{\max} = 244$  і  $429$  нм) зникають, і з'являється смуга  $p$ -QH<sub>2</sub> з  $\lambda_{\max} = 289$  нм (див. рис. 3.2). Знебарвлення розчину  $p$ -Q відбувається практично відразу після змішування реагентів.

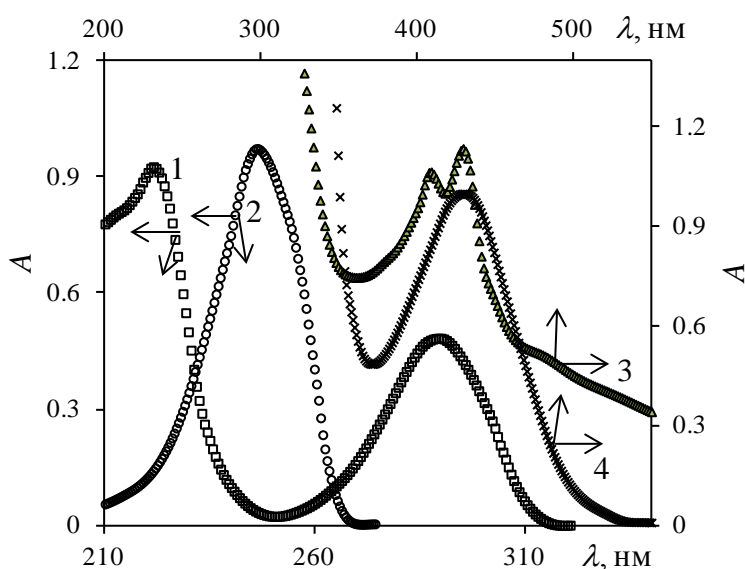


Рис. 3.2 Електронні спектри абсорбції водних розчинів  $p$ -QH<sub>2</sub> і  $p$ -Q:

1. –  $p$ -QH<sub>2</sub> в 0.1 МНCl,  $\lambda_{\max} = 221$  і  $289$  нм;  
2. –  $p$ -Q в 0.1 МНCl,  $\lambda_{\max} = 246$  нм;  
3. –  $p$ -Q, карбонатний буфер (рН 9.2),  $\lambda_{\max} = 409$  нм і  $429$  нм;  
4. –  $p$ -Q в бідист. воді,  $\lambda_{\max} = 429$  нм

При аналізі закономірностей інгібування радикальних процесів найважливішим вимірюваним параметром є період індукції, який пов'язаний зі швидкістю зародження радикалів. Вибір способу його визначення за кінетичними кривими обумовлений силою інгібітора. Найчастіше використовують такі прийоми знаходження величини  $\tau_{ind}$ :

- за дотичню [39];
- за точкою перегину [12, 302];
- інтегральний [39].

Для сильного інгібітора всі три методи дають близькі значення  $\tau_{ind}$  [39].

При використанні в якості інгібіторів автоокиснення  $QH_m$  аскорбінової кислоти і гомоцистеїну вихід з періоду індукції чітко виражений на кінетичних кривих ХЛ-світіння, а також на кривих витрачання фенолу і утворення хінону. Час виходу реакції з періоду індукції у стаціонарний режим після вичерпання інгібітора, як правило, невеликий порівняно з тривалістю  $\tau_{ind}$ . Наприклад, при автоокисненні  $p$ - $QH_2$ ,  $o$ - $QH_2$  і GK цей час становить 23, 74 і 62 с при загальній тривалості  $\tau_{ind}$ : 770, 871 і 1087 с, відповідно. Тобто,  $AscH_2$  і  $HCys$  є сильними інгібіторами автоокиснення  $QH_m$ , і для визначення  $\tau_{ind}$  можна використовувати будь-який з наведених вище способів. Ми розраховували  $\tau_{ind}$  як час від початку реакції до точки перегину на кінетичній кривій. Точку перегину знаходили за екстремумом похідних від поліномів, що описують кінетичні криві. Обчислені таким чином періоди індукції за кінетичними кривими ХЛ, витрачання  $QH_m$  і накопичення  $Q$  збігаються між собою в межах похибки вимірювань [303].

Поява періодів індукції на кінетичних кривих ХЛ при інгібуванні аскорбіновою кислотою автоокиснення  $QH_m$  характерна для всіх перерахованих багатоатомних фенолів (рис. 3.3). Величини  $\tau_{ind}$  залежать від будови субстрату, значення рН середовища, початкової концентрації  $AscH_2$  і  $QH_m$ . Після повного витрачання інгібітора при окисненні фенолів спостерігаються приблизно ті ж інтенсивності ХЛ і характер кінетичних кривих, що і за відсутності  $AscH_2$  (рис. 3.3). У деяких випадках момент виходу з періоду індукції відрізняється сплеском ХЛ (рис. 3.3а, кр. 2), що обумовлено зміною складу реакційної суміші за радикалами: вичерпання аскорбатаніон-радикалів і швидке зростання квазістаціонарних концентрацій  $O_2^{\bullet-}$  і  $HO_2^{\bullet}$ -радикалів [179, 186].

Інгібуючий ефект  $AscH_2$  при автоокисненні  $p$ - $QH_2$  проявляється і при введенні її на максимумі ХЛ-кривої. В цьому випадку відбувається різке зниження інтенсивності світіння, яке після певного часу відновлюється (рис. 3.4). Ефект гасіння ХЛ збільшується з концентрацією  $AscH_2$ . По-різному впливають добавки  $AscH_2$  на кінетику ХЛ при введенні її на першому і другому максимумах (рис. 3.4b). Це може вказувати на різну природу емітерів у зонах реакції, які перекриваються з першим і другим піками ХЛ, що зазначалося раніше. Розглянуті ефекти також вказують на можливість відновлення хінонів до відповідного  $QH_m$  за рахунок окиснення  $AscH_2$ , з подальшим автоокисненням  $QH_m$  і відновленням ХЛ-світіння після повного вичерпання в системі інгібітора.

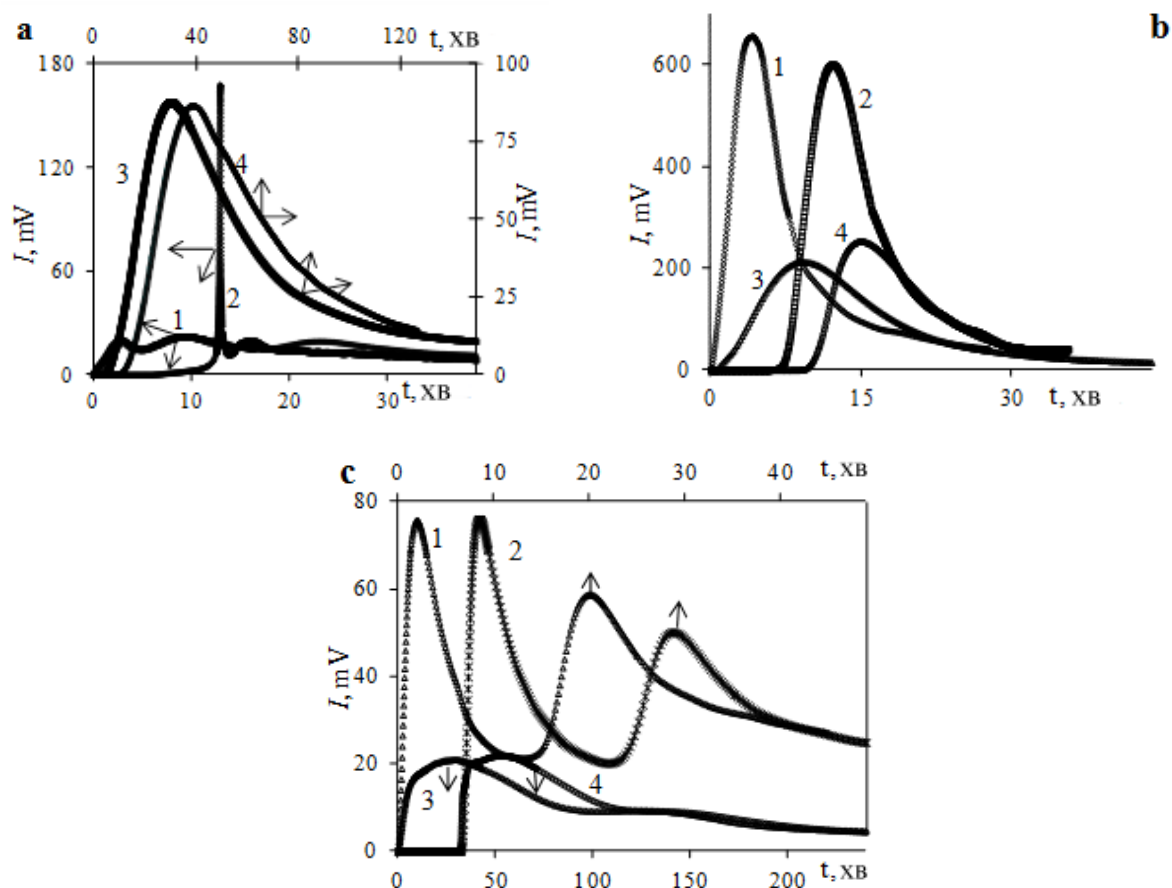


Рис. 3.3 Кінетичні криві ХЛ при інгібованому аскорбіною кислотою автоокисненні  $\text{QH}_m$  ( $C_0 = 5.0$  мМ).  $T = 308$  К. 1. і 3. – без  $\text{AscH}_2$ ; 2. і 4. – в присутності  $\text{AscH}_2$ :

- $p\text{-QH}_2$ : 1. і 2. – pH 9.2,  $[\text{AscH}_2]_0 = 7.5$  мМ; 3. і 4. – pH 8.0,  $[\text{AscH}_2]_0 = 0.25$  мМ;
- pH 9.2: 1. і 2. – PG,  $[\text{AscH}_2]_0 = 10$  мМ; 3. і 4. –  $4\text{CH}_3\text{-o-QH}_2$ ,  $[\text{AscH}_2]_0 = 2.0$  мМ;
- pH 9.2: 1. і 2. – GK  $[\text{AscH}_2]_0 = 2.5$  мМ; 3. і 4. –  $\text{-o-QH}_2$ ,  $[\text{AscH}_2]_0 = 0.37$  мМ

У літературі також є відомості про те, що аскорбінова кислота гасить ХЛ, що виникає при дії на галову кислоту  $\text{H}_2\text{O}_2$  [304]. Після її витрачання ХЛ знову відновлюється. Концентрація галової кислоти практично не змінюється у присутності  $\text{AscH}_2$  в системі, але починає зменшуватися після її витрачання. Цей ефект автори [304] пов'язують зі здатністю  $\text{AscH}_2$  швидко відновлювати хінон галової кислоти і гасити  $^1\text{O}_2$ . Останній швидко реагує у воді з аскорбіною кислотою за реакцією (3.7) з константою швидкості  $3.2 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  [96, 97].

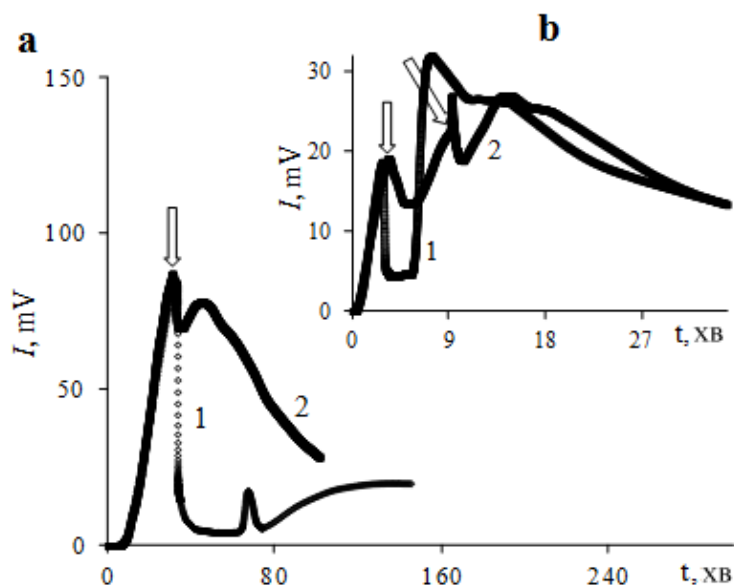
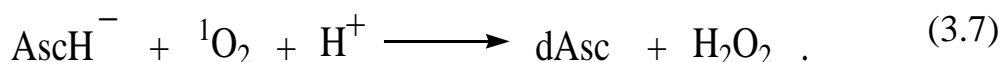


Рис. 3.4 Вплив  $\text{AscH}_2$  на ХЛ при автоокисненні  $p\text{-QH}_2$  ( $C_0 = 5.0$  мМ).  $T = 308$  К. Стрілками вказано момент введення  $\text{AscH}_2$ :  
 а) pH 8.0: 1. –  $[\text{AscH}_2]_0 = 2.0$  мМ; 2. –  $[\text{AscH}_2]_0 = 0.10$  мМ;  
 б) pH 9.2,  $[\text{AscH}_2]_0 = 5.0$  мМ: 1. – на 1-му піку; 2. – на 2-му піку



Загалом при гальмуванні автоокиснення фенолів інгібіторами (аскорбіною кислотою або гомоцистеїном) спостерігаються такі кінетичні закономірності:

1. Залежність величини  $\tau_{ind}$  від концентрації інгібітора за сталої концентрації  $\text{QH}_m$  лінійна (рис. 3.5).

2. Якщо на кінетичній кривій ХЛ при автоокисненні  $\text{QH}_m$  відсутній лаг-період ( $\tau_{lag}$ ), то залежність  $\tau_{ind} - f \cdot [\text{InH}]_0$  виходить з нуля. При наявності на кривій ХЛ лаг-періоду залежність  $\tau_{ind} - f \cdot [\text{InH}]_0$  зміщується по осі ординат на величину  $\tau_{lag}$  (рис. 3.5а, прямі 1 і 4). Звідси випливає, що співвідношення  $[\text{InH}]_0/\tau_{ind}$  або  $[\text{InH}]_0/(\tau_{ind} - \tau_{lag})$  зберігається постійним при варіюванні концентрації інгібітора.

Такі закономірності характерні для радикального процесу з постійною швидкістю зародження радикалів і лінійним обривом ланцюгів на молекулах інгібітора [254]. Співвідношення між швидкістю зародження радикалів ( $V_i$ ),  $[\text{InH}]_0$  і  $\tau_{ind}$  має в цьому випадку такий вигляд:

$$V_i = \frac{f \cdot [\text{InH}]_0}{\tau_{ind}} \quad (3.8)$$

Значення  $f$  приймали рівним 1, оскільки для  $\text{Asc}^{\cdot-}$ -радикалів характерна певна хімічна пасивність (див. вище), і вони переважно витрачаються в реакції (3.6).



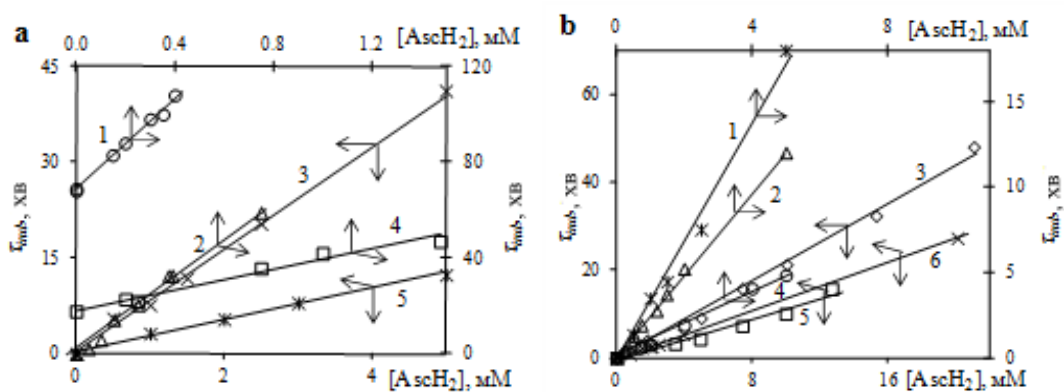


Рис. 3.5 Залежність періоду індукції від концентрації  $AscH_2$  при інгібуванні автоокиснення  $QH_m$  ( $C_0 = 5.0$  mM).  $T = 308$  K:

- a) 1. –  $p$ - $QH_2$  (pH 7.4); 2. –  $o$ - $QH_2$  (pH 9.2); 3. –  $4CH_3$ - $o$ - $QH_2$  (pH 9.2); 4. –  $p$ - $QH_2$  (pH 8.0); 5. –  $4CH_3$ - $o$ - $QH_2$  (pH 10.6);
- b) 1. – GK (pH 9.2); 2. –  $p$ - $QH_2$  в присутності HCys (pH 9.2); 3. –  $p$ - $QH_2$  (pH 9.2); 4. –  $[GK]_0 = 1.0$  mM (pH 10.6); 5. –  $p$ - $QH_2$  (pH 9.9); 6. – PG (pH 9.2)

Для гомоцистеїну отримані аналогічні до аскорбінової кислоти закономірності (рис. 3.6). Залежність  $\tau_{ind}$  від концентрації HCys також лінійна (рис. 3.5b, пряма 2). Гальмівна дія гомоцистеїну обумовлена присутністю в його молекулі тіольної групи, тому що метіонін і аланін не пригнічує автоокиснення  $QH_m$  (див. рис. 3.6).

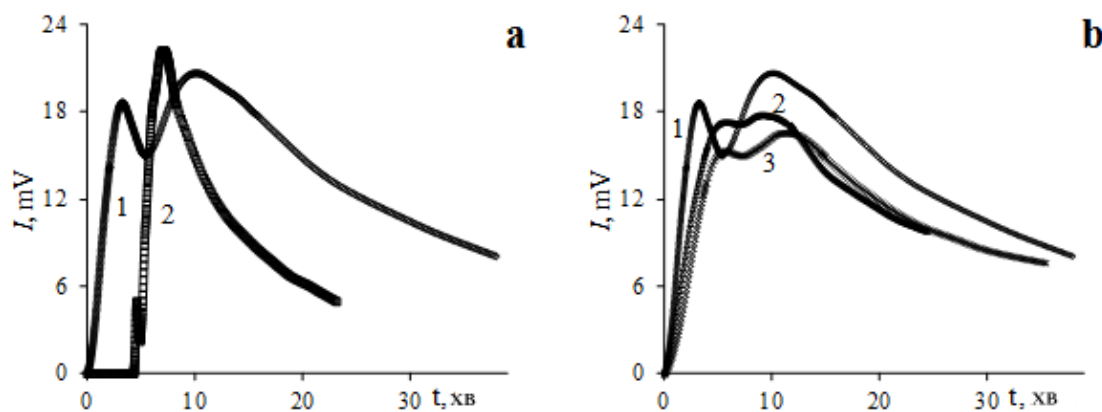


Рис. 3.6 Вплив добавок амінокислот на ХЛ при автоокисненні  $p$ - $QH_2$  ( $C_0 = 5.0$  mM); pH 9.2.  $T = 308$  K:

- a) 1. – без добавок; 2. –  $[HCys]_0 = 1.0$  mM;
- b) 1. – без добавок; 2. –  $[Alanine]_0 = 1.0$  mM; 3. –  $[Methionine]_0 = 1.0$  mM

Повністю виключити реакцію тіолів з хінонами в лужних середовищах [176, 177, 189] не можна. Її внесок, проте, навряд чи буде значним, оскільки тіольна група HCys буде швидко відновлювати фенокисильні радикали до вихідних фенолів, а  $O_2^{\cdot-}$  і  $HO_2^{\cdot}$  до  $H_2O_2$ , згідно зі схемою 3.2. З огляду на це можна знехтувати утворенням Q, поки в реакційному середовищі присутній HCys.

Виконані в цьому напрямку експерименти показали, що як з аскорбіновою кислотою (див. рис. 3.1, кр. 2, 3, 4), так і з гомоцистеїном протягом усього періоду індукції  $p$ -QH<sub>2</sub> не витрачається,  $p$ -Q не накопичується і ХЛ-світіння відсутнє (рис. 3.7). Механізми інгібуючої дії AscH<sub>2</sub> і HCys є, мабуть, ідентичними, оскільки виміряні за їхньою допомогою швидкості зародження радикалів збігаються в межах похибки вимірювань.

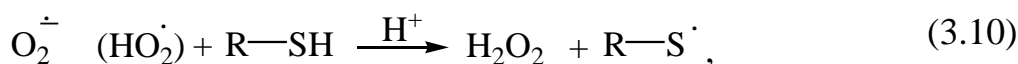
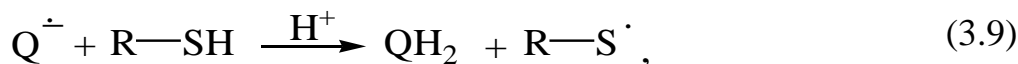


Схема 3.2 Механізм інгібованого гомоцистеїном автоокиснення QH<sub>m</sub> у воді

Молекулярний кисень в періоді індукції витрачається в реакції зародження радикалів, перетворюючись в  $\dot{O}_2$ -радикал, а останній відновлюється до H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> за реакцією (3.5). На це вказують і автори роботи [286].

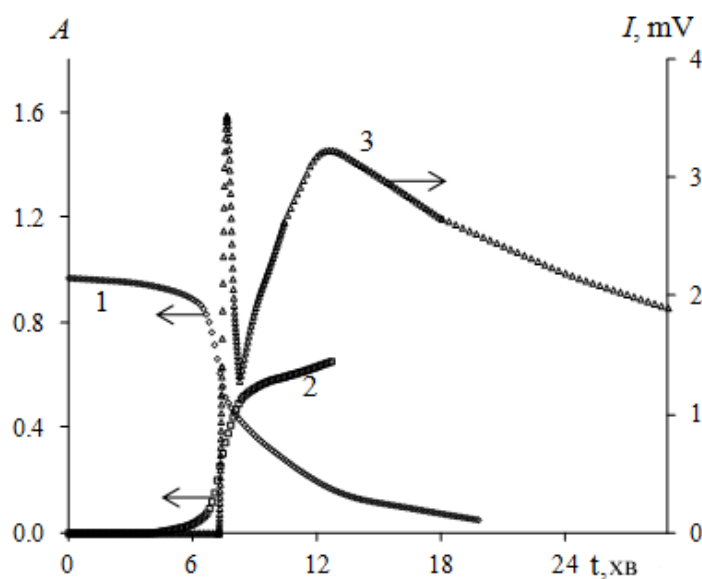


Рис. 3.7 Кінетика інгібованого гомоцистеїном автоокиснення  $p$ -QH<sub>2</sub>. рН 9.2;  $[p\text{-QH}_2]_0 = [\text{HCys}]_0 = 0.5 \text{ mM}$ ;  $T = 308 \text{ K}$ :  
1. – витривання  $p$ -QH<sub>2</sub>; 2. – накопичення  $p$ -Q; 3. – інтенсивність ХЛ-світіння

У виконаних нами експериментах встановлено, що швидкості поглинання  $O_2$  при автоокисненні  $p$ -QH<sub>2</sub> з добавками AscH<sub>2</sub> нижчі, ніж за її відсутності (рис. 3.8). Причому початкова ділянка на кінетичній кривій поглинання  $O_2$  (рис. 3.8, кр. 1, ділянка «а») є лінійною. Якщо наступний за лінійним відрізок

кінетичної кривої 1 (рис. 3.8) перемістити на початок координат, то він практично збігається з кривою поглинання  $O_2$  без інгібітора. Лінійна початкова ділянка кінетичних кривих спостерігається тільки при введенні в реакційну суміш порівняних з концентрацією  $p\text{-QH}_2$  кількостей  $\text{AscH}_2$  (див. рис. 3.8).

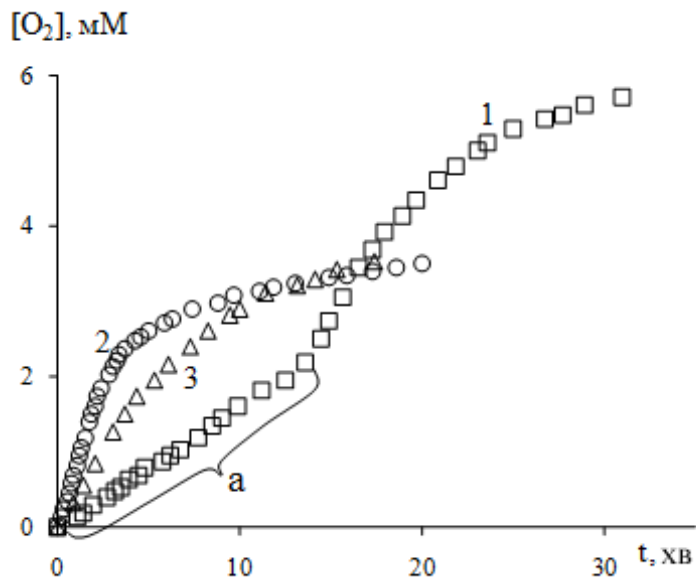


Рис. 3.8 Вплив  $\text{AscH}_2$  на кінетику поглинання  $O_2$  при автоокисненні  $p\text{-QH}_2$  ( $C_0 = 5.0 \text{ mM}$ ).  $\text{pH } 9.2$ ;  $T = 308 \text{ K}$ :  
 1. –  $[\text{AscH}_2]_0 = 5.0 \text{ mM}$ ;  
 2. – без  $\text{AscH}_2$ ;  
 3. – анаморфоза кривих 1 і 2 (пояснення у тексті)

При зменшенні концентрації аскорбінової кислоти кінетична крива поглинання кисню змінюється монотонно без зламів. Із зазначеного випливає, що визначення періодів індукції за кривими ХЛ точніше і прийнятніше, ніж за кривими поглинання  $O_2$ .

Залежності швидкостей зародження радикалів, розрахованих за рівнянням (3.8), від концентрації субстратів окиснення (багатоатомні феноли) для всіх досліджених сполук лінійні (див. рис. 3.9). Це свідчить про пряму участь багатоатомних фенолів у генеруванні радикалів. Водночас наявність  $\text{pH}$ -залежних відрізків, що відтинаються, на графіках  $V_i - f([\text{QH}_m])$  (див. рис. 3.9) дає змогу припускати також інші реакції утворення радикалів, які не пов'язані з багатоатомними фенолами. Природа цих реакцій потребує подальших досліджень.

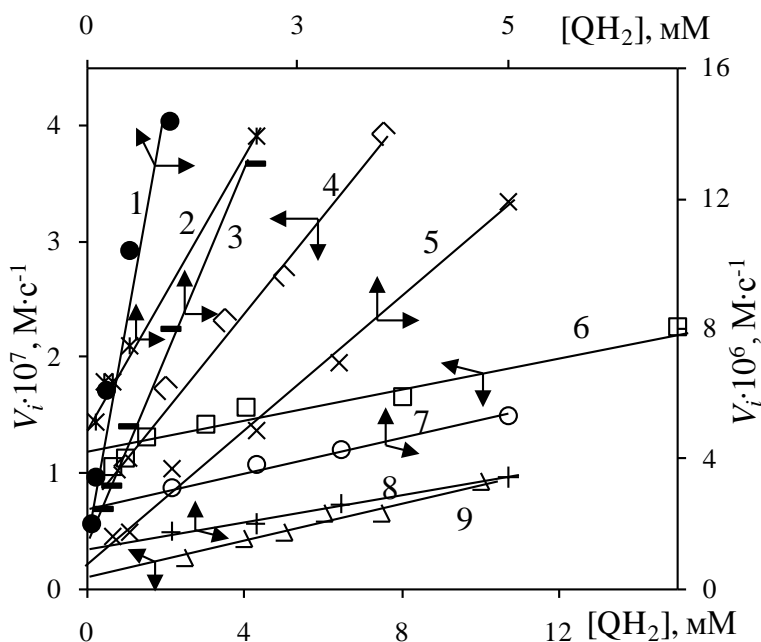


Рис. 3.9 Залежності швидкості зародження радикалів у реакції автоокиснення від концентрації  $QH_m$  при  $[AscH_2]_0 = \text{const}$ .  $T = 308 \text{ K}$ :

1. – PG,  $[AscH_2]_0 = 5.0 \text{ mM}$ , pH 9.2;
2. – *p*-QH<sub>2</sub>,  $[AscH_2]_0 = 10.0 \text{ mM}$ , pH 10.6;
3. – GK,  $[AscH_2]_0 = 2.0 \text{ mM}$ , pH 9.9;
4. – *p*-QH<sub>2</sub>,  $[AscH_2]_0 = 0.5 \text{ mM}$ , pH 8.0;
5. – *p*-QH<sub>2</sub>,  $[AscH_2]_0 = 5.0 \text{ mM}$ , pH 9.2;
6. – *o*-QH<sub>2</sub>,  $[AscH_2]_0 = 0.3 \text{ mM}$ , pH 9.2;
7. – 4CH<sub>3</sub>-*o*-QH<sub>2</sub>,  $[AscH_2]_0 = 1.0 \text{ mM}$ , pH 10.6;
8. – 4CH<sub>3</sub>-*o*-QH<sub>2</sub>,  $[AscH_2]_0 = 0.4 \text{ mM}$ , pH 9.9;
9. – Cl-*p*-QH<sub>2</sub>,  $[AscH_2]_0 = 0.4 \text{ mM}$ , pH 8.0

Отже, аскорбінова кислота і гомоцистеїн є сильними інгібіторами автоокиснення  $QH_m$  у водному середовищі. Механізм їхньої дії полягає у здатності відновлювати  $O_2^{\cdot-}$ -радикали і Q до вихідних фенолів. Крім того, на цих інгібіторах ефективно гинуть кисеньцентровані радикали  $O_2^{\cdot-}$  і  $HO_2^{\cdot}$ , що різко знижує їхні квазістаціонарні концентрації у реакційній суміші порівняно з неінгібованим окисненням. Використовуючи AscH<sub>2</sub> і HCys як інгібітори, можна виміряти швидкості зародження радикалів при автоокисненні  $QH_m$ , фіксуючи час повного вичерпання інгібітора з кінетичних кривих ХЛ витрачання фенолу або накопичення хінону.

### 3.2 Константи швидкостей зародження радикалів при автоокисненні багатоатомних фенолів

Швидкість зародження радикалів є однією з важливих характеристик складного радикального процесу, що дає змогу встановити механізм автоокиснення. Підходи до визначення швидкості радикалоутворення при автоокисненні  $QH_m$  описані в розділі 3.1.

Результати термодинамічних оцінок вказують на можливість утворення радикалів при автоокисненні  $QH_m$  в реакціях їхнього одноелектронного окислення як молекулярним киснем, так і бензохіноном (див. рис. 2.12 і 2.13).

У водних середовищах багатоатомні феноли завжди представлені і молекулярними, й іонними формами, кожна з яких здатна виступати донором електронів. При цьому очевидно, що швидкість реакції переносу електрона з фенолу на акцептор буде вищою у PCET-процесах, особливо за участі їхніх аніонних форм [177]. На користь цього свідчать як літературні [176, 177, 208], так і отримані нами дані:

- швидкість поглинання кисню і витрачання  $QH_m$  збільшується зі зростанням рН середовища;
- періоди індукції на кінетичних кривих ХЛ при автоокисненні  $p-QH_2$  лінійно збільшуються з ростом  $[H^+]$ ;
- швидкість автоокиснення при постійній величині рН підвищується в напрямку від  $Cl-p-QH_2$  до  $2,5-Cl-p-QH_2$ , що корелює зі зменшенням значення  $pK_a$ ;
- відновлююча здатність двоатомних фенолів значно зростає при переході від нейтрального середовища до лужного (див. табл. 3.1).

Із зазначеного зрозуміло, що визначальна роль у реакціях зародження радикалів належить іонним формам багатоатомних фенолів [176], частка яких зростає зі збільшенням рН середовища, так само, як і їхня відновлювальна здатність. При цьому активність біаніонних форм істотно вища, ніж моноаніонних, оскільки на їхні реакції з триплетною молекулою кисню немає спінової заборони.

З огляду на це навіть при низьких концентраціях у системі  $Q^{2-}$  внесок реакції (2.25) у швидкість зародження радикалів може бути істотним [176]. Для досліджених нами багатоатомних фенолів цей внесок може бути суттєвим при  $pH \geq 10.5$ . Його можна оцінити для  $p-QH_2$ , константи швидкості моно- і біаніонів якого з молекулярним киснем відомі і дорівнюють відповідно 26 [303] і  $200 M^{-1} \cdot s^{-1}$  [176].

Таблиця 3.1

Значення одноелектронних редокс-потенціалів для QH<sub>2</sub> у воді

QH <sub>2</sub>	$E_{Q^{\cdot-}, 2H^+/QH_2}^0, \text{ mV}$			
	pH 7.0	посилання	pH 13.5	посилання
Гідрохінон	459, 473	[292], [305]	23	[215]
Тетраметилгідрохінон	354	[215]	-54	[217]
2-Трет.бутилгідрохінон	489	[306]	-75*	[306]
Пірокатехін	530	[215]	43	[215]
3-(3',4'-Дигідрокси-феніл) пропен-2-ова кислота	540	[215]	84	[215]
Резорцин	810	[215]	385	[215]

- \*pH 14.0

За таких значень констант швидкості реакції (2.24) і (2.25) будуть сумірними при співвідношенні  $[QH^-]/[Q^{2-}] \approx 10$ . З урахуванням наведених у табл. 3.2 для *p*-QH<sub>2</sub> значень  $pK_{a1}$  і  $pK_{a2}$  при pH 8.0, 9.2, 10 і 10.6 співвідношення  $[QH^-]/[Q^{2-}]$  становитиме  $1 \cdot 10^4$ ,  $6 \cdot 10^2$ , 100 і 25, відповідно. Таким чином, внесок реакції (2.25) в зародження радикалів при автоокисненні *p*-QH<sub>2</sub>, а також інших QH<sub>m</sub> з близькими значеннями  $pK_{a2}$ , буде відчутним при pH 10-11. Для експериментального вивчення цього питання було проведено розгорнуті дослідження щодо впливу pH на швидкість зародження радикалів при автоокисненні багатоатомних фенолів. Як інгібітор тут була використана аскорбінова кислота.

У водно-лужному середовищі аскорбінова кислота, як і досліджувані QH<sub>m</sub>, окиснюється (рис. 3.10), і швидкість цього окиснення також залежить від кислотності середовища (рис. 3.10, кр. 5). Ця залежність добре апроксимується ступеневою функцією і близька до наведеної в роботі [224]. На швидкість окиснення AscH<sub>2</sub> також впливають метали змінної валентності, які виступають у ролі каталізаторів [307, 308, 309]. При ретельному очищенні буферного розчину від домішкових кількостей іонів металів змінної валентності, швидкість витрачання AscH<sub>2</sub> при pH 7.0 складає 0.05 % за 15 хв [309].

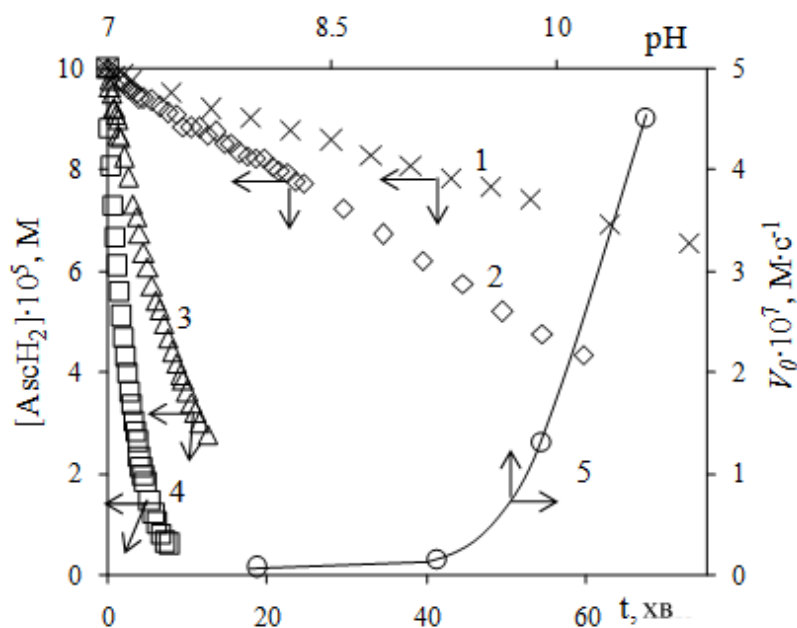
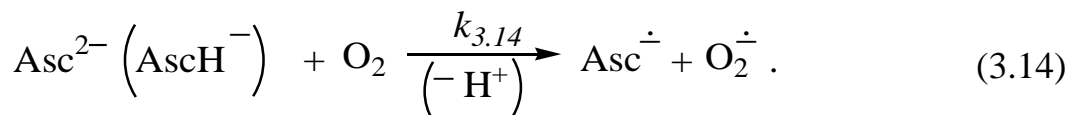


Рис. 3.10 Автоокиснення  $\text{AscH}_2$  ( $C_0 = 0.1 \text{ mM}$ ) у водному середовищі.  $T = 308 \text{ K}$ :  
1. – pH 8.0; 2. – pH 9.2; 3. – pH 9.9; 4. – pH 10.6; 5. – залежність початкової швидкості окиснення  $\text{AscH}_2$  від pH середовища

Більш активним у зародженні радикалів при автоокисненні аскорбінової кислоти також є її біаніон, константа швидкості реакції його з киснем дорівнює  $10^2 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  [209, 309]. Однак не можна повністю виключити і перенесення електрона з  $\text{AscH}^-$  на  $\text{O}_2$ . Цей процес може перебігати за протон-спряженим механізмом (PCET):



Автоокиснення  $\text{AscH}_2$  у водних середовищах веде до непродуктивної витрати цього інгібітора і має братися до уваги при розрахунках, виміряних за його допомогою швидкостей радикалоутворення. Величини цих поправок були оцінені нами прямими вимірами швидкостей поглинання  $\text{O}_2$  розчинами  $\text{AscH}_2$  в карбонатному буфері при р 9.2 і наведені в табл. 3.3. Вони на порядок менше швидкостей автоокиснення багатоатомних фенолів.

Солі буферних сумішей завжди містять невеликі кількості іонів металів різної валентності, насамперед, міді та заліза. Вони здатні каталізувати окиснення досліджуваних багатоатомних фенолів за реакціями (2.29), (2.30) і реакціями, наведеними на схемі 2.1, та суттєво змінювати механізм процесу [199].

Таблиця 3.2

Кінетичні параметри реакцій утворення радикалів у процесі автоокиснення QH<sub>m</sub> у водних середовищах; T = 308 K

QH <sub>n</sub>	pH	I, M	V <sub>O<sub>2</sub></sub> , M·c <sup>-1</sup>	V <sub>i</sub> <sup>QH<sup>-</sup></sup> , M·c <sup>-1</sup>	V <sub>i</sub> <sup>Asc<sup>2+</sup>, (AscH<sup>+</sup>)</sup> , M·c <sup>-1</sup>	pK <sub>al</sub>	pK <sub>a2</sub>	pK <sub>cl</sub>	pK <sub>c2</sub>	k <sub>2,24</sub> , M·c <sup>-1</sup>	k' <sub>2,24</sub> , M·c <sup>-1</sup>
p-QH <sub>2</sub>	7.4	0.26	–	1.74·10 <sup>-7</sup>	–			9.73	11.40	28	28
	8.0	0.29	7.5·10 <sup>-7</sup>	7.94·10 <sup>-7</sup>	7.62·10 <sup>-8</sup>			9.73	11.40	32	32
	8.5	0.30	–	1.34·10 <sup>-6</sup>	–			9.73	11.39	19	19
	9.2	0.12	1.2·10 <sup>-5</sup>	7.59·10 <sup>-6</sup>	9.45·10 <sup>-7</sup>	9.91	12.04	9.74	11.49	28	28
	9.9	0.20	2.2·10 <sup>-5</sup>	1.66·10 <sup>-5</sup>	1.48·10 <sup>-6</sup>			9.73	11.43	26	27
	10.6	0.28	2.7·10 <sup>-5</sup>	1.91·10 <sup>-5</sup>	4.48·10 <sup>-6</sup>			9.73	11.40	21	25
Cl-p-QH <sub>2</sub>	8.0	0.29	4.6·10 <sup>-6</sup>	4.88·10 <sup>-7</sup>	9.31·10 <sup>-8</sup>	8.9	11	8.72	10.36	2.4	2.4
2,5Cl <sub>2</sub> -p-QH <sub>2</sub>	8.0	0.29	1.3·10 <sup>-5</sup>	2.81·10 <sup>-6</sup>	1.09·10 <sup>-6</sup>	7.9	10	7.72	9.36	3.9	4.1
	8.5	0.30	–	1.20·10 <sup>-6</sup>	8.14·10 <sup>-7</sup>			7.72	9.35	2.7	3.1
	9.2	0.12	1.1·10 <sup>-6</sup>	2.05·10 <sup>-7</sup>	9.80·10 <sup>-8</sup>	9.36	12.98	9.19	12.43	0.36	0.36
o-QH <sub>2</sub>	9.9	0.20	5.0·10 <sup>-6</sup>	1.28·10 <sup>-7</sup>	6.70·10 <sup>-8</sup>					0.15	0.15
	9.2	0.12	3.1·10 <sup>-6</sup>	2.04·10 <sup>-6</sup>	–					4.5	
	9.9	0.20	–	3.61·10 <sup>-6</sup>	1.27·10 <sup>-6</sup>	9.56	–	9.39	–	4.6	–
	10.6	0.28	–	6.83·10 <sup>-6</sup>	2.66·10 <sup>-6</sup>					7.1	
PG	9.2	0.12	1.1·10 <sup>-5</sup>	1.23·10 <sup>-5</sup>	1.57·10 <sup>-6</sup>	9.03	11.63	8.86	11.08	17	17
	9.9	0.20	–	2.30·10 <sup>-5</sup>	8.80·10 <sup>-8</sup>					25	27
GK	8.0	0.29	–	5.97·10 <sup>-7</sup>	–	4.19	8.85	4.02	8.30	–	3.9*
	9.2	0.12	2.9·10 <sup>-6</sup>	4.56·10 <sup>-6</sup>	–					–	5.0*

\* k''<sub>2,24</sub> розраховували з використанням значень K<sub>c2</sub> для реакції біаніона GK з O<sub>2</sub>, pK<sub>al</sub> і pK<sub>a2</sub> для Cl-p-QH<sub>2</sub> і 2,5Cl<sub>2</sub>-p-QH<sub>2</sub> наведені в [310], 4CH<sub>3</sub>-o-QH<sub>2</sub> – в [311], інші константи – в [312]; [O<sub>2</sub>]<sub>0</sub> = 0.2 mM; [QH<sub>2</sub>]<sub>0</sub> = 5.0 mM, крім GK (для pH 8.0 (ФБС) – 1.9 mM)



Таблиця 3.3

Початкові швидкості поглинання  $O_2$  при автоокисненні  
 $QH_m$  і  $AscH_2$ ; pH 9.2; T = 308 K

$QH_n$	$C_0$ , mM	$V_{QH_2}^{O_2} \cdot 10^6$ , $M \cdot s^{-1}$	$C_0$ , mM	$V_{AscH_2}^{O_2} \cdot 10^7$ , $M \cdot s^{-1}$
<i>o</i> - $QH_2$	0.5	0.61	0.5	0.73
GK	0.7	6.5	2.0	4.2
PG	2.0	5.0	5.0	6.9
<i>p</i> - $QH_2$	5.0	13.0	20.0	11.0

Кількість іонів міді та заліза були визначені нами методом променевої атомно-абсорбційної спектроскопії [313, 314] за таких умов:

- довжина хвилі – 324,8 нм, ширина щілини монохроматора – 0,15 нм, тип полум'я – окислювальне повітряно-ацетиленове, характеристична концентрація – 0,04 мкг/мл;

- довжина хвилі – 248.3 нм, ширина щілини монохроматора – 0.1 нм, тип полум'я – повітря-ацетилен, характеристична концентрація – 0.08 мкг/мл; Аналізуючи проби, використовували метод калібрувального графіка.

Було встановлено, що концентрації іонів Cu та Fe не перевищують 1,5 і 2,0 мкМ у карбонатному, 1,5 і 3,5 мкМ у фосфатному буферному розчинах, відповідно. Введення сульфатів цих металів, що у 2 рази перевищують їхні вихідні концентрації у буфері, не впливає на період індукції реакції автоокиснення *p*- $QH_2$  у присутності  $AscH_2$  (рис 3.11, кр. 1 і 2). При додаванні більших кількостей солей цих металів у реакційну суміш період індукції на кінетичних кривих ХЛ зменшується на 10–15 % (рис. 3.11, кр. 3). Таким чином, можна гарантувати, що в досліджуваних концентраційних умовах реагентів отримані значення швидкості зародження радикалів не викривлені домішками металів змінної валентності.

З урахуванням наведених вище реакцій (2.24) – (2.27), а також можливого прямого окиснення аскорбінової кислоти (3.14), сумарне рівняння для швидкості генерування радикалів при автоокисненні  $QH_m$  у воді можна подати так:

$$V_i = k_{2.24} \cdot [QH^-] \cdot [O_2] + k_{2.25} \cdot [Q^{2-}] \cdot [O_2] + k_{2.26} \cdot [OH^-] \cdot [O_2] + k_{2.27} \cdot [QH_2] \cdot [Q] + k_{3.14} \cdot [Asc^{2-}(AscH^-)] \cdot [O_2] \quad (3.15)$$

Реакцію (2.23) не беремо до уваги, оскільки вивчені  $QH_m$  у кислих середовищах не окиснюються. Згідно з наведеними на рис. 3.12 даними, в дослідженому діапазоні pH 7.4–10.6 внесок реакції (2.25) у значення швидкості зародження радикалів становить менше 10 % і для спрощення аналізу процесу ним у першому наближенні можна знехтувати. Як показано раніше (рис. 3.1, кр. 3), *p*-Q в інгібованому процесі автоокиснення багатоатомних фенолів не накопичується через швидке відновлення його аскорбіновою кислотою.

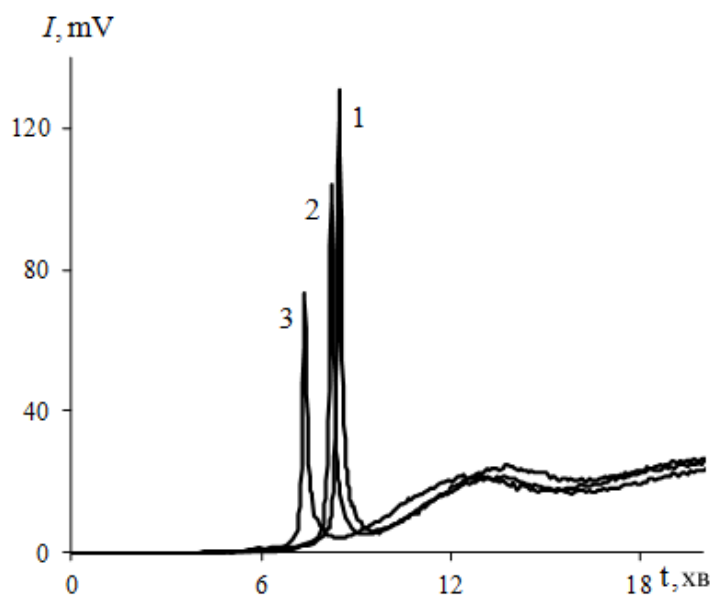


Рис. 3.11 Вплив іонів металів змінної валентності на інгібоване аскорбіною кислотою автоокиснення  $p$ -QH<sub>2</sub>. pH 9.2, T = 308 К.  $[p\text{-QH}_2]_0 = 5.0$  мМ,  $[\text{AscH}_2]_0 = 5.0$  мМ:

1. – без добавок солей металів;
2. –  $[\text{CuSO}_4]_0 = 3.0$  мкМ,  $[\text{FeSO}_4]_0 = 4.0$  мкМ;
3. –  $[\text{CuSO}_4]_0 = 6$  мкМ,  $[\text{FeSO}_4]_0 = 10$  мкМ

За оцінками, квазістаціонарна концентрація Q в реакційному середовищі становить менше 5.0 мкМ. Тобто, поки в системі є AscH<sub>2</sub> швидкість реакції (2.27) дуже мала порівняно з  $V_i$ .

З урахуванням наведеного, рівняння (3.15) можна спростити:

$$V_i = k_{2.24} \cdot [\text{QH}^-] \cdot [\text{O}_2] + k_{2.26} \cdot [\text{OH}^-] \cdot [\text{O}_2] + k_{3.14} \cdot [\text{Asc}^{2-}(\text{AscH}^-)] \cdot [\text{O}_2] \quad (3.16)$$

Розглядаючи багатоатомні феноли й аскорбінову кислоту у вивченому інтервалі рН як слабкі одноосновні кислоти, і нехтуючи дисоціацією за другим ступенем (крім GK), рівнянню (3.16) можна надати вигляду:

$$V_i = \frac{k_{2.24} \cdot K_{a1}^{\text{QH}_2} \cdot [\text{O}_2]}{K_{a1}^{\text{QH}_2} + [\text{H}^+]} \cdot [\text{QH}_2]_0 + \frac{k_{2.26} \cdot K_w \cdot [\text{O}_2]}{[\text{H}^+]} + \frac{k_{3.14} \cdot K_{a1}^{\text{AscH}_2} \cdot [\text{O}_2]}{K_{a1}^{\text{AscH}_2} + [\text{H}^+]} \cdot [\text{AscH}_2]_0 \quad (3.17)$$

Як видно з (3.17), швидкість зародження радикалів з ростом  $[\text{H}^+]$  повинна знижуватися. В експерименті для  $p$ -QH<sub>2</sub> отримана залежність, яка близька до обернено-пропорційної (рис. 3.12, кр. 3,  $V_i = 3.0 \times 10^{-12} [\text{H}^+]^{0.7}$ ).

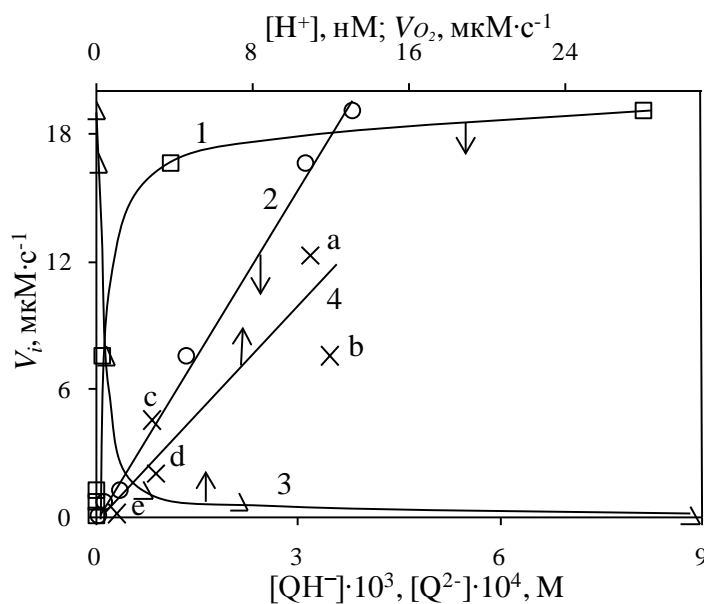


Рис. 3.12 Залежність швидкості зародження радикалів при автоокисненні  $p$ -QH<sub>2</sub> ( $C_0=5.0$  mM) від концентрації:  
 1. – бігідрохінолят-йонів;  
 2. – моногідрохінолят-йонів;  
 3. – протонів;  
 4. – відношення швидкостей зародження радикалів і поглинання кисню при окисненні QH<sub>m</sub> (×); pH 9.2 для PG (a),  $p$ -QH<sub>2</sub> (b), GK (c), 4CH<sub>3</sub>- $o$ -QH<sub>2</sub> (d),  $o$ -QH<sub>2</sub> (e)

Залежності швидкостей зародження радикалів при  $[\text{AscH}_2]_0 = \text{const}$  від концентрації QH<sub>m</sub> є лінійними (див. рис. 3.9). Відрізки, що відсікаються на осі ординат, обумовлені, мабуть, внеском другого і третього доданків у рівнянні (3.17) в сумарне значення швидкості зародження радикалів. На визначальну роль реакції між QH<sub>m</sub> і O<sub>2</sub> в радикалоутворенні вказує також збільшення  $V_i$  з ростом  $V_{O_2}$  (рис. 3.12, кр. 4), що спостерігалось в експерименті.

Значення  $E^0$  для реакції  $\text{HO}^\bullet + \text{H}^+ + e^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}$  становить +2310 mV (див. табл. 2.10), тобто, щоб гідроксид-іон виступав в якості одноелектронного відновника, він повинен бути в парі зі сполукою, що володіє дуже сильною окисною здатністю. Величина електрорушійної сили (ЕРС) для реакції (2.26), в якій в якості акцептора електронів виступає O<sub>2</sub>, буде  $> 0$ , якщо добуток  $[\text{HO}^\bullet] \times [\text{O}_2^{\bullet-}]$  в реакційній суміші буде  $< 7.0 \cdot 10^{-41}$  і  $< 1.0 \cdot 10^{-37}$  при pH 9.2 і 12.5, відповідно ( $[\text{O}_2] = 0.2$  mM). Тобто, ймовірність здійснення цієї реакції в умовах експерименту мізерно мала, а, отже, внесок другого доданка в значення  $V_i$  в рівняннях (3.16) або (3.17), очевидно, несуттєвий.

Зі значень відрізків, що відсікаються (див. рис. 3.9), можна обчислити швидкості зародження радикалів у процесі інгібованого автоокиснення QH<sub>m</sub>, обумовлені протіканням реакцій (2.26) і (3.14). Використовуючи ці значення і припускаючи, що додатковий внесок у сумарну величину  $V_i$  обумовлений тільки однією із зазначених вище реакцій, були обчислені окремо величини

$k_{2.26}$  і  $k_{3.14}$ , які наведені в табл. 3.4. Значення  $k_{3.14}$  розраховували, вважаючи, що одноелектронним відновником  $O_2$  виступає  $AscH^-$ , оскільки в зазначених межах рН його відсотковий вміст у розчині змінюється в межах 98– $\approx$ 100 % щодо  $[AscH_2]_0$ . Величини  $k_{2.26}$  змінюються в межах двох порядків, тоді як  $k_{3.14}$  залишаються постійними в межах похибки експерименту (табл. 3.4). Ці дані також вказують на те, що додатковий внесок у сумарну величину  $V_i$  у рівняннях (3.16) або (3.17) обумовлений третім доданком, і, отже, ці вирази можуть бути спрощені:

$$V_i = k_{2.24} \cdot [QH^-] \cdot [O_2] + k_{3.14} \cdot [Asc^{2-}(AscH^-)] \cdot [O_2], \quad (3.18)$$

$$V_i = \frac{k_{2.24} \cdot K_{a1}^{QH_2} \cdot [O_2]}{K_{a1}^{QH_2} + [H^+]} \cdot [QH_2]_0 + \frac{k_{3.14} \cdot K_{a1}^{AscH_2} \cdot [O_2]}{K_{a1}^{AscH_2} + [H^+]} \cdot [AscH_2]_0. \quad (3.19)$$

При цьому залежність  $V_i$  від  $[H^+]$  залишається нелінійною.

Порівнюючи значення швидкостей за реакцією (2.24) ( $V_i^{QH^-}$ ), зі швидкостями реакції (3.14) ( $V_i^{AscH^-, Asc^{2-}}$ ), можна відзначити, що швидкість останньої, як мінімум, у 2–3 рази менша (табл. 3.2). Оскільки основний внесок у сумарну величину швидкості зародження радикалів дає перший доданок, у рівнянні (3.19) можна оцінити величину константи  $k_{2.24}$ , ґрунтуючись на міркуваннях, які наведено нижче.

Таблиця 3.4

Кінетичні параметри реакції зародження радикалів (2.26) і (3.14) при автоокисненні  $QH_n$ ;  $T = 308 \text{ K}$

$QH_m$	pH	$V_i \cdot 10^7, \text{ M} \cdot \text{c}^{-1}$	$[AscH_2]_0, \text{ mM}$	$k_{3.14}^{AscH^-}, (\text{M} \cdot \text{c})^{-1}$	$k_{2.26}^{OH^-}, (\text{M} \cdot \text{c})^{-1}$
<i>p</i> -QH <sub>2</sub>	8.0	0.76	0.5	0.76	381
	9.2	9.5	5.0	0.95	298
	9.9	14.8	10.0	0.74	93
PG	9.2	15.7	5.0	1.57	495
	9.9	0.88	0.5	0.88	5.5
<i>o</i> -QH <sub>2</sub>	9.2	0.98	0.3	1.63	31
Cl- <i>p</i> -QH <sub>2</sub>	8.0	0.93	0.4	1.16	466
$X_{cp} \pm \Delta x$	–			$1.1 \pm 0.3$	–

$\Delta x$  – довірчий інтервал для  $\alpha = 0.05$ ;  $[O_2] = 0.2 \text{ mM}$

Оскільки дослідження кінетики інгібованого окиснення  $QH_m$  проведені в різних за складом буферних системах, для врахування впливу іонної сили розчинів на кінетичні параметри процесу термодинамічні константи дисоціації фенолів ( $K_a$ ) перераховували в концентраційні ( $K_c$ ) за допомогою рівнянь:

$$K_{c1} = \frac{K_{a1} \cdot f^{QH_n}}{f^{QH_{(n-1)}} \cdot f^{H^+}} \text{ і } K_{c2} = \frac{K_{a2} \cdot f^{QH_{(n-1)}}}{f^{QH_{(n-2)}} \cdot f^{H^+}}.$$

Коефіцієнти активності для індивідуальних іонів при 308 К розраховували за формулою [315, 316]:

$$\lg f_i = -0.5211 \cdot z_i^2 \cdot \left( \frac{\sqrt{I}}{1 + 0.3312 \cdot a_i \cdot \sqrt{I}} - 0.2I \right),$$

значення ефективних радіусів ( $a_i$ ) для  $[H^+]=9$ ,  $[OH^-]=3.5$  і аніонів фенолів приймали такими, що дорівнюють 6 [312],  $f^{QH_n} = 1$  [306].

Навіть відносно невисокі значення іонної сили буферних розчинів, що використовуються, впливають на значення  $K_c$  (див. табл. 3.2). Врахування значень  $K_{c2}$  для всіх досліджених  $QH_m$  практично не впливає на  $k_{2.24}$  (табл. 3.2). Зважаючи на сказане, константи швидкості зародження радикалів у реакціях автоокиснення  $p$ -QH<sub>2</sub>, Cl- $p$ -QH<sub>2</sub>, 2,5Cl<sub>2</sub>- $p$ -QH<sub>2</sub>,  $o$ -QH<sub>2</sub>, 4CH<sub>3</sub>- $o$ -QH<sub>2</sub>, PG розраховували за рівнянням:

$$k_{2.24} = \frac{V_i^{QH_{(m-1)}} \cdot (K_{c1}^{QH_m} + [H^+])}{K_{c1}^{QH_m} \cdot [O_2] \cdot [QH_m]_0}, \quad (3.20)$$

з урахуванням  $K_{c2}$ :

$$k'_{2.24} = \frac{V_i^{QH_{(m-1)}} \cdot (K_{c1}^{QH_m} \cdot [H^+] + K_{c1}^{QH_m} \cdot K_{c2}^{QH_m} + [H^+]^2)}{K_{c1}^{QH_m} \cdot [H^+] \cdot [O_2] \cdot [QH_m]_0}, \quad (3.21)$$

для GK:

$$k''_{2.24} = \frac{V_i^{GK} \cdot (K_{c1}^{QH_4} \cdot [H^+] + K_{c1}^{QH_4} \cdot K_{c2}^{QH_4} + [H^+]^2)}{K_{c1}^{QH_4} \cdot K_{c2}^{QH_4} \cdot [O_2] \cdot [GK]_0}. \quad (3.22)$$

Швидкості зародження радикалів при автоокисненні  $p$ -QH<sub>2</sub>, виміряні при різних рН і в різних за складом буферних системах, змінюються в межах двох порядків (див. табл. 3.2). Водночас значення константи  $k_{2.24}$  для цього фенолу залишається постійним з середньою величиною в межах похибки вимірювань  $(26 \pm 4) \text{ М}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ . Така ж величина  $(25 \pm 2) \text{ М}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$  отримана із залежності швидкості зародження радикалів від  $[p - QH^-]$ , наведеної на рис. 3.12 (пряма 2). Однак опис залежності між параметрами в лінійному вигляді при їх варіюванні в широких межах не завжди є точним. Тому було промодельовано залежність швидкості зародження радикалів від рН середовища за рівнянням:

$$V_i = \frac{k_{2.24}^{p-QH_2} \cdot K_{c1}^{p-QH_2} \cdot 10^{-pH} \cdot [O_2] \cdot [p-QH_2]_0}{K_{c1}^{p-QH_2} \cdot 10^{-pH} + K_{c1}^{p-QH_2} \cdot K_{c2}^{p-QH_2} + 10^{-2pH}} \quad (3.23)$$

Ця залежність має S-подібний вигляд у дослідженому діапазоні рН і добре описує отримані експериментальні дані (див. рис. 3.13). Значення  $k_{2.24}$ , отримане в результаті моделювання, дорівнює  $25.5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$  і відповідає раніше розрахованим значенням констант швидкостей зародження радикалів за реакцією (2.24).

Довжина ланцюгів у процесі автоокиснення  $QH_m$  залежить від будови сполуки, рН середовища і не перевищує 10 (табл. 3.2). Однак цей параметр може бути трохи завищеним, оскільки каталітичний внесок реакції (2.27) у швидкість поглинання  $O_2$  у процесі неінгібованого автоокиснення  $QH_m$  може бути значним. Тому, ймовірно, процес автоокиснення зазначених вище фенолів у водному середовищі є радикальним неланцюговим або коротколанцюговим.

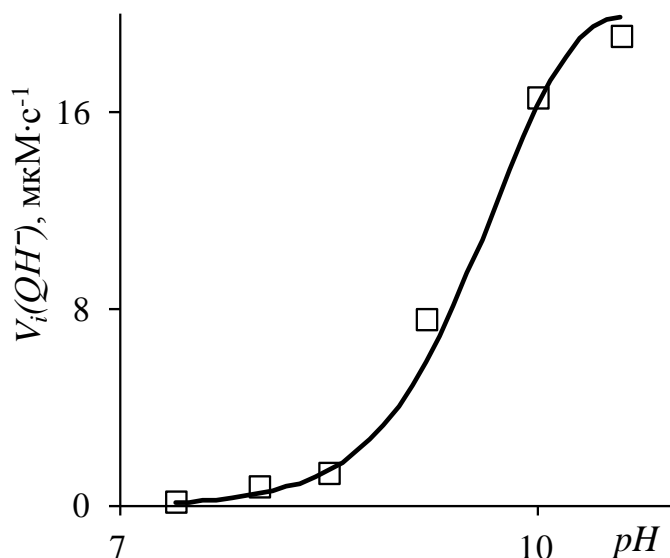


Рис. 3.13 Залежність швидкості зародження радикалів від рН середовища при автоокисненні  $p$ - $QH_2$ .  $[p-QH_2]_0 = 5.0 \text{ mM}$ ;  $[O_2]_0 = 0.2 \text{ mM}$ ; значення  $K_c$  наведені в табл. 3.2:  $\square$  – експериментальні дані; суцільна лінія – розрахункова крива

Отже, виконані дослідження кінетики автоокиснення багатоатомних фенолів у водному середовищі свідчать на користь протікання реакції окиснення за радикальним механізмом, ключова роль в якому належить супероксиданіон-радикалу. Найефективніше окиснюються феноли, що утворюють пару фенол-хінон. Утворення хінону в електронно-збудженому стані під час автоокиснення фенолів обумовлює появу хемілюмінесценції. Зародження радикалів при автоокисненні фенолів у водному середовищі відбувається у процесі перенесення електрона з фенолят-іонів на кисень за механізмом PCET. Застосування методу інгібіторів дозволяє визначити константи швидкості реакції зародження радикалів.

## РОЗДІЛ IV ОКИСНЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК ЧАЙНИХ ЕКСТРАКТІВ

### 4.1 Фенольні сполуки і фенолкарбонові кислоти – універсальні компоненти чаїв

Світове виробництво чаю становить більше 5 млн тонн. Найбільшими виробниками чайної сировини і готової продукції є Китай, Індія та Шрі-Ланка (див. рис. 4.1а). До 2027 р. очікується збільшення виробництва чорного чаю до 4,42, а зеленого – до 3,65 млн тонн.

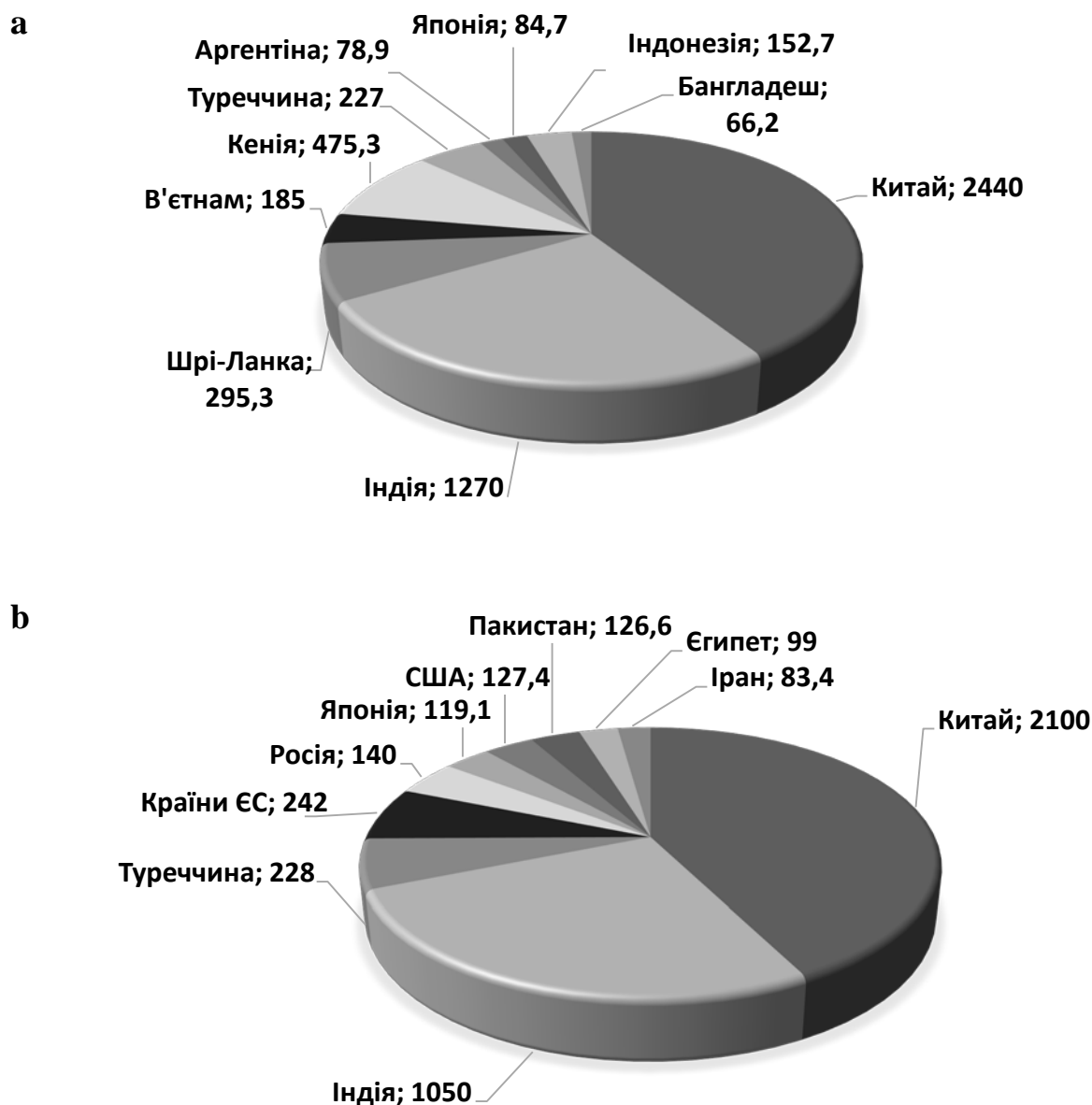


Рис. 4.1 Найбільші виробники (а) та споживачі чайної сировини і готової продукції (б) у 2016 р. (тис. тонн на рік) [317]

Універсальними компонентами чайної рослини є фенольні сполуки (ФС): фенолкарбонові кислоти, флавоноїди, таніни [318]. Їх вміст є одним з основних показників якості вихідної чайної сировини і готової продукції.

Таблиця 4.1

Вміст фенольних сполук в екстрактах чаю  
(\* Сорт чаю: ж – жовтий, з – зелений, черв. – червоний, чорн. – чорний)

№	*	Назва (країна), виробник	Вміст ФС, мас. % за методом		
			Левенталія	Дейса	Фоліна-Чікольте
1	ж	Тумани Хуанг Шаня (Китай), «Чайна країна»	$0.30 \pm 0.01$	$0.38 \pm 0.15$	$0.215 \pm 0.007$
2	з	Хейліс (Цейлон), «Редженсі Ті Лтд»	$0.36 \pm 0.01$	$0.47 \pm 0.24$	$0.249 \pm 0.003$
3	з	Лазурний розсип (Китай), «Чайна країна»	$0.241 \pm 0.004$	$0.29 \pm 0.08$	$0.179 \pm 0.003$
4	з	Едвін (Цейлон), «Маброк Ті Лтд»	$0.100 \pm 0.008$	–	$0.235 \pm 0.005$
5	з	Greenfield Flying Dragon (Цейлон), «Орімі Трейд»	$0.35 \pm 0.01$	–	$0.300 \pm 0.005$
6	з	Принцеса Ява (Китай), «Орімі Трейд»	$0.14 \pm 0.01$	–	$0.213 \pm 0.001$
7	з	Золотий Дракон (Китай), «Мономах»	$0.270 \pm 0.005$	–	$0.339 \pm 0.001$
8	черв	Формоза Оолонг (Тайвань), «Nadin tea»	$0.17 \pm 0.01$	–	$0.170 \pm 0.006$
9	черв	Pu-Erh (Китай), «Екопродукт»	$0.030 \pm 0.005$	–	$0.118 \pm 0.004$
10	чорн	Дарджелінг (Індія), «Wittard of Chelsea»	$0.289 \pm 0.004$	$0.36 \pm 0.15$	$0.223 \pm 0.004$
11	чорн	Акбар (Цейлон), «Акбар»	$0.121 \pm 0.007$	$0.35 \pm 0.19$	$0.109 \pm 0.005$
12	чорн	Сонячна долина (Китай), «Чайна країна»	$0.10 \pm 0.01$	$0.19 \pm 0.16$	$0.099 \pm 0.001$
13	чорн	Ахмад (Цейлон), «Ахмад ті»	$0.11 \pm 0.01$	–	$0.205 \pm 0.002$
14	чорн	Батік (Цейлон), «СолоМія»	$0.130 \pm 0.008$	–	$0.228 \pm 0.004$
15	чорн	Едвін (Цейлон), «Маброк Ті Лтд»	$0.140 \pm 0.005$	–	$0.211 \pm 0.003$
16	чорн	Greenfield Golden Ceylon (Цейлон), «Орімі Трейд»	$0.16 \pm 0.02$	–	$0.144 \pm 0.002$
17	чорн	Мономах (Цейлон), «Мономах»	$0.210 \pm 0.005$	–	$0.167 \pm 0.002$
18	чорн	Greenfield Kenyan Sunrise (Кенія), «Орімі Трейд»	$0.170 \pm 0.005$	–	$0.142 \pm 0.005$
19	чорн	Брук Бонд (Індія, Кенія, Індонезія), «Юнілевер СНГ»	$0.16 \pm 0.02$	–	$0.228 \pm 0.004$

Екстракти готувались настоюванням протягом 5 хв 0,5 г наважки чаю в 25 мл дист. води за 373 К



Загальний вміст ФС в екстрактах чаю зазвичай знаходять стандартними методами перманганатометрії (метод Левенталю) [319], спектрофотометрії (метод Фоліна-Чікольте) [320] або гравіметрії (метод Дейса) [321]. Як показали дослідження, виконані на досить великій вибірці чаїв, усі три методи дають близькі величини, які добре корелюють між собою (див. табл. 4.1).

Однак, кутовий коефіцієнт нахилу лінійних кореляцій для порівнюваних пар методів Дейса і Левенталю, Дейса і Фоліна-Чікольте не дорівнює одиниці, а результати гравіметрії, схоже, містять у собі ще й систематичну похибку (зміщені за віссю ординат) (див. рис. 4.2а, b, c). Ймовірною причиною цього може бути співосадження поряд з фенольними сполуками й інших органічних і неорганічних речовин чайних екстрактів, які реагують з формальдегідом. Для пари методів Левенталю і Фоліна-Чікольте коефіцієнт близький до одиниці.

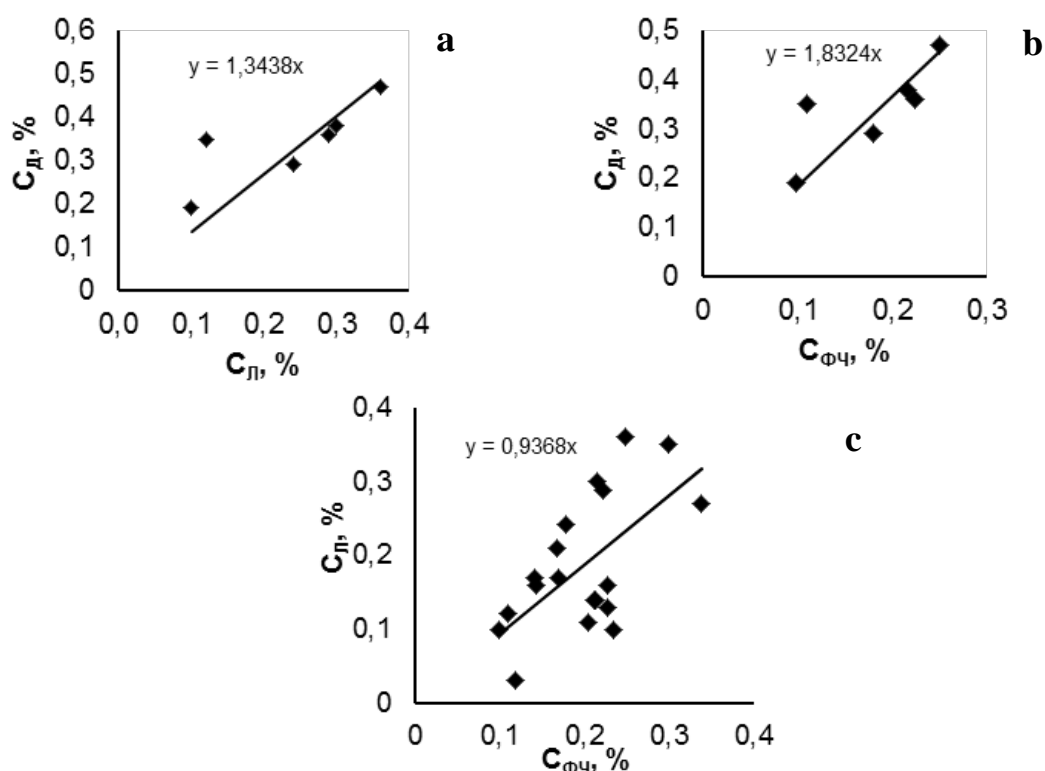


Рис. 4.2 Кореляційна залежність між різними парами методів:  
 а) Дейса (Д) і Левенталю (Л);  
 б) Дейса і Фоліна-Чікольте (ФЧ);  
 в) Левенталю і Фоліна-Чікольте

Найбільш широко використовується метод спектрофотометричного визначення сполук фенольного ряду за Фоліном-Чікольте, який відрізняється насамперед експресністю [320].

В цілому, як видно з табл. 4.1, вміст ФС у зелених чаях більший, ніж у ферментованих (чорних, червоних), проте якісний чорний чай може наближатися за цим показником до зелених (напр., № 10, 13, 14 у табл. 4.1). Вміст фенольних сполук впливає не тільки на якість чаю, але і визначає його антиоксидантні властивості.

## 4.2 Фенолкарбонові компоненти чайних екстрактів

Водні екстракти чайного листа є досить складною сумішшю різних сполук. З цієї причини в кінетичних дослідженнях завжди залишаються невизначеними концентрації реагентів. Це стосується і фенольної складової екстрактів, яка неоднорідна. Тому виникає необхідність дослідження модельних систем. У разі чайних екстрактів це можуть бути водні розчини фенолкарбонових кислот, зокрема, розчини тригідроксибензойних кислот. Вони містяться в екстрактах всіх чаїв і в досить великих кількостях, що було показано для галоїної кислоти (див. табл. 4.2), яку визначали методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) (*Laboratory pristroje LSD 2563, Praha, UV-VIS detector, колонка 3×150, сорбент Separon C18, рухлива фаза – ацетонітрил: вода (7:3)*). Це дозволяє визначати вміст фенольних сполук методом Фоліна-Чікольте в еквіваленті галоїної кислоти. Як видно з табл. 4.2, екстракти всіх досліджених сортів чаю містять порядку  $10^{-3}$  М галоїної кислоти. У зелених чаях вміст галоїної кислоти дещо вищий, ніж у чорних.

Таблиця 4.2

Вміст галоїної кислоти в екстрактах чаю

Сорт чаю	Торгова марка	$C_{ГК} \cdot 10^3, \text{М}$
З	«Хейліс»	$4.76 \pm 0.09$
З	«Лазурний розсип»	$7.0 \pm 0.14$
З	«Грінфілд»	$3.11 \pm 0.06$
З	«Едвін»	$9.8 \pm 0.2$
З	«Мономах»	$9.3 \pm 0.2$
З	«Ява»	$6.7 \pm 0.13$
чорн	«Пу-ер»	$0.97 \pm 0.2$
чорн	«Сонячна долина»	$3.04 \pm 0.06$
чорн	«Батік»	$1.02 \pm 0.02$
чорн	«Мономах»	$5.6 \pm 0.11$
чорн	«Грінфілд Kenian Sunrise»	$1.22 \pm 0.02$
чорн	«Едвін»	$1.02 \pm 0.02$

## 4.3 Окиснення фенолкарбонових кислот

Моногідроксибензойні кислоти в умовах експерименту не поглинають кисень, не спостерігається і ХЛ-світіння при їх окисненні. Не зафіксовано газоволюмометричним методом і поглинання кисню при окисненні дигідроксибензойних кислот (див. Розділ II). При окисненні тригідроксибензойних кислот (2,3,4-тригідроксибензойної та галоїної кислоти) спостерігається поглинання кисню, ХЛ, а також зменшення концентрації субстрату (рис 4.3а і б).

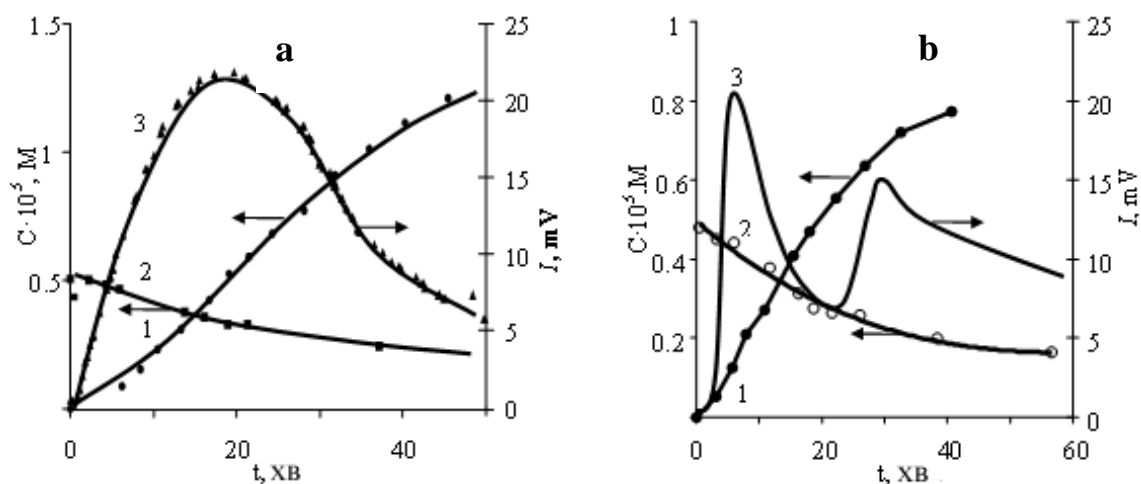


Рис. 4.3 Кінетичні криві поглинання кисню (1), хемілюмінесценції (2) і витрачання субстрату (3) при окисненні PGK (a) і GK (b). КБС, рН 9.2,  $T = 303\text{K}$ ,  $C_0 = 5.0 \text{ mM}$

З кінетичних кривих витрачання ФС (рис. 4.3) методом початкових швидкостей визначений порядок реакції за кислотою, який близький до одиниці. Порядки реакції, визначені з використанням даних, отриманих методами газovolюмометрії та спектрофотометрії, співпадають у межах похибки. З лінійних анаморфоз кінетичних кривих витрачання кислот отримано спостережувані константи швидкості першого порядку, з яких розраховані константи швидкості реакції другого порядку (табл. 4.3).

При окисненні дигідроксибензойних кислот у водно-лужному середовищі молекулярним киснем спостерігається слабке ХЛ-світіння (рис. 4.4). Його інтенсивність у кілька разів нижча, ніж при окисненні тригідроксибензойних кислот.

Таблиця 4.3

Кінетичні параметри реакції окиснення ФС

рН	PGK			GK		
	$n^*$	$k_{\text{ef}}^{**}, \text{M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$	$E_a, \text{кДж/моль}$	$n^*$	$k_{\text{ef}}^{**}, \text{M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$	$E_a, \text{кДж/моль}$
9.2	$(0.99 \pm 0.03)$ $1.3 \pm 0.3$	$1.45 \pm 0.05$	$39 \pm 9$	$(1.4 \pm 0.5)$ $1.31 \pm 0.03$	$1.96 \pm 0.08$	$55 \pm 12$
10.2	$(1.3 \pm 0.3)$ $1.2 \pm 0.3$	$4.8 \pm 0.3$	$12 \pm 1$	$(0.9 \pm 0.1)$ $1.2 \pm 0.1$	$8.9 \pm 0.6$	$31 \pm 7$
10.8	$(0.6 \pm 0.2)$ $1.2 \pm 0.3$	$11.4 \pm 0.2$	$17 \pm 3$	$(1.20 \pm 0.02)$ $1.2 \pm 0.1$	$9.8 \pm 0.2$	$23 \pm 5$

\* У дужках наведені значення порядку реакції, визначені газovolюмометричним методом

\*\* Величини константи швидкості реакції розраховані для  $303 \text{ K}$  при концентрації розчиненого кисню  $0.22 \text{ mM}$

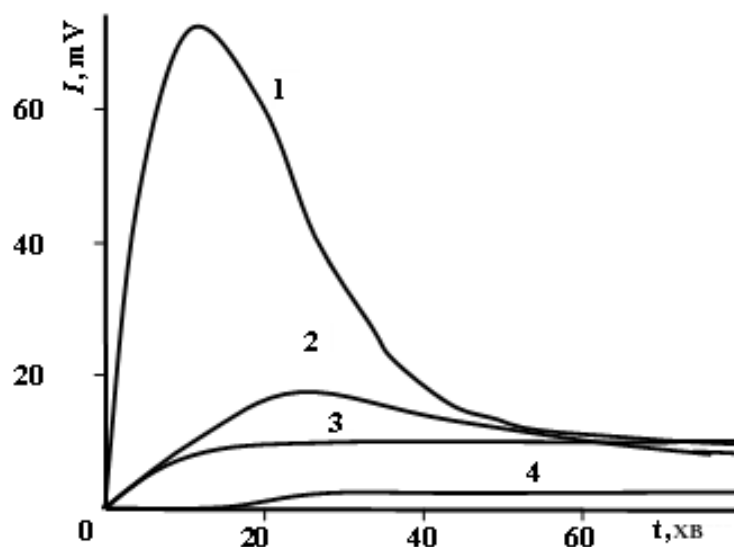


Рис. 4.4 Кінетичні криві ХЛ при автоокисненні гідроксибензенових кислот.  $T=303\text{ K}$ :

1. – GK ( $C_0=1.0\text{ mM}$ ), pH 9.2;
2. – 2,5-дигідроксибензойна кислота ( $C_0 = 10\text{ mM}$ ), pH 9.2;
3. – 3,4-дигідроксибензойна кислота ( $C_0 = 10\text{ mM}$ ), pH 9.2;
4. – 2,3-дигідроксибензойна кислота ( $C_0 = 10\text{ mM}$ ), pH 10.8

Інтенсивність і характер ХЛ-світіння змінюється залежно від pH середовища і складу буферної системи (рис. 4.5).

На кривих ХЛ-світіння при окисненні GK у карбонатному буфері у всьому дослідженому інтервалі концентрацій кислоти (0.1–3.0 mM) спостерігається два максимуми (рис. 4.6а). Для PGK на кривій ХЛ є один максимум, інтенсивність якого зростає зі збільшенням концентрації кислоти (рис. 4.6б).

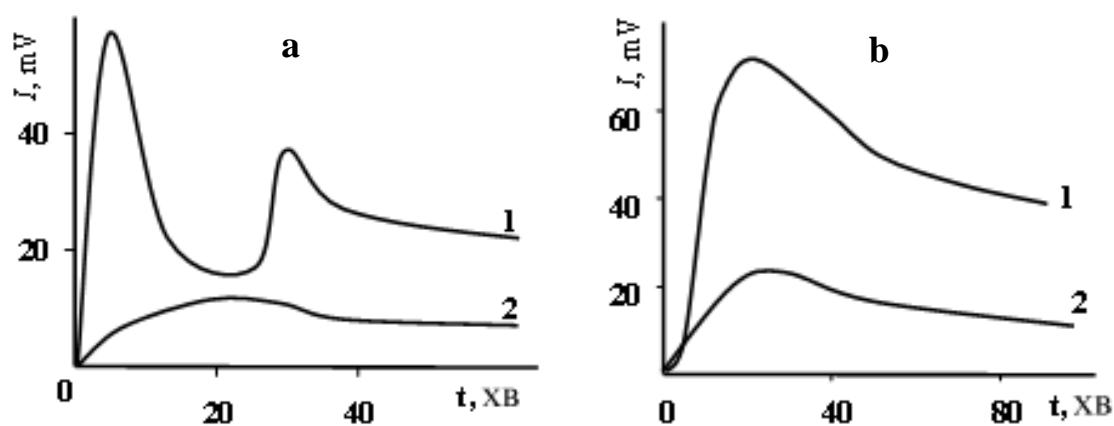


Рис. 4.5 Кінетичні криві ХЛ при автоокисненні GK (a) і PGK (b):  
1. – КБС pH 9.2; 2. – ФБС pH 8.0.  $T = 303\text{ K}$ ,  $C_0 = 3.0\text{ mM}$

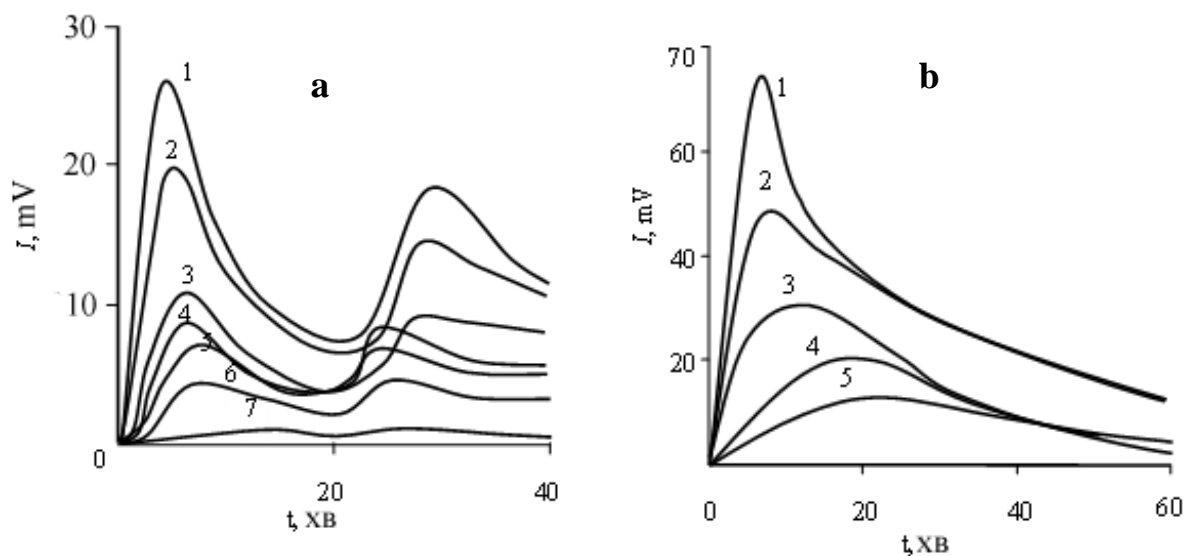


Рис. 4.6 Кінетичні криві ХЛ при автоокисненні тригідроксibenзойних кислот у водно-лужному середовищі. рН 9.2,  $T = 303\text{K}$ :  
 а)  $[GK]_0$ : 1. – 5.0 мМ; 2. – 3.0 мМ; 3. – 1.0 мМ; 4. – 0.7 мМ; 5. – 0.3 мМ; 6. – 0.2 мМ; 7. – 0.15 мМ;  
 б)  $[PGK]_0$ : 1. – 3.0 мМ; 2. – 2.0 мМ; 3. – 1.0 мМ; 4. – 0.6 мМ; 5. – 0.3 мМ

Зі збільшенням рН при окисленні PGK максимум ХЛ зсувається в бік початку реакції (рис. 4.7б). Водночас інтенсивність максимумів при різних рН практично не змінюється. В реакції окиснення GK зміна рН буферного розчину призводить до зміни інтенсивності і форми кривої ХЛ. При рН 9.2 спостерігається два максимуми (рис. 4.6а). При збільшенні рН буферної системи змінюється співвідношення інтенсивностей максимумів світіння. Час досягнення першого максимуму ХЛ-світіння відповідає фазі активного витрачання галової кислоти в реакційній суміші, що підтверджується спектроскопічними дослідженнями. Вихід на плато кінетичної кривої поглинання кисню відбувається значно пізніше.

Таким чином, окиснення галової кислоти відбувається в перші хвилини реакції. Кисень, який поглинається в подальшому, йде на взаємодію з продуктами, що утворюються з галової кислоти.

Для визначення швидкості зародження радикалів при окисленні ФС застосований метод інгібіторів, в якості якого використано аскорбінову кислоту. Добавки аскорбінової кислоти гасять ХЛ-світіння, а на кінетичних кривих ХЛ чітко проявляються періоди індукції (рис. 4.8).

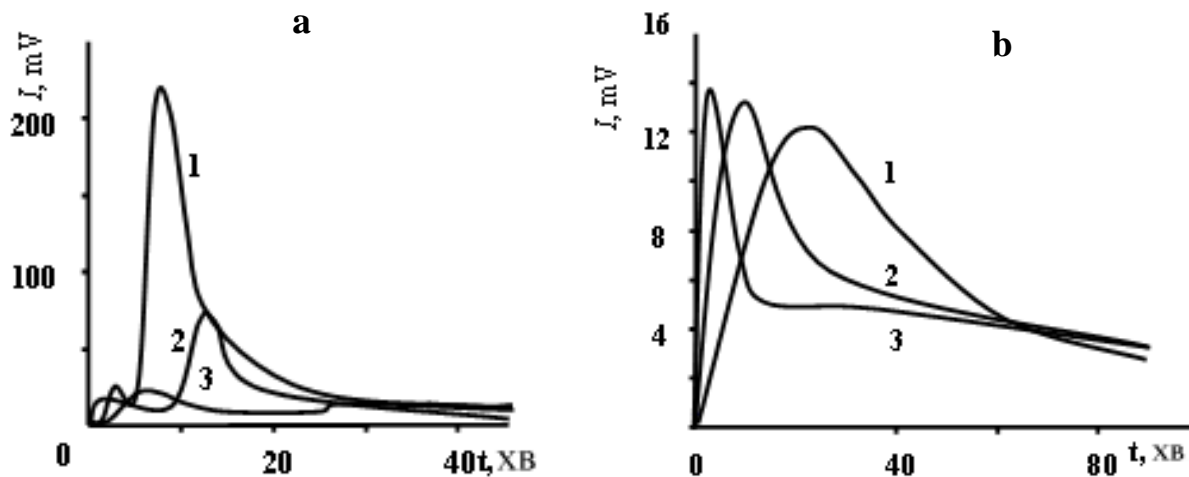


Рис. 4.7 Вплив рН на кінетичні криві хемілюмінесценції при автоокисненні тригідроксибензойних кислот.  $C_0 = 0.3$  мМ,  $T = 303$  К:

а) GK, рН: 1. – 9.2; 2. – 10.2; 3. – 10.8;

б) PGK, рН: 1. – 9.2; 2. – 10.2; 3. – 10.8

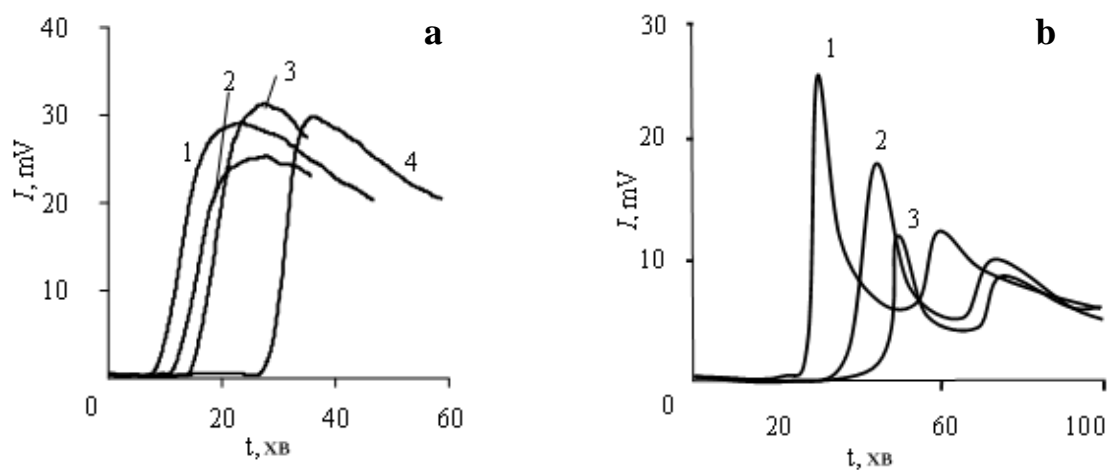


Рис. 4.8 Кінетичні криві ХЛ при інгібованому аскорбіновою кислотою автоокисненні тригідроксибензойних кислот.  $C_0 = 3.0$  мМ, рН 9.2,  $T = 303$  К:

а) PGK,  $[AscH_2]_0$ : 1. – 2.0 мМ; 2. – 3.0 мМ; 3. – 4.0 мМ; 4. – 6.0 мМ;

б) GK,  $[AscH_2]_0$ : 1. – 1.0 мМ; 2. – 3.0 мМ; 3. – 5.0 мМ

Після виходу з періоду індукції характер кривих ХЛ зберігається, а величина  $\tau_{ind}$  лінійно збільшується з концентрацією  $AscH_2$  при всіх значеннях рН (рис. 4.9). Це характерна і основоположна ознака радикальних процесів з лінійним обривом ланцюгів на молекулах інгібітора [26], роль якого виконує аскорбінова кислота.

Період індукції з кривих ХЛ визначали так само, як описано в розділі 3.1.

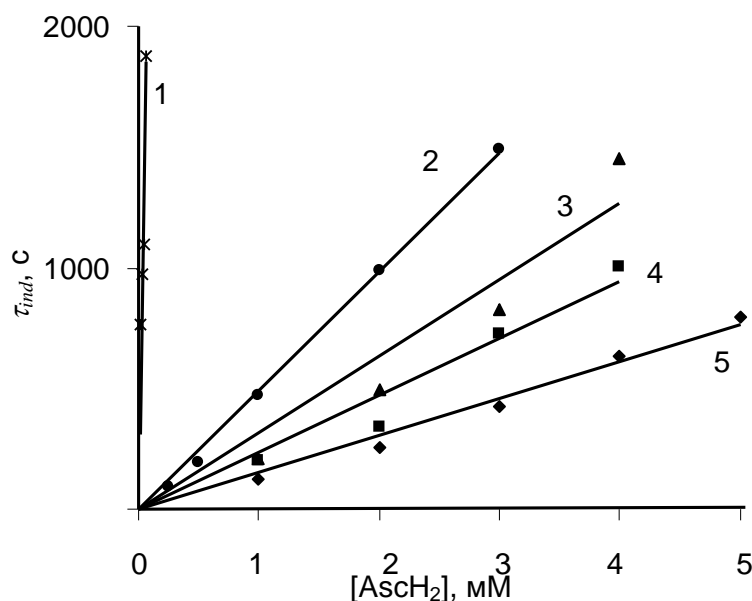


Рис. 4.9 Залежність величини періоду індукції від концентрації аскорбінової кислоти при автоокисненні PGK.  $T = 303\text{ K}$ ; pH: 1. – 8.0; 2. – 9.2; 3. – 9.5; 4. – 9.8; 5. – 10.8

Розраховані за рівнянням (3.8) значення швидкостей зародження радикалів при автоокисненні PGK і GK наведені в табл. 4.4.

Таблиця 4.4

Швидкості зародження радикалів при автоокисненні QH<sub>m</sub>;  
 $C_0 = 3.0\text{ mM}$ ;  $T = 303\text{ K}$

pH	$V_i, \text{ M} \cdot \text{s}^{-1}$	
	PGK	GK
8.0	$(3.1 \pm 0.4) \cdot 10^{-8}$	$(1.9 \pm 0.4) \cdot 10^{-8}$
9.2	$(2.0 \pm 0.6) \cdot 10^{-6}$	$(2.0 \pm 0.1) \cdot 10^{-6}$
9.5	$(2.7 \pm 0.9) \cdot 10^{-6}$	$(4.4 \pm 0.9) \cdot 10^{-6}$
9.8	$(3.1 \pm 0.9) \cdot 10^{-6}$	$(6.0 \pm 0.9) \cdot 10^{-6}$
10.1	$(6.1 \pm 0.8) \cdot 10^{-6}$	$(9.9 \pm 0.9) \cdot 10^{-6}$

Швидкість зародження радикалів при автоокисненні тригідроксибензойних кислот лінійно підвищується з їх концентрацією, що спостерігається в усьому інтервалі pH. Це дозволяє стверджувати, що радикали утворюються в реакції фенолкарбонової кислоти з киснем. Зростання швидкості зародження радикалів зі збільшенням pH середовища (див. табл. 4.4) свідчить про домінування у процесах генерування радикалів іонізованих форм фенолкарбонових кислот. Це узгоджується з результатами, наведеними у розділі III, а також у роботах [322, 323]. При цьому, карбоксильна група у всьому дослідженому діапазоні pH в обох ФКК дисоційована практично на 100 % (див. табл. 4.5).

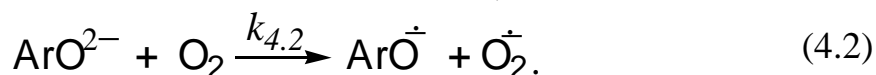
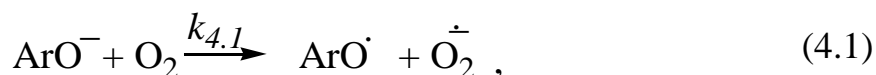
Таблиця 4.5

Термодинамічні константи дисоціації QH<sub>n</sub>; T = 298K

ФКК	$pK_1$	$pK_2$	$pK_3$	$pK_4$
GK	4.33±0.10; 4.41 [324]; 4.19 [312]	8.95 ± 0.23; 8.85 [312]	12.3 ± 0.2	14.4 ± 0.2
PGK	3.30 ± 0.13 (3.26 [312])	8.91 ± 0.23	12.68 ± 0.15	16.96 ± 0.15

\*Значення  $pK_n$ , для яких не наведено посилання, запозичені з [325]

Однозарядні карбоксіаніони в зародженні радикалів не беруть участь. Залишаються моно- ( $\text{ArO}^-$ ) бі- ( $\text{ArO}^{2-}$ ) і трифенолят- ( $\text{ArO}^{3-}$ ) аніони. В цих аніонах сумарний від'ємний заряд на одиницю більший за рахунок карбоксигрупи. Оскільки вона завжди повністю депротонувана, її заряд зручно опустити в термінах і позначеннях. Через великі величини  $pK_4$  (див. табл. 4.5) можна також знехтувати концентрацією трифенолятаніона  $\text{ArO}^{3-}$  і обмежитися тільки двома реакціями моно- ( $\text{ArO}^-$ ) і біфенолятаніонів ( $\text{ArO}^{2-}$ ) з молекулярним киснем:



Відштовхуючись від співвідношення (3.8), швидкість зародження радикалів за участю  $\text{ArO}^-$  і  $\text{ArO}^{2-}$ -аніонів можна представити таким рівнянням:

$$V_i = k_{4.1} \cdot [\text{O}_2] \cdot [\text{ArO}^-] + k_{4.2} \cdot [\text{O}_2] \cdot [\text{ArO}^{2-}] = \frac{f \cdot [\text{AscH}_2]}{\tau_{\text{ind}}}. \quad (4.3)$$

Для розрахунку мольних часток дисоціатів за другим ( $\alpha_2$ ) і третім ( $\alpha_3$ ) ступенями зручно використовувати рН-функції Міхаеліса  $f^-$  і  $f^{2-}$  [326]:

$$\alpha_2 = \frac{1}{f^-}, \text{ де } f^- = 1 + \frac{[\text{H}^+]}{K_2} + \frac{K_3}{[\text{H}^+]}, \quad (4.4)$$

$$\alpha_3 = \frac{1}{f^{2-}}, \text{ де } f^{2-} = 1 + \frac{[\text{H}^+]}{K_3} + \frac{[\text{H}^+]^2}{K_2 \cdot K_3}. \quad (4.5)$$

З урахуванням цього, рівняння (4.3) запишеться як:

$$V_i = k_{4.1} \cdot [\text{O}_2] \cdot \alpha_2 \cdot [\text{ArOH}] + k_{4.2} \cdot \alpha_3 \cdot [\text{O}_2] \cdot [\text{ArOH}] = \frac{f \cdot [\text{AscH}_2]}{\tau_{\text{ind}}}, \quad (4.6)$$

де  $[\text{ArOH}]$  – вихідна концентрація фенолкарбонових кислот.



За відомих концентрацій кисню, субстрату (ArOH) та інгібітора (AscH<sub>2</sub>) рівняння (4.6) можна привести до зручного для обробки експериментальних даних лінійного вигляду:

$$\frac{[\text{AscH}_2] \cdot f}{[\text{O}_2] \cdot [\text{ArOH}] \cdot \tau_{\text{ind}} \cdot \alpha_2} = k_{4.1} + k_{4.2} \frac{\alpha_3}{\alpha_2} \quad (4.7)$$

Розрахунки за рівнянням (4.7) на основі експериментальних даних для PGK (23 точки) і GK (20 точок) з варіюванням концентрації AscH<sub>2</sub> при значеннях pH 8.0, 9.2, 9.5, 9.8 і 10.1 наведені на рис. 4.10, де

$$Y_{(X)} = \frac{[\text{AscH}_2] \cdot f}{[\text{O}_2] \cdot [\text{ArOH}] \cdot \alpha_2 \cdot \tau_{\text{ind}}}; \quad X = \frac{\alpha_3}{\alpha_2}.$$

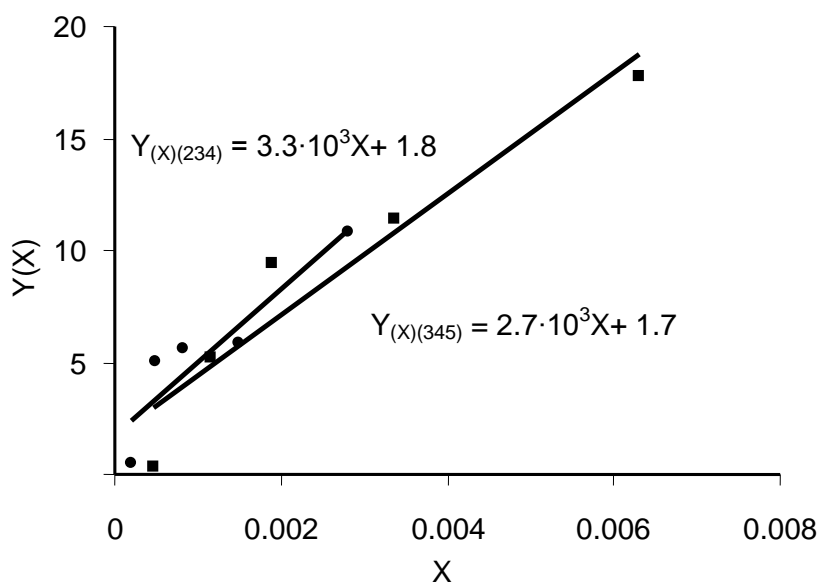


Рис. 4.10 Експериментальні данні для PGK ( $Y_{(X),(2,3,4)}$ ) і GK ( $Y_{(X),(3,4,5)}$ ) в координатах рівняння (4.7) при pH 8.0; 9.2; 9.5; 9.8; 10.1.  $T = 303 \text{ K}$ :

● – 2,3,4-тригідроксибензойна кислота; ■ – 3,4,5-тригідроксибензойна кислота

Для тригідроксибензових кислот у двох буферних системах залежності в межах похибки вимірювань є лінійними. Розраховані з відрізків, що відсікаються, і кутових нахилів прямих (рис. 4.10) константи швидкостей реакцій моно- ( $k_{4.1}$ ) і біаніон-фенолятів ( $k_{4.2}$ ) з молекулярним киснем розрізняються на три порядки і становлять при 303 K відповідно:

$$\text{для PGK: } k_{4.1} = 2.5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}; \quad k_{4.2} = 3.8 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1};$$

$$\text{для GK: } k_{4.1} = 1.8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}; \quad k_{4.2} = 2.7 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}.$$

Настільки велика різниця в константах швидкостей нівелюється, однак, у швидкостях зародження радикалів за участю моно- і біаніонів, оскільки вміст

останнього в реакційному середовищі на три порядки менший. Унаслідок швидкості радикалоутворення за участю обох аніонів виявляються сумірними.

При постійному рН ( $\alpha_2$  і  $\alpha_3$  – const) рівняння (4.7) приводиться до лінійної залежності виду:

$$Y_{(\tau)} = \frac{[\text{AscH}_2] \cdot f}{[\text{O}_2][\text{ArOH}]\alpha_2} = \left( k_{4.1} + k_{4.2} + \frac{\alpha_3}{\alpha_2} \right) \tau_{ind}. \quad (4.8)$$

Відповідно до рівняння (4.8) величини періодів індукції, виміряні при різних концентраціях аскорбінової кислоти, тригідроксибензойних кислот і  $\text{O}_2$ , повинні укладатися на одну пряму. Для обох кислот це дійсно виконується, і для PGK графік такої залежності наведено як приклад на рис. 4.11.

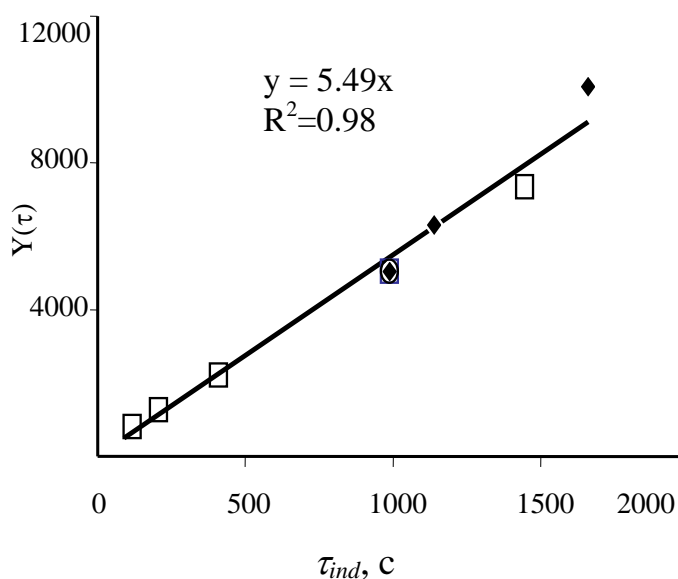


Рис. 4.11 Експериментальні дані залежності величини періоду індукції від концентрацій  $\text{AscH}_2$  (5 точок) і  $\text{QH}_m$  (3 точки) при окисненні PGK у координатах рівняння (4.8).  $T = 303 \text{ K}$ ,  $\text{pH } 9.2$ : □ – аскорбінова кислота; ◆ – 2,3,4-тригідроксибензойна кислота

Величина кутового нахилу прямої на рис. 4.11, що являє собою комбінацію констант швидкості реакцій і постійних –  $\left( k_{4.1} + k_{4.2} \cdot \frac{\alpha_3}{\alpha_2} \right)$ , дорівнює  $(5.5 \pm 0.1)$ . Це збігається в межах похибки з величиною  $4.4 \pm 0.9$  для  $\text{pH } 9.2$ , що була розрахована на основі отриманих вище констант  $k_{4.1}$ ,  $k_{4.2}$  і мольних часток аніонів  $\alpha_2$  і  $\alpha_3$ .

#### 4.4 Кінетика поглинання кисню екстрактами чаю

Незважаючи на високі значення констант швидкостей реакцій фенольних сполук з радикалами [20], у водних розчинах вони самі окиснюються [178] (рис. 4.12).

Поглинання кисню водно-лужними екстрактами чаю пов'язане з окисненням фенольних сполук з утворенням відповідних хінонів. Загальна тенденція така, що екстракти з більш низьким вмістом фенольних сполук окиснюються повільніше, тобто інтенсивність окиснення екстрактів визначається умовами ферментації вихідної сировини.

Оскільки основним компонентом чаю є фенольні сполуки, зокрема таніни, катехіни, похідні галової кислоти, елагова кислота і т. д., то є схожість у кінетиці поглинання кисню при окисненні екстрактів чаю і багатоатомних фенолів (див. Розділ II). На швидкість окиснення впливає рН середовища (рис. 4.13). Для екстрактів зелених сортів чаю залежність швидкості окиснення від рН більш виражена, ніж для чорного чаю.

Водні екстракти зелених сортів чаю інтенсивніше окиснюються (див. табл. 4.6). Середнє значення початкової швидкості поглинання кисню екстрактами зелених сортів чаю становить  $(6.6 \pm 0.4) \cdot 10^{-7} \text{ М} \cdot \text{с}^{-1}$ , а чорних –  $(4.9 \pm 0.4) \cdot 10^{-7} \text{ М} \cdot \text{с}^{-1}$  при рН 9.2 і  $T = 303 \text{ К}$ .

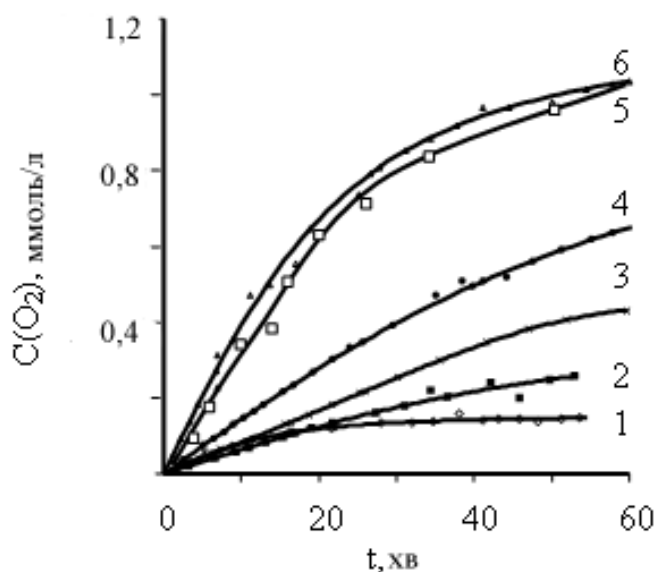


Рис. 4.12 Кінетичні криві поглинання кисню екстрактами чаю рН 9.2,  $T = 303 \text{ К}$ :  
 1. – «Формоза оолонг» (черв.); 2. – «Сонячна долина» (чорн.);  
 3. – «Грінфілд» (чорн.); 4. – Едвін» (чорн.); 5. – «Лазурний розсип» (з);  
 6. – «Тумани Хуанг-Шаня» (ж)

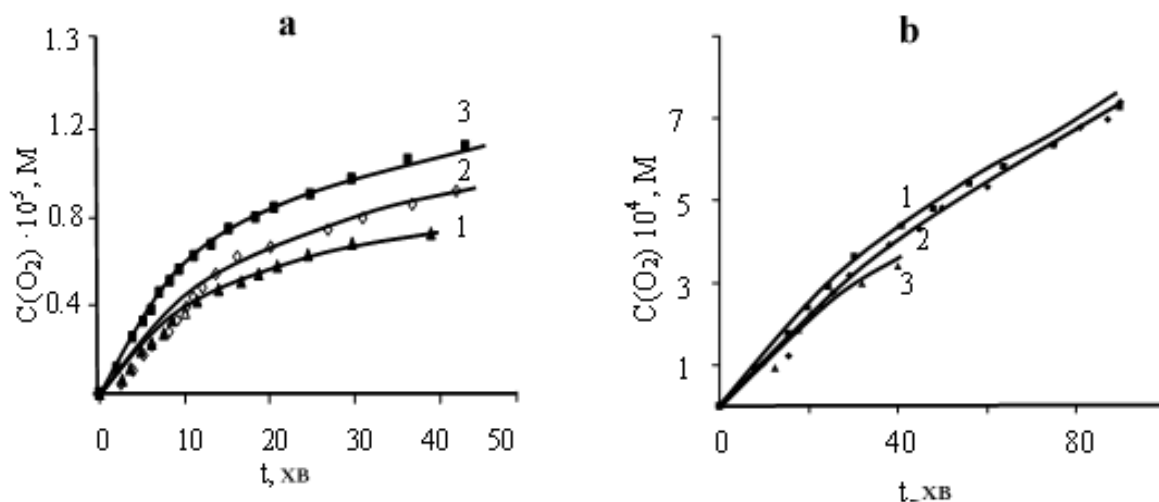


Рис. 4.13 Кінетичні криві поглинання кисню водними екстрактами чаю.  $T = 303\text{K}$ . pH: 1. – 9.2; 2. – 10.2; 3. – 10.8: а) «Лазурний розсип» (з); б) «Сонячна долина» (чорн.)

Таблиця 4.6

Початкова швидкість окиснення водних екстрактів чаю  
 $T = 303\text{K}$ , КБС

№ з/п	сорт	Субстрат	$V_{(O_2)} \cdot 10^7, \text{M} \cdot \text{c}^{-1}$		
			pH		
			9.2	10.2	10.8
1	–	GK( $C_0 = 0.3 \text{ mM}$ )	$2.6 \pm 0.2$	$5.0 \pm 0.4$	$6.8 \pm 0.5$
2	ж	«Тумани Хуанг Шаня»	$7.6 \pm 0.3$	$16 \pm 1$	$20 \pm 1$
3	з	«Лазурний розсип»	$7.1 \pm 0.5$	$9.6 \pm 0.7$	$12 \pm 1$
4	з	«Едвін»	$3.5 \pm 0.4$	$7 \pm 1$	$18 \pm 1$
5	з	«Хейліс»	$9.9 \pm 0.3$	$24 \pm 1$	$37 \pm 1$
6	з	«Greenfield»	$4.2 \pm 0.4$	$6.2 \pm 0.5$	$9.0 \pm 0.7$
7	з	«Принцеса Ява»	$4.5 \pm 0.5$	$13 \pm 2$	$15 \pm 2$
8	з	«Золотий дракон»	$7.3 \pm 0.5$	$25 \pm 2$	$30 \pm 2$
9	черв.	«Фомороза Оолонг»	$1.2 \pm 0.1$	$7.8 \pm 0.5$	$11 \pm 1$
10	черв.	«PU-ERN»	$2.8 \pm 0.4$	$3.3 \pm 0.5$	$8.5 \pm 0.9$
11	чорн.	«Дарджелінг»	$5.9 \pm 0.5$	$20 \pm 1$	$27 \pm 2$
12	чорн.	«Акбар голд»	$1.7 \pm 0.2$	$2.0 \pm 0.2$	$2.0 \pm 0.2$
13	чорн.	«Сонячна долина»	$2.2 \pm 0.5$	$5.5 \pm 0.4$	$7.5 \pm 0.5$
14	чорн.	«Ахмад»	$7.8 \pm 0.5$	$5.2 \pm 0.7$	$13 \pm 3$
15	чорн.	«Батік»	$3.7 \pm 0.5$	$7.4 \pm 0.9$	$14 \pm 2$
16	чорн.	«Едвін»	$4.8 \pm 0.5$	$7.4 \pm 0.1$	$9 \pm 1$
17	чорн.	«Greenfield Golden» Ceylon	$5.5 \pm 0.1$	$8.3 \pm 0.9$	$17.6 \pm 0.9$
18	чорн.	«Мономах»	$7.2 \pm 0.3$	$12 \pm 2$	$22 \pm 1$
19	чорн.	«Greenfield» Kenyan	$5.1 \pm 0.8$	$6.2 \pm 0.5$	$6.6 \pm 0.9$
20	чорн.	«Брук Бонд»	$5.6 \pm 0.8$	$4.2 \pm 0.2$	$9.8 \pm 0.6$

Спостерігається лінійна залежність між початковою швидкістю окиснення і вмістом ФС в екстракті (рис. 4.14), тобто основний внесок в окиснення екстрактів дають поліфеноли чаю (коефіцієнт кореляції  $r = 0.888$ , критерій значущості  $P = 0.001$ ).

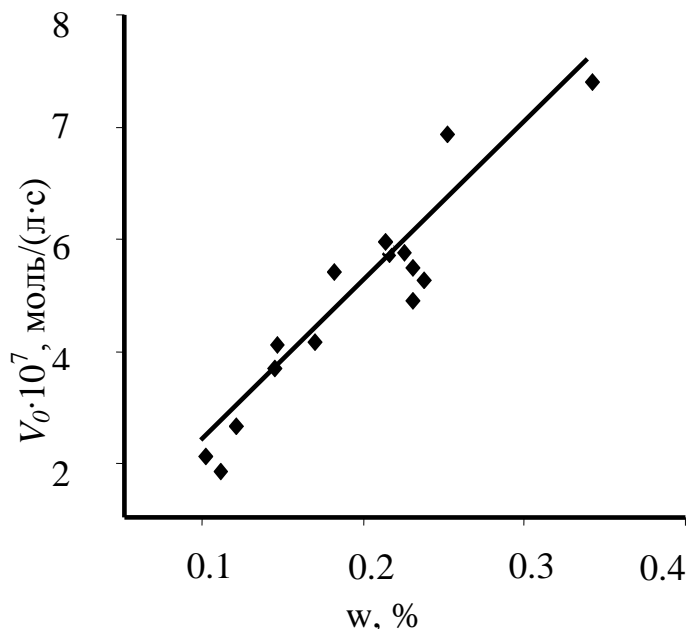


Рис. 4.14 Залежність початкової швидкості окиснення водних екстрактів чаю від вмісту ФС (ФС визначені за методом Фоліна-Чікольте). pH 9.2, T = 303K

#### 4.5 Хемілюмінесценція при окисненні водних екстрактів чаю

Окиснення екстрактів чаю у водно-лужних середовищах супроводжується хемілюмінесценцією (рис. 4.15) [327]. Її закономірності аналогічні таким, що спостерігаються при окисненні багатоатомних фенолів (див. Розділ III).

Характер, форма кривих та інтенсивність хемілюмінесценції залежать від сорту чаю, що використовується для приготування чайного екстракту (рис. 4.16), тобто від якісного і кількісного складу багатокомпонентної фенольної суміші. Оскільки були досліджені чорні, зелені та трав'яні чаї, то дані розділені за цими трьома групами чаю. Можна зазначити, що найбільш інтенсивна хемілюмінесценція спостерігається при окисненні зелених чаїв (рис. 4.16б), що пов'язано з відсутністю ферментації і використання для їхнього приготування молодого листа чайної рослини. Це обумовлює знаходження фенольних сполук у зеленому чаї у неокисленому стані. На відміну від зеленого чаю інтенсивність ХЛ чорних чаїв нижча (рис. 4.16а), що обумовлено більш низьким вмістом фенольних сполук після ферментації, в результаті якої утворюються сполуки хіноїдної структури, що окиснюються значно слабкіше, ніж їхні відновлені аналоги (див. Розділ II).

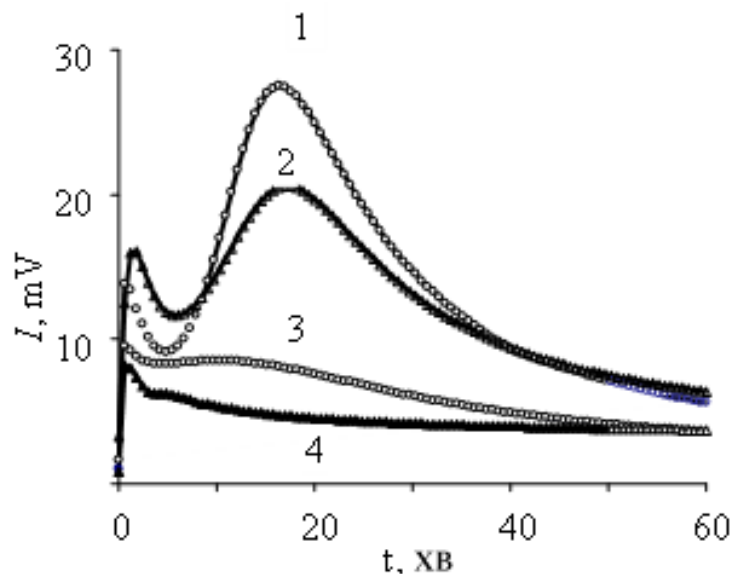


Рис. 4.15 Кінетичні криві хемілюмінесценції в реакції окиснення водних екстрактів чаю. рН 9.2;  $T = 303\text{ K}$ : «Грінфілд»: 1. – зелений; 2. – чорний; «Мономах»: 3. – зелений; 4. – чорний

Вид кінетичних кривих ХЛ-світіння при окисненні екстрактів чаю близький до таких для модельних сполук (ГК і РГК). Залежно від сорту (якості і вартості) чаю на кінетичних кривих ХЛ також спостерігається один або два максимуми. Так, на кінетичних кривих ХЛ-світіння при окисленні дешевого чаю («Принцеса Ява») і дорогого («Лазурний розсип») добре проглядаються окремі відмінності (див. рис. 4.17). Для дешевого чаю з невисоким вмістом фенольних АО характерний один максимум ХЛ, зміщений до початку координат. Тоді як для більш якісного чаю з великим вмістом фенольних АО можна спостерігати невелике плече на початку кривої ХЛ і високу інтенсивність ХЛ після автоприскорення на глибоких стадіях реакції.

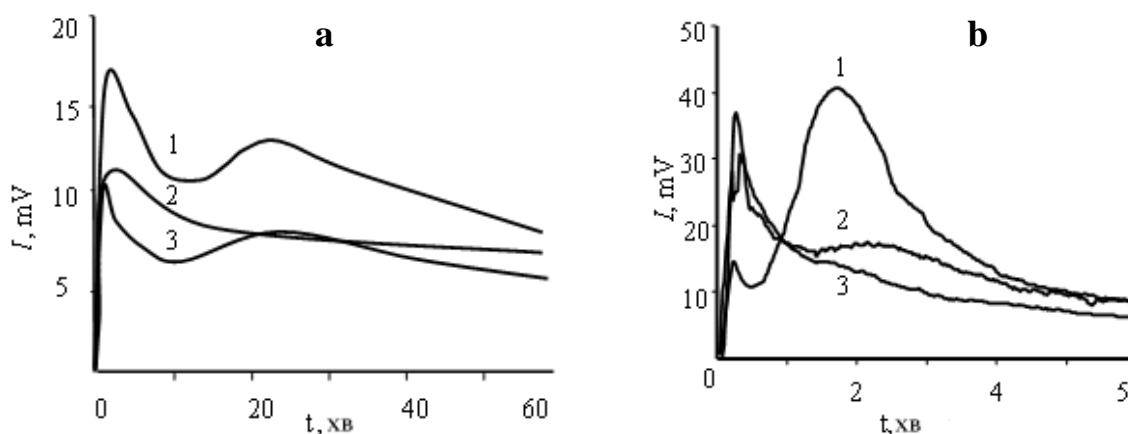


Рис. 4.16 Кінетичні криві хемілюмінесценції в реакції окиснення водних екстрактів чаю. рН 9.2,  $T = 303\text{ K}$ : а) Чорний: 1. – «Сонячна долина»; 2. – «Акбар»; 3. – «Ахмад»; б) Зелений: 1. – «Лазурний розсип»; 2. – «Хейліс»; 3. – «Челтон»

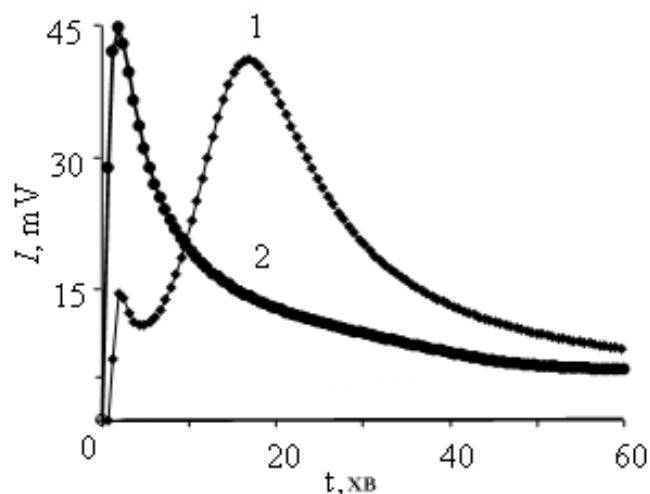


Рис. 4.17 Кінетичні криві хемілюмінесценції в реакції окиснення водних екстрактів чаю. рН 9.2,  $T = 303\text{K}$ : 1. – «Лазурний розсип»; 2. – «Принцеса Ява»

Зі збільшенням вмісту фенольних сполук у чаї зменшується за інтенсивністю і зсувається вліво за віссю часу другий максимум, одночасно зростає інтенсивність першого максимуму за практично однієї і тієї ж величини часу його досягнення для різних сортів чаю (рис. 4.18a і 4.18b).

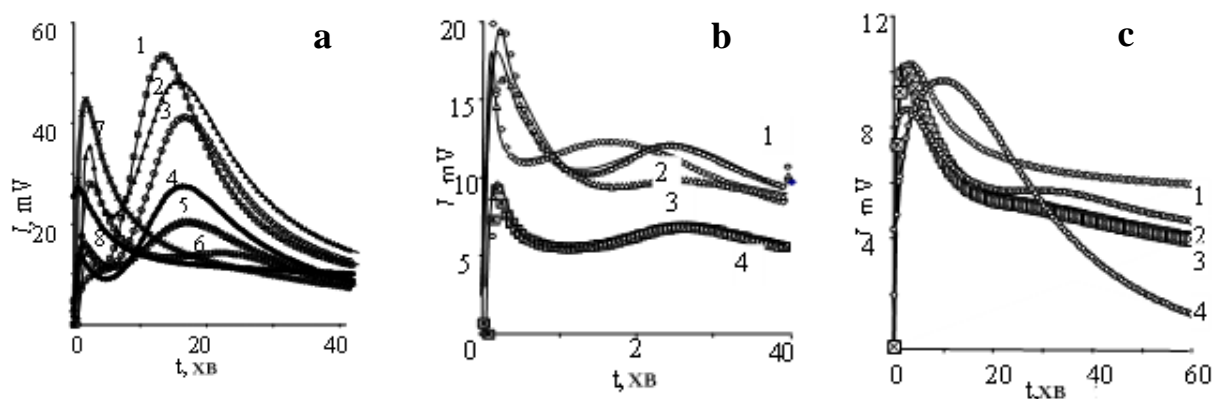


Рис. 4.18 Кінетичні криві хемілюмінесценції в реакції окиснення водних екстрактів чаю. рН 9.2,  $T = 303\text{K}$ :

1. – «Біла мавпа» (з); 2. – «Тумани Хуанг Шаня» (ж); 3. – «Лазурний розсип»; 4. – «Грінфілд Flying Dragon» (з); 5. – «Мономах» (з); 6. – «Хейліс»; 7. – «Принцеса Ява»; 8. – «Едвін» (з);
1. – «Дарджелінг», *Індія*; 2. – «Акбар», *Цейлон*; 3. – «Сонячна долина», *Китай*; 4. – «Формоза», *Тайвань*;
1. – «Ахмад» (чорн.), *Цейлон*; 2. – «Принцеса Канді» (чорн.); 3. – «Батік», *Цейлон*; 4. – «Пу-ер» (черв.), *Китай*

Слід зазначити, що для кількох екстрактів чаю два максимуми на ХЛ-кривих, мабуть, зливаються в один (див. рис. 4.18c). Такий вид кривих характерний для *o*-QH<sub>2</sub>. Можливо, в екстрактах цих чаїв відносно високий вміст катехинів, до складу яких входить фрагмент пірокатехіну.

З метою виявлення відмінностей в якості чайної сировини різних виробників, було досліджено зелені і чорні сорти чаю торгових марок «Мономах» і «Грінфілд» (рис. 4.15). Простежується виявлена раніше загальна закономірність – для чорного чаю характерний один максимум на початку процесу окиснення і мала інтенсивність ХЛ (рис. 4.18b, 4.18c), для зеленого – два піки і більш інтенсивне світіння (рис. 4.18b). Інтенсивності ХЛ-світіння для однакових сортів чаю різних виробників відрізняються, що можна використовувати для оцінки якості чаю.

#### 4.6 Радикалоутворення при окисненні екстрактів чаю

Для вивчення закономірностей і встановлення кількісних характеристик процесу зародження радикалів у системі *ПФ чаю–кисень–буфер* досліджено окиснення водних екстрактів чаю у присутності аскорбінової кислоти. Введення аскорбінової кислоти на початку реакції окиснення екстрактів чаю викликає появу індукційного періоду на кінетичних кривих ХЛ світіння (рис. 4.19), як і в разі окиснення модельних фенолкарбонових кислот (див. рис. 2.4).

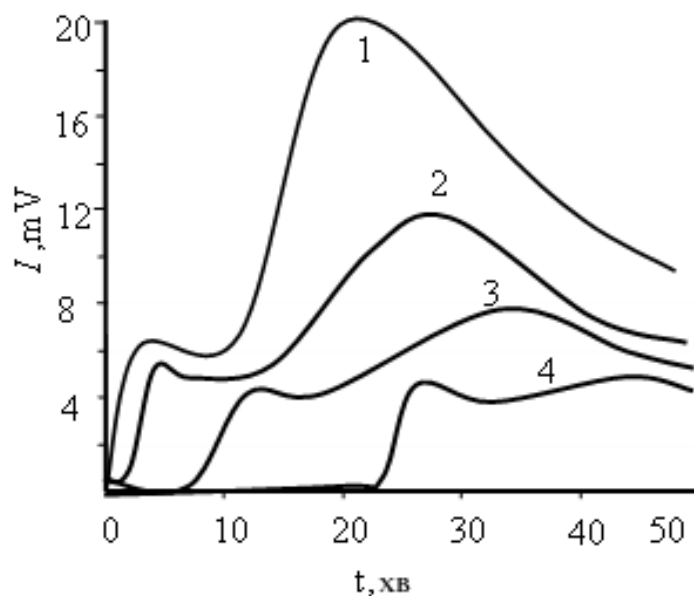


Рис. 4.19 Кінетичні криві хемілюмінесценції в реакції окиснення водного екстракту чаю «Лазурний розсип». pH 9.2,  $T = 303\text{ K}$ :  $[\text{AscH}_2]_0$ : 1. – без  $\text{AscH}_2$ ; 2. – 5.0 мМ; 3. – 6.0 мМ; 4. – 7.0 мМ

Тривалість індукційного періоду лінійно зростає зі збільшенням концентрації аскорбінової кислоти (рис. 4.20a). Між періодом індукції і концентрацією фенольних сполук в екстрактах чаю спостерігається достовірна кореляція (рис. 4.20b), що дозволяє використовувати цей метод для оцінки вмісту фенольних компонентів у чайних настоях.



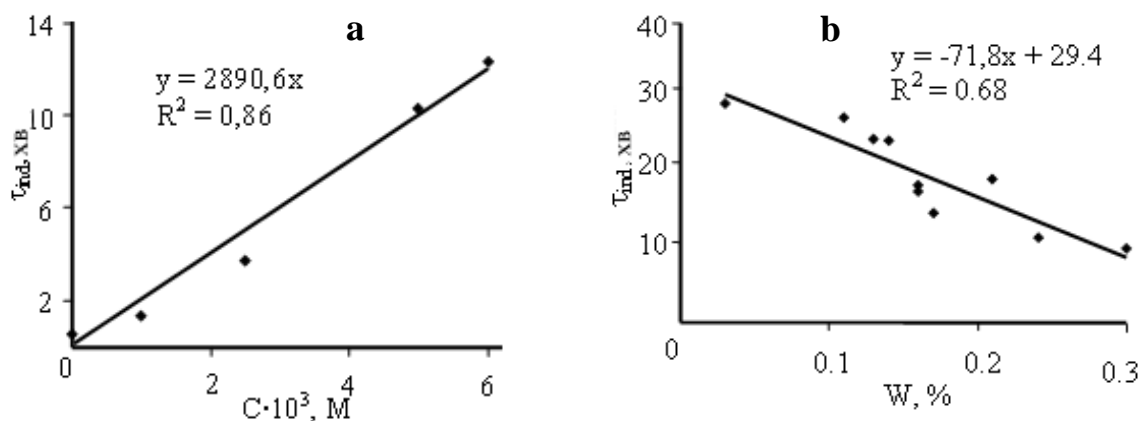


Рис. 4.20 Залежність періоду індукції інгібованого окиснення водних екстрактів зеленого чаю «Лазурний розсип» від концентрації  $AscH_2$  (a) і вмісту ФС (b). pH 9.2,  $T = 303\text{ K}$ ,  $[AscH_2]_0 = 5.0\text{ mM}$

Величина періоду індукції зменшується при зростанні вмісту фенолів в чайному екстракті (рис. 4.20b). Такий хід залежності однозначно вказує на безпосередню участь фенольних сполук у реакціях зародження радикалів. Цей результат цікавий і важливий не тільки для обґрунтування механізму окиснення водних розчинів фенольних антиоксидантів, але і як додаткова можливість оцінки антиоксидантної ємності таких досить складних природних композицій, як водні екстракти рослинної сировини. Зв'язок тут досить надійний і однозначний: чим вищий вміст фенольних сполук в екстракті, тим більша швидкість утворення радикалів в їх реакціях з молекулярним киснем, тим швидше витрачається введена в якості інгібітора аскорбінова кислота, тим менший, відповідно, період індукції.

Швидкості зародження радикалів для екстрактів різних чаїв наведено в таблиці 4.7.

Таблиця 4.7

Швидкість зародження радикалів при окисненні водних екстрактів чаю  
 $T = 303\text{ K}$

Сорт	Марка чаю	$C \cdot 10^2, M^*$	$I/\tau_{ind}$	$\tau_{ind}, \text{XB}$	$V_i \cdot 10^6, M \cdot c^{-1}$
1	2	3	4	5	6
ж	Тумани Хуанг Шаня	$1.26 \pm 0.02$	$0.109 \pm 0.008$	$9.2 \pm 0.7$	$9.1 \pm 0.7$
з	Хейліс	$1.46 \pm 0.01$	$0.17 \pm 0.01$	$5.9 \pm 0.4$	$14 \pm 1$
з	Лазурний розсип	$1.05 \pm 0.01$	$0.094 \pm 0.006$	$10.6 \pm 0.7$	$7.9 \pm 0.5$
з	Greenfield Flying Dragon	$1.76 \pm 0.01$	$0.123 \pm 0.009$	$8.1 \pm 0.6$	$10.3 \pm 0.8$
з	Принцеса Ява	$1.25 \pm 0.01$	$0.086 \pm 0.005$	$11.6 \pm 0.7$	$7.2 \pm 0.7$
з	Золотий Дракон	$1.99 \pm 0.01$	$0.112 \pm 0.008$	$8.9 \pm 0.6$	$9.4 \pm 0.6$
черв	Pu-Erh	$0.69 \pm 0.01$	$0.037 \pm 0.003$	$27 \pm 2$	$3.1 \pm 0.2$
чор	Сонячна долина	$0.58 \pm 0.04$	$0.046 \pm 0.004$	$22 \pm 2$	$3.9 \pm 0.4$
чор	Ахмад	$1.20 \pm 0.01$	$0.039 \pm 0.003$	$26 \pm 2$	$3.3 \pm 0.3$
чор	Батік	$1.34 \pm 0.01$	$0.044 \pm 0.004$	$23 \pm 2$	$3.7 \pm 0.3$
з	Едвін	$1.24 \pm 0.01$	$0.044 \pm 0.004$	$23 \pm 2$	$3.7 \pm 0.3$

Сорт	Марка чаю	$C \cdot 10^2, M^*$	$I/\tau_{ind}$	$\tau_{ind}, XB$	$V_i \cdot 10^6, M \cdot c^{-1}$
1	2	3	4	5	6
чор	Greenfield Golden Ceylon	$0.85 \pm 0.01$	$0.061 \pm 0.004$	$16 \pm 1$	$5.1 \pm 0.3$
чор	Мономах	$0.98 \pm 0.07$	$0.056 \pm 0.003$	$18 \pm 1$	$4.7 \pm 0.3$
чор	Greenfield Kenyan Sunrise	$0.83 \pm 0.01$	$0.073 \pm 0.005$	$13.7 \pm 0.9$	$6.1 \pm 0.3$
чор	Брук Бонд	$1.34 \pm 0.01$	$0.057 \pm 0.003$	$18 \pm 1$	$4.8 \pm 0.3$
чор	Едвін	$1.24 \pm 0.01$	$0.14 \pm 0.01$	$7.1 \pm 0.5$	$11.7 \pm 0.3$
черв	Формоза Оолонг	$1.00 \pm 0.02$	$0.13 \pm 0.01$	$8.0 \pm 0.6$	$10.4 \pm 0.3$
чор	Акбар	$0.64 \pm 0.01$	$0.23 \pm 0.02$	$4.4 \pm 0.3$	$18.9 \pm 0.3$

\*Вміст фенолів, визначений за методом Фоліна-Чікольте (в еквіваленті галової кислоти)

Для чайних екстрактів, наведених в табл. 4.7, побудована кореляційна залежність оберненої величини періоду індукції (який прямо пропорційний швидкості зародження радикалів) від параметрів ХЛ кривих:

- час досягнення першого максимуму ( $t_1$ );
- час досягнення другого максимуму ( $t_2$ );
- інтенсивність ХЛ у першому максимумі ( $I_1$ );
- інтенсивність ХЛ у другому максимумі ( $I_2$ ).

Отримана кореляційна залежність має вигляд:

$$1/\tau_{ind} = V_i = 0.003418 + 1.3618 \cdot I_1 + 0.2270 \cdot I_2 + 0.01243 \cdot t_1 + 0.00374 \cdot t_2. \quad (4.9)$$

Графік відповідності між експериментальними і прогнозованими величинами обернених періодів індукції наведений на рис. 4.21.

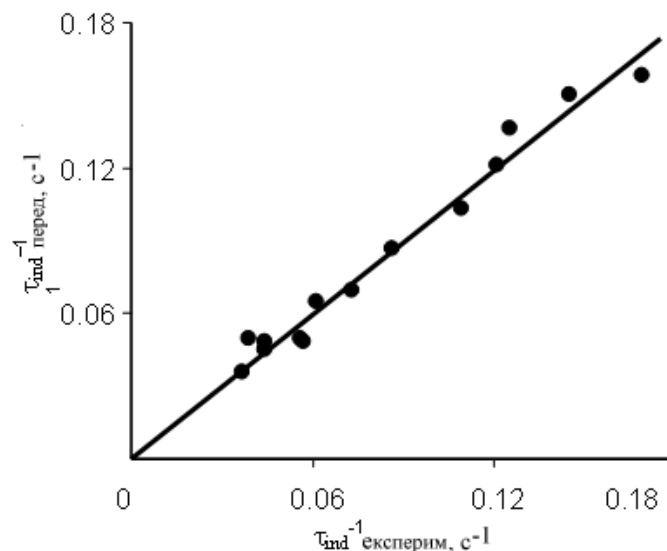


Рис. 4.21 Залежність між оберненими величинами періодів індукції виміряними (експерим.) та визначеними за рівнянням (4.9) (перед.)

Таким чином, існує кореляція між вмістом фенольних сполук в екстракті чаю і параметрами кривої ХЛ-світіння при окисненні. Багатопараметрова залежність, яку отримали, покладена в основу нового методу оцінки якості чайної сировини і готової продукції [328].

## РОЗДІЛ V

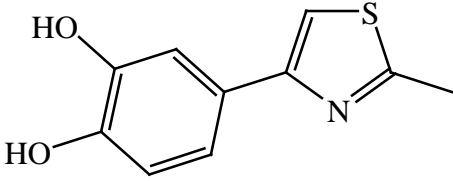
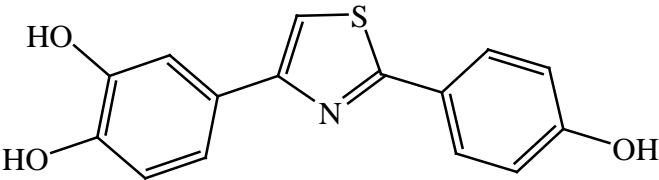
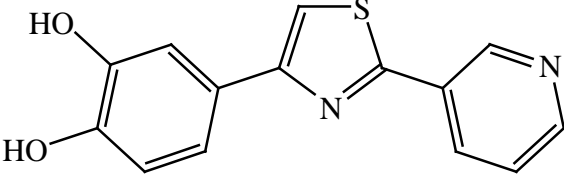
### АНТИОКСИДАНТНІ ВЛАСТИВОСТІ ГІДРОКСИФЕНІЛТІАЗОЛІВ ТА РЕАКЦІЇ ЇХ АВТООКИСНЕННЯ

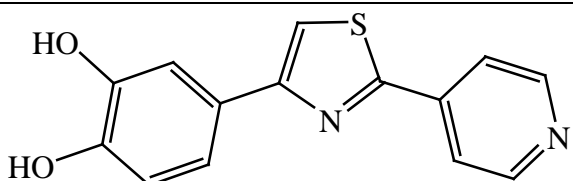
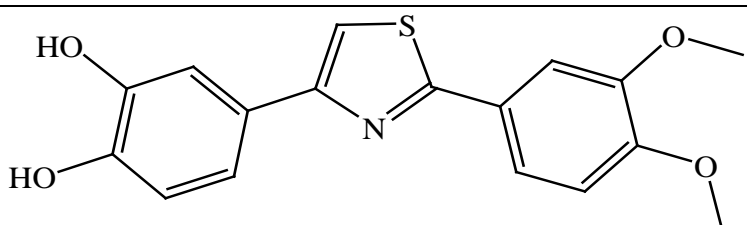
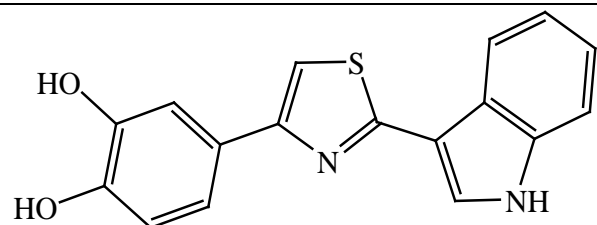
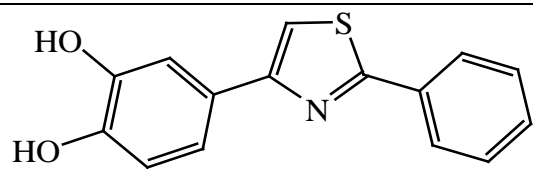
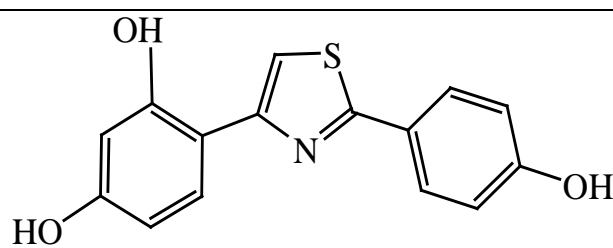
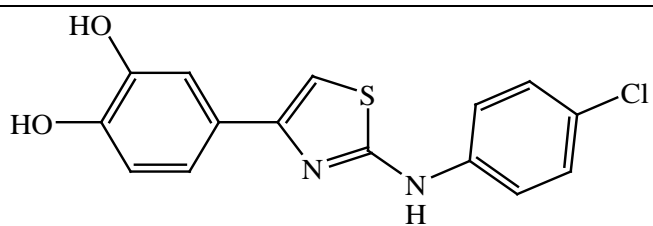
Отримання нових сполук, що поряд з антиокисними властивостями виявляють також і певну біологічну активність, на базі відомих антиоксидантів вбачається дуже привабливим. Один зі шляхів створення нових антиоксидантів та біоантиоксидантів полягає у сполученні гетероциклів з молекулою фенолу. Перспективність застосування тут сполук тіазольного ряду полягає у широких синтетичних можливостях використання тіазолів, наявністю у їхніх похідних фізіологічної активності за достатньо низької токсичності [329, 330, 331, 332, 333].

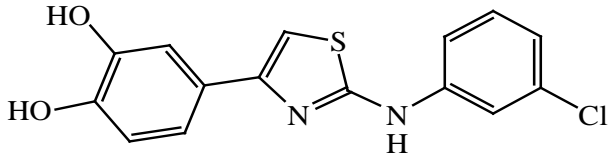
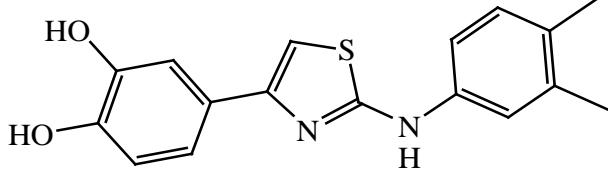
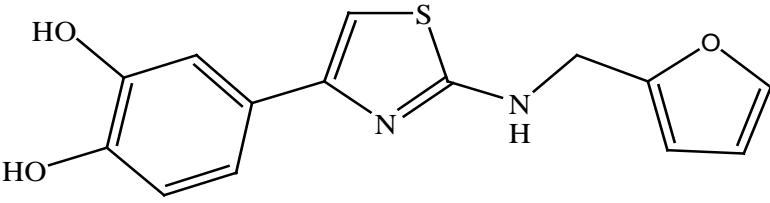
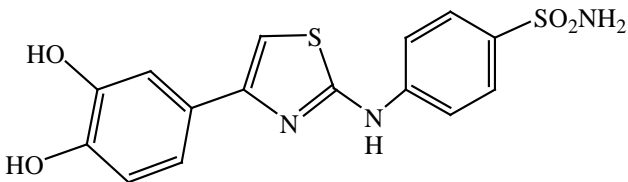
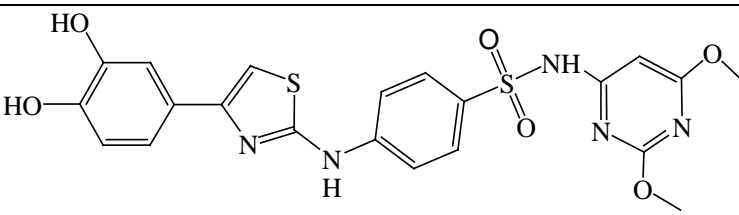
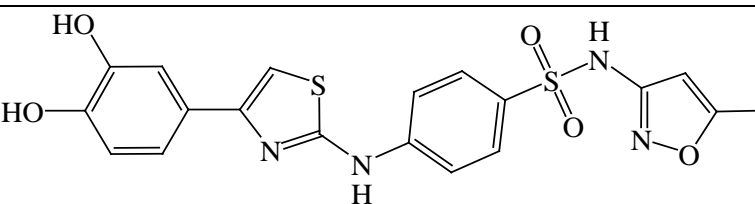
Нами було досліджено антиоксидантні властивості ряду нових похідних 4-(3',4'-дигідроксифеніл)тіазолу – ДФТ, структури яких наведено в таблиці 5.1.

У досліджах *in vitro* ці сполуки продемонстрували певну антибактеріальну активність стосовно *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* та ін. [334], а наявність пірокатехінового фрагменту дозволяє передбачати антиоксидантні властивості ДФТ у процесах окиснення органічних сполук.

Таблиця 5.1

Досліджені ДФТ	
Індекс	Хімічна формула, назва
1	2
I	 2-метил-4-(3',4'-дигідроксифеніл)тіазол
II	 2-(4'-гідроксифеніл)-4-(3'',4''-дигідроксифеніл)тіазол
III	 2-(3'-піридил)-4-(3'',4''-дигідроксифеніл)тіазол

Індекс	Хімічна формула, назва
1	2
IV	 <p>2-(4'-піридил)-4-(3'',4''-дигідроксифеніл)тіазол</p>
V	 <p>2-(3',4'-диметоксифеніл)-4-(3'',4''-дигідроксифеніл)тіазол</p>
VI	 <p>2-(3'-індоліл)-4-(3'',4''-дигідроксифеніл)тіазол</p>
VII	 <p>2-феніл-4-(3',4'-дигідроксифеніл)тіазол</p>
VIII	 <p>2-(4'-гідроксифеніл)-4-(2'',4''-дигідроксифеніл)тіазол</p>
IX	 <p>2-N-(4'-хлорфеніламіно)-4-(3'',4''-дигідроксифеніл)тіазол</p>

Індекс	Хімічна формула, назва
1	2
<b>X</b>	 <p>2-N-(3'-хлорфеніламіно)-4-(3'',4''-дигідроксифеніл)тіазол</p>
<b>XI</b>	 <p>2-N-(3',4'-диметилфеніламіно)-4-(3'',4''-дигідроксифеніл)тіазол</p>
<b>XII</b>	 <p>2-N-(фуран-2'-ілметиламіно)-4-(3'',4''-дигідроксифеніл)тіазол</p>
<b>XIII</b>	 <p>4-(4'-(3'',4''-дигідроксифеніл)тіазол-2'-іламіно)бензенсульфонамід</p>
<b>XIV</b>	 <p>4-(4'-(3'',4''-дигідроксифеніл)тіазол-2'-іламіно)-N-(2'',6''-диметоксипіримідин-4''-іл)бензенсульфонамід</p>
<b>XV</b>	 <p>4-(4'-(3'',4''-дигідроксифеніл)тіазол-2'-іламіно)-N-(5'''-метилізоксазол-3'''-іл)бензенсульфонамід</p>

## 5.1 Антиоксидантні властивості дигідроксифенілтiazолів в органічному та водному середовищах

### 5.1.1 Антиоксидантна активність ДФТ у реакції окиснення етилбензену

Антиоксидантна дія ДФТ в олеофазі була вивчена в реакції окиснення етилбензену (ЕТБ), ініційованого азодіізобутиронітрилом (АІБН). Окиснення ЕТБ перебігає в режимі ланцюгового нерозгалуженого процесу і добре описується найбільш простою кінетичною схемою, а константи швидкості продовження й обриву ланцюгів відомі [11, 13].

Для визначення констант швидкості реакції обриву ланцюгів на інгібіторі ( $k_7$ ) використовувався метод хемілюмінесценції [26]. Хемілюмінесцентне світіння при ініційованому окисненні ЕТБ виникає в реакції рекомбінації пероксидних радикалів, тому інтенсивність ХЛ пропорційна  $[RO_2 \cdot]^2$  [26]. Введення дигідроксифенілтiazолів (**I**, **II**, **V–VII**) призводить до різкого зниження інтенсивності хемілюмінесценції і виникнення на кінетичних кривих періодів індукції (рис. 5.1).

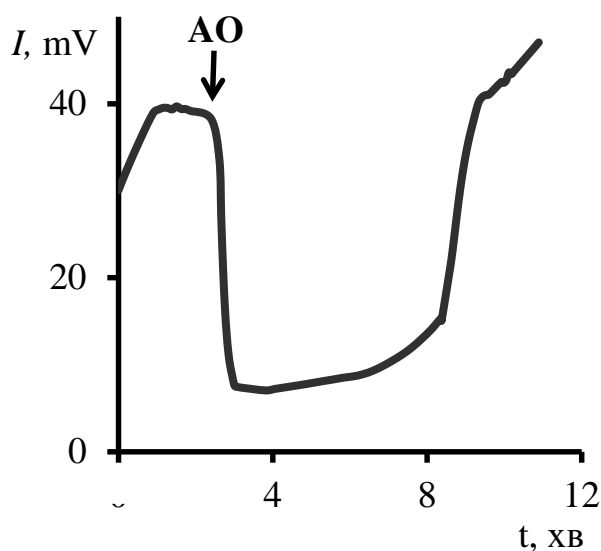


Рис. 5.1 Кінетичні криві інтенсивності хемілюмінесценції при окисненні ЕТБ у присутності ДФТ **V**.  $[ДФТ \text{ V}]_0 = 0.05 \text{ мМ}$ ,  $V_i = 4.9 \cdot 10^{-7} \text{ М} \cdot \text{с}^{-1}$ .  $T = 343 \text{ К}$ . Ініціатор – АІБН

Після вичерпання антиоксиданту ХЛ-світіння відновлюється. Здатність ДФТ знижувати ХЛ-світіння у процесі окиснення ЕТБ є прямим підтвердженням їхньої взаємодії з пероксирадикалами ЕТБ і свідчить про антирадикальний механізм дії. 2,4-Дифенілтiazол у концентрації  $5.0 \cdot 10^{-4} \text{ М}$  не викликає появи на ХЛ-кривих періодів індукції, тобто не інгібує окиснення. Це вказує на те, що реакційним центром молекули ДФТ в інгібуванні окиснення ЕТБ є 1,2-дигідроксіарильний фрагмент.

Тривалість періоду індукції ( $\tau$ ) в реакції інгібованого окиснення прямо пропорційна концентрації доданого антиоксиданту (рис. 5.2).

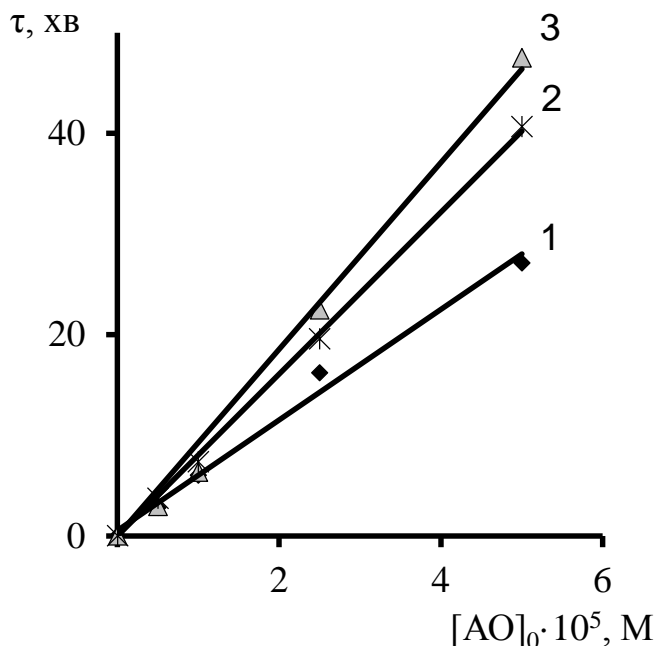


Рис. 5.2 Залежність періоду індукції від концентрації антиоксиданту при ініційованому окисненні ЕТБ.  $T = 343 \text{ K}$ ,  $V_i = 4.9 \cdot 10^{-7} \text{ M} \cdot \text{с}^{-1}$ :  
1. – ДФТ I; 2. – ДФТ II; 3. – *o*-QH<sub>2</sub>

Концентрація доданого антиоксиданту, швидкість ініціювання та період індукції зв'язані співвідношенням (3.8) (див. підрозділ 3.1). За ним було розраховано стехіометричний коефіцієнт інгібування  $f$ , що враховує стехіометрію реакції радикалів з антиоксидантом. Значення коефіцієнта інгібування для більшості ДФТ близькі до величини  $f$  пірокатехіну (табл. 5.2.). Звертають на себе увагу значення  $f$ , що перевищують 2. Згідно з [335], це може бути пов'язано з реакцією первинних продуктів перетворення антиоксиданту з пероксирадикалами.

Значення  $k_7$  майже не залежать від природи замісників у другому положенні тіазольного циклу (таблиця 5.2). Антиоксидантна активність ДФТ знаходиться на рівні пірокатехіну. Отримане значення  $k_7$  для *o*-QH<sub>2</sub> узгоджується з раніше опублікованими [336, 337].

Піридин-заміщені ДФТ (III і IV, табл. 5.1) утворюють сильно забарвлені розчини в ЕТБ, що не дозволяє спостерігати ХЛ. Тому достовірно оцінити їхні антиоксидантні властивості у такий спосіб не вдалося.

Механізм антиоксидантної дії ДФТ в реакції ініційованого окиснення ЕТБ полягає в обриві ланцюгів окиснення в реакції пірокатехінового фрагменту молекули з пероксирадикалами ЕТБ (схема 5.1).

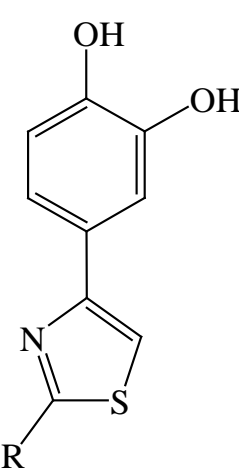
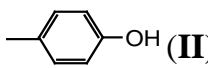
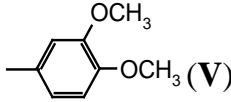
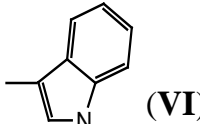
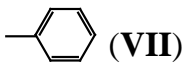
Одна з гідроксильних груп пірокатехінового фрагменту безпосередньо не бере участі в інгібуванні окиснення через те, що її Н-атом зв'язаний внутрішньомолекулярним водневим зв'язком [338]. У реакції ДФТ з пероксирадикалами ЕТБ утворюється радикал **b** (схема 5.1).

Подальше перетворення радикала **b** переважно призводить до утворення аддукту **c** і потім відповідного хінону **f**, як було показано в [339].

Таблиця 5.2

Параметри АОА ДФТ в реакції ініційованого окиснення ЕТБ

 $T = 343 \text{ K}$ ,  $V_i = 4.9 \cdot 10^{-7} \text{ M} \cdot \text{с}^{-1}$ . Ініціатор – АІБН

№	Сполука	$f$	$k_T \cdot 10^{-5}, \text{M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$
1		R=	
		$-\text{CH}_3$ (I)	$1.6 \pm 0.3$
		 (II)	$2.3 \pm 0.3$
		 (V)	$2.9 \pm 0.3$
		 (VI)	$2.9 \pm 0.3$
5	 (VII)	$2.3 \pm 0.1$	$3.6 \pm 0.6$
6	Пірокатехін	$2.4 \pm 0.1$	$5.9 \pm 0.8$
7	2,4-дифенілтіазол	Не інгібує	

Хінон за нашим баченням первинно утворюється в електронно-збудженому стані (d) і потім переходить в основний стан (f) з випромінюванням світла. Певний внесок у ХЛ дає інший шлях перетворення (b), за яким відбувається утворення вихідного інгібітора, що знову здатний реагувати з пероксирадикалами ЕТБ.

Інтенсивність ХЛ у періоді індукції знижується зі збільшенням кількості ДФТ, але не падає до нуля, а залишається постійною після певної початкової концентрації антиоксиданту. Подібний ефект описано в роботі [186] для реакції інгібованого гідрохіноном окиснення кумолу. В цій роботі представлені докази того, що в періоді індукції утворюється новий емітер ХЛ, яким є *n*-бензохінон. У разі інгібованого окиснення ЕТБ відповідальним за понадслабке світіння в періоді індукції може бути відповідне *o*-бензохінонове похідне ДФТ, що утворюється в електронно-збудженому стані, як описано вище (див. схему 5.1).

Таке припущення також підтверджується тим, що автоокиснення пірокатехіну у водно-лужному середовищі супроводжується ХЛ, а ймовірним емітером світіння є *o*-бензохінон, що детально було висвітлено в розділі II.

Таким чином в олеофазі ДФТ є ефективними інгібіторами окиснення органічних сполук, але їх АОА залишається на рівні пірокатехіну. При переході у водне середовище ситуація істотно змінюється.



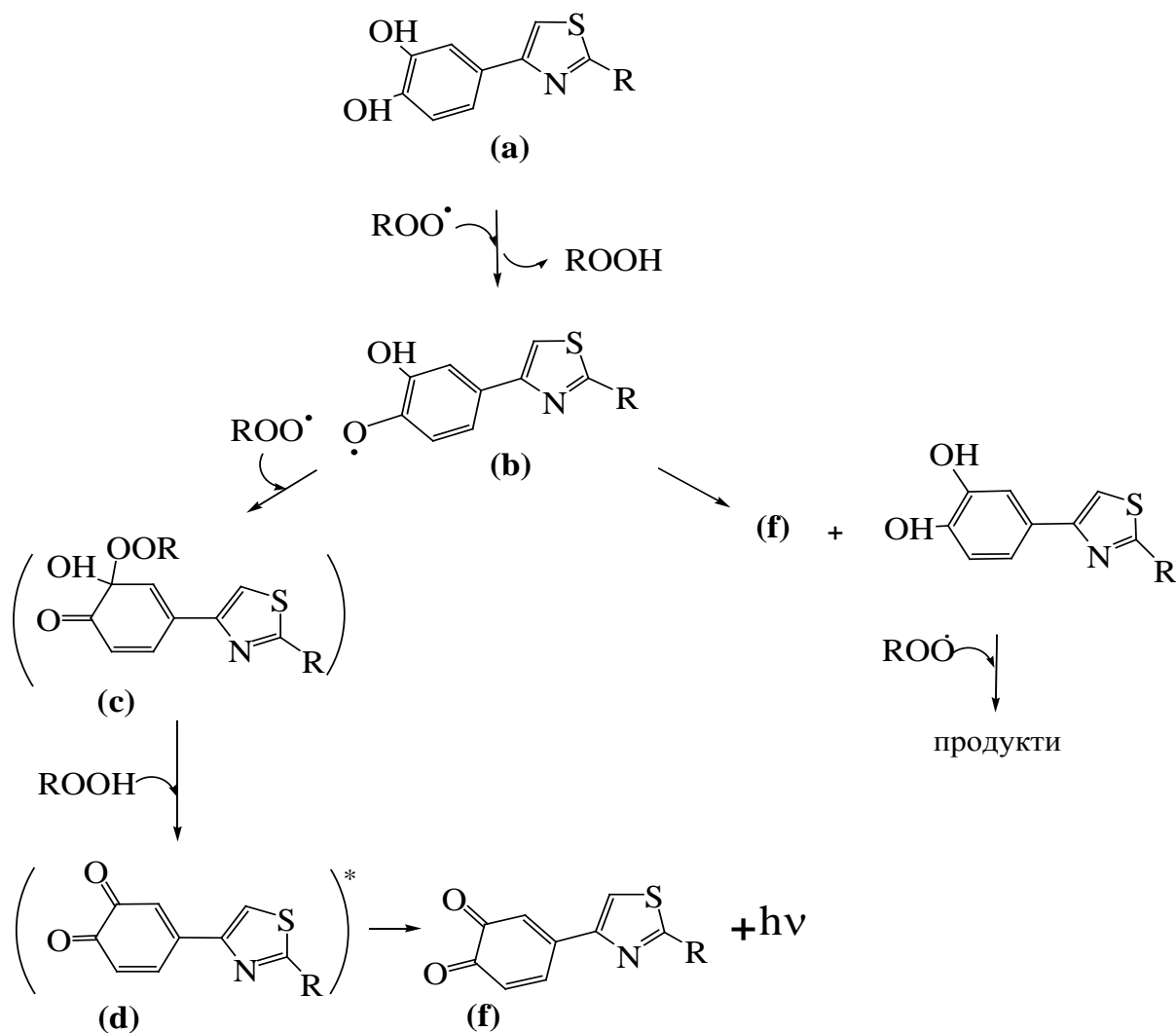


Схема 5.1 Перетворення ДФТ у реакції інгібованого окиснення ЕТБ

### 5.1.2 Антиоксидантна активність ДФТ у водному середовищі

Ненасичені жирні кислоти (НЖК), що входять до складу ліпідів плазматичних мембран, є одними з основних мішеней для атаки вільними радикалами у клітинах живих організмів. Ініційоване окиснення НЖК, сумішей або їхніх структурних аналогів *in vitro* є, як правило, адекватною модельною системою, кінетичні закономірності якої добре описують реальні процеси, що протікають у мембранах клітин [340]. Окиснення поліоксіетиленсорбітанмоноолеату – Твін-80, що містить залишок олеїнової кислоти, моделює кінетичні закономірності окисних перетворень ліпідів плазми крові [341]. На підставі дослідження інгібуючої дії окремих речовин або їх сумішей на цей процес можна робити висновки про ефективність АО [340].

Ініціаторами процесу при окисненні Твін-80 були іони  $\text{Fe}^{2+}$  (схема 5.2). Особливістю системи є те, що окиснення протікає в емульсії, на межі розділу фаз, оскільки критична концентрація міцелоутворення для Твін-80 складає  $1.4 \cdot 10^{-4}$  М [342], а його молярна концентрація в системі складала  $\approx 7.6 \cdot 10^{-3}$  М.

Продуктами глибокого окиснення олеїнової кислоти є відповідні альдегіди і кетони, зокрема малоновий діальдегід [343], які утворюють забарвлені продукти в реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою (тіобарбітурат-активні продукти). Тому величину АОА оцінювали за зменшенням кількості продуктів окиснення Твін-80, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) [344].

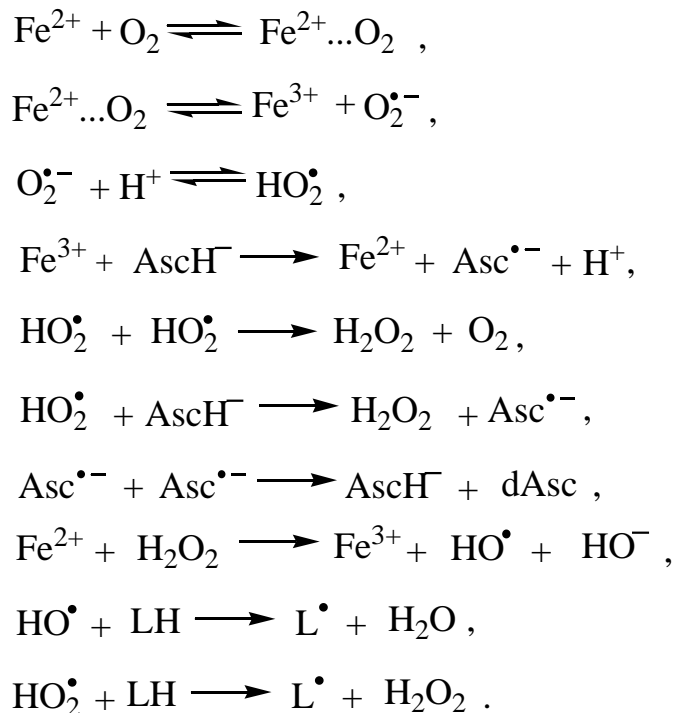


Схема 5.2 Механізм ініціації процесу радикального окиснення Твін-80 у системі  $\text{Fe}^{2+}$ -Asc- $\text{O}_2$ .  $\text{AscH}^-$ ,  $\text{Asc}^{\bullet-}$ , dAsc – моноаніон аскорбату, аскорбатаніон-радикал та окиснена форма аскорбінової кислоти, відповідно, LH – залишок олеїнової кислоти,  $\text{L}^{\bullet}$  – радикал, що утворюється з НЖК.

АОА розраховували за такою формулою:

$$\text{АОА}(\%) = \frac{A_{\text{конт}} - A_{\text{досл}}}{A_{\text{конт}}} \cdot 100\%,$$

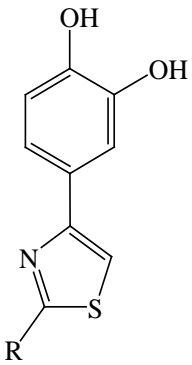
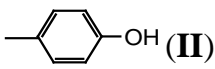
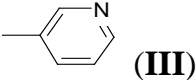
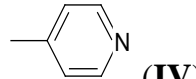
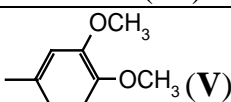
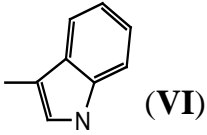
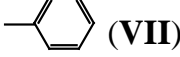
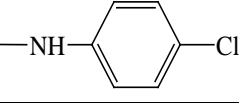
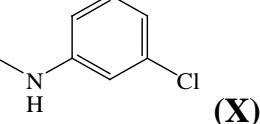
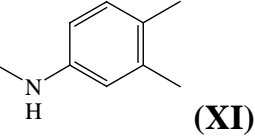
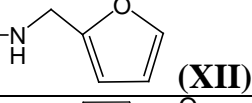
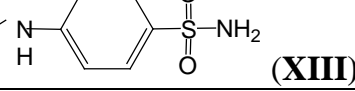
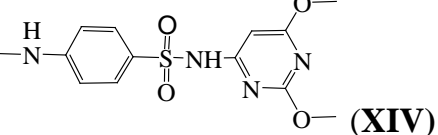
де  $A_{\text{конт}}$  – поглинання контрольної проби (при 532 нм);  $A_{\text{досл}}$  – поглинання проби, що містила антиоксидант (ДФТ чи фенол).

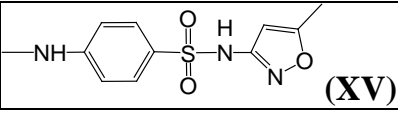
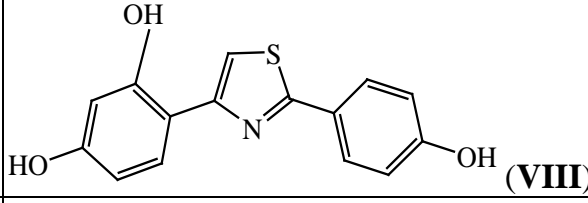
Усі досліджені ДФТ проявляють антиоксидантні властивості при окисненні Твін-80 (таблиця 5.3).

АОА похідних тіазолу вища, ніж пірокатехіну, і для більшості досліджених ДФТ близька до АОА Тролоксу. Сполуки, молекули яких не містять фрагмент 1,2-дигідроксибензену (2,4-дифенілтіазол, 2-(4'-гідроксифеніл)-4,5-дифенілтіазол)), практично не проявляють антиоксидантних властивостей.

Таблиця 5.3

Вплив ДФТ та їхніх структурних аналогів на накопичення ТБК-активних продуктів окиснення Твін-80

№	Сполука	АОА, %
1	2	3
1	2,4-дифенілтіазол	$2.0 \pm 0.3$
2	2-(4'-гідроксифеніл)-3,4-дифенілтіазол	$4.0 \pm 0.5$
3	Резорцин	$6 \pm 1$
4	Пірокатехін	$14 \pm 2$
5		R=
7		—CH <sub>3</sub> (I)
8		 (II)
9		 (III)
10		 (IV)
11		 (V)
12		 (VI)
13		 (VII)
14		 (IX)
15		 (X)
16		 (XI)
17		 (XII)
18		 (XIII)
19		 (XIV)

№	Сполука	АОА, %
1	2	3
20	 (XV)	$75 \pm 5$
21	 (VIII)	$82 \pm 8$
22	Тролокс	$79 \pm 8$

Вплив ДФТ на кінетику поглинання  $O_2$  під час окиснення Твін-80 було вивчено методом газоволюмометрії. Введення пірокатехіну і ДФТ призводить до зменшення початкової швидкості реакції та кількості поглинутого кисню (рис. 5.3).

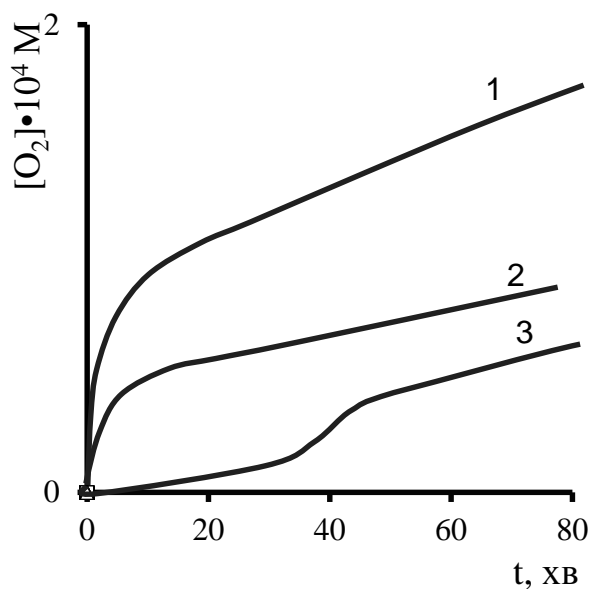


Рис. 5.3  $Fe^{2+}$ -ініційоване окиснення Твін-80.  $[Твін-80]_0 = 0.1 \text{ M}$ ;  $[FeSO_4]_0 = 8 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ,  $[AO]_0 = 1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ;  $T = 308 \text{ K}$ ,  $pH = 7.4$ : 1.– без АО; 2.– в присутності  $o$ -QH<sub>2</sub>; 3.– у присутності ДФТ VII

Через неоднаковий вигляд кінетичних кривих у присутності антиоксидантів для оцінки ефективності інгібуючої дії ( $\eta$ ) ДФТ у процесі окиснення Твін-80 використовували співвідношення:

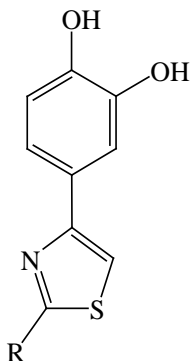
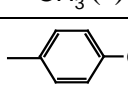
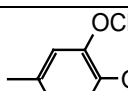
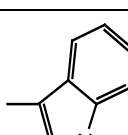
$$\eta = \frac{c_t(o_2)}{c_t^{inh}(o_2)},$$

де  $C_t(O_2)$  – кількість кисню, що поглинається за відсутності інгібітора за час  $t$  ( $t = 30 \text{ хв.}$ );  $C_t^{\text{inh}}(O_2)$  – кількість кисню, що поглинається при інгібованому окисненні за той же час.

Інгібуючий ефект ДФТ більш виражений, ніж інгібуюча дія пірокатехіну (таблиця 5.4), що знаходиться у відповідності з результатами впливу антиоксидантів на накопичення продуктів окиснення Твін-80.

Таблиця 5.4

Ефективність інгібуючої дії похідних тіазолу у процесі окиснення Твін-80  
( $\text{pH} = 7.4$ ,  $T = 308\text{K}$ ,  $[\text{AO}]_0 = 1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ )

№ з/П	Сполука		$\text{CO}_2 \cdot 10^4, \text{ M}$ (за 30 хв реакції)	$\eta$
1		R=		
2		$-\text{CH}_3$ (I)	0.6	8.2
3		 (II)	1.4	3.5
4		 (V)	0.9	5.4
5		 (VI)	0.8	6.1
6	Пірокатехін		3.1	1.6
7	Неінгібоване окиснення		4.9	1

Достовірної кореляції між величиною АОА (за кількістю ТБК-активних продуктів) та ефективністю інгібітора (за кількістю поглиненого кисню) не спостерігається. Це пояснюється, очевидно, тим, що при дослідженні кінетики окиснення Твін-80 газоволюмометричним методом можна оцінити вплив інгібітора тільки на початковий етап процесу окиснення, в той час як АОА, визначена за кількістю продуктів окиснення Твін-80, враховує вплив інгібітора на глибокій стадії процесу. Відсутність кореляції між АОА та  $\eta$  може свідчити про те, що характер впливу одного і того ж антиоксиданту на різні фази процесу окиснення може відрізнятися.

Антиоксидантна функція ДФТ і пірокатехіну у процесі окиснення Твін-80 полягає в їхній участі у реакціях обриву ланцюгів окиснення. Більш висока АОА ДФТ, ніж пірокатехіну, обумовлена впливом тіазольного циклу та наявних у ньому замісників. Імовірно тіазольний фрагмент спричиняє додаткову стабілізацію фенокиського радикала антиоксиданту.

При порівнянні інгібуючої активності ДФТ у процесі ініційованого окиснення ЕТБ (органічне апротонне середовище) і Твін-80 (водне середовище), помітним є істотна відмінність в інгібуючій активності ДФТ у різних середовищах. Якщо в органічній фазі антиоксидантна активність ДФТ і пірокатехіну є співрозмірними, то при окисненні Твін-80 у водному середовищі інгібівна дія ДФТ набагато перевищує дію *o*-QH<sub>2</sub>. Це може бути пов'язано з відмінностями в механізмах окиснення Твін-80 і ЕТБ, а також з відмінностями механізмів антиоксидантної дії ДФТ у цих системах. Крім того, окиснення Твін-80 відбувається в міцелах, тобто ефективність антиоксиданту також буде залежати від його розподілу між фазами.

## 5.2 Антирадикальні властивості дигідроксифенілтіазолів

Згідно з [345], під *антирадикальною активністю* (АРА) розуміють властивість, постійну для кожного антиоксиданту, що характеризується константою швидкості елементарної реакції пероксидних радикалів з інгібітором ( $k_7$ , реакція 1.7) за умов відсутності побічних реакцій радикалів інгібітора (синонім – антипероксидальна активність).

Таке визначення АРА є скоріше окремим випадком, тим не менш воно має велике практичне значення. Зараз АРА розуміють трохи ширше. Згідно з [346], це функція антиоксиданту, що пов'язана зі здатністю віддавати атом водню в реакції (1.7) або послідовно передавати електрон і протон з утворенням стабільної сполуки (RH) і радикала-антиоксиданту (In•):

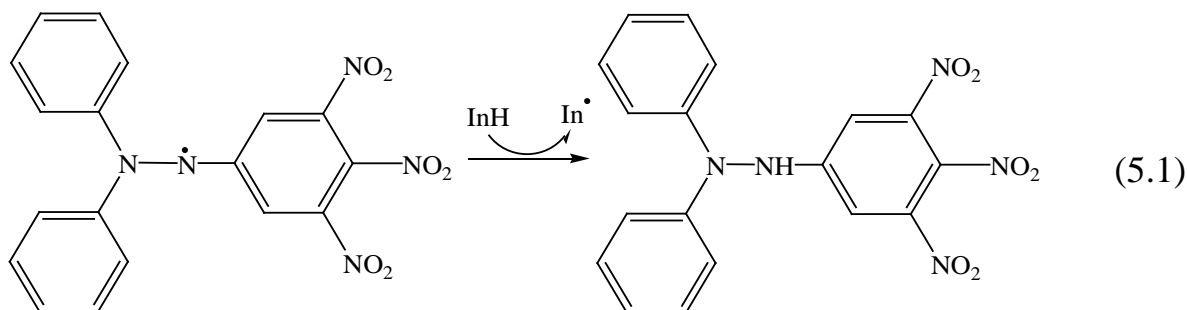


АРА сполук первинно визначають в модельних реакціях зі стабільними радикалами і характеризують відповідними константами швидкостей. Одними з найпоширеніших стабільних радикалів, що використовуються з цією метою, є 1,1-дифеніл-2-пікрилгідазил (•DPPH) та катіон-радикал 2,2'-азинобіс(3-етилбензтіазолін-6-сульфонової кислоти) (ABTS<sup>•+</sup>).

### 5.2.1 Взаємодія фенолів та ДФТ з радикалом •DPPH

Радикал •DPPH є комерційно доступним реактивом, що має характерну смугу поглинання у видимій області спектра,  $\lambda_{\max} \approx (510-520)$  нм. Відносна стабільність радикала •DPPH пояснюється делокалізацією неподіленого електрона між двома атомами азоту, і, згідно з результатами квантово-хімічних розрахунків [347], стеричним екрануванням реакційного центра за рахунок *орто*-H-атома обох фенільних груп, а також стеричними перешкодами з боку нітро-груп пікрильного фрагмента.

Принцип метода визначення АРА в реакції с  $\bullet\text{DPPH}$  був описаний М. Blois ще у 1958 р. [348]. Вважається, що  $\bullet\text{DPPH}$  є акцептором атомів водню і в присутності антиоксиданту відновлюється з утворенням забарвленого в жовто-палевий колір продукту – дифенілпікрілгідразину [349]:



Для кількісної оцінки антирадикальних властивостей часто використовують методи, що ґрунтуються на:

- 1) визначенні ефективної концентрації  $\text{EC}_{50}$  (*efficient concentration*) [350, 351] – концентрації субстрату, при якій відбувається знебарвлення вихідного розчину  $\bullet\text{DPPH}$  на 50 %;
- 2) визначенні антирадикальної сили –  $\text{ARP}$  (*antiradical power*) [350] або ефективності –  $\text{AE}$  (*antiradical efficacy*) – величин, що є оберненими до  $\text{EC}_{50}$  [352];
- 3) визначенні стехіометричного коефіцієнту  $f_{\text{DPPH}}$  в реакції (5.1) – тобто визначенні кількості молекул  $\bullet\text{DPPH}$ , що взаємодіють з однією молекулою антиоксиданту.

Ці величини не несуть інформації про кінетику взаємодії антирадикального агенту з  $\bullet\text{DPPH}$ . Дійсним параметром, що характеризує антирадикальну активність сполук, є константа швидкості реакції (5.1). В таблиці 5.5. наведені константи взаємодії з радикалом  $\bullet\text{DPPH}$  ( $k_{\text{DPPH}}$ ) і стехіометричні коефіцієнти  $f_{\text{DPPH}}$  для деяких фенольних антиоксидантів.

Таблиця 5.5

Кінетичні параметри взаємодії фенольних антиоксидантів з  $\bullet\text{DPPH}$

№ з/п	Сполука	Умови	$k_{\text{DPPH}}$ , $\text{M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$	$f_{\text{DPPH}}$	Посилання
1	2	3	4	5	6
1	Тролокс	етанол	$1.58 \times 10^3$	2	[349]
		абс. етанол	$3.2 \times 10^2$	2	[350]
2	$\alpha$ -Токоферол	метанол	$0.371 \pm 0.001$	–	[351]
3	Гідрохінон	ДМСО	$47.6 \pm 1.4$	–	[352]
3	Пірокатехін	етанол-вода 2:1, 303 К	$2.1 \times 10^3$	4	[353]
		метанол, 298 К	$1.47 \times 10^2$	2	[354]
		ізооктан	$19 \times 10^3$	–	[355]
		метанол	$3.0 \times 10^2$	3.2	[59]

№ з/п	Сполука	Умови	$k_{DPPH}$ , $M^{-1} \cdot c^{-1}$	$f_{DPPH}$	Посилання
1	2	3	4	5	6
		етанол	$9.6 \times 10^2$	2.5	[59]
		ДМСО	$127 \pm 3$	–	[352]
4	Резорцин	етанол-вода 2:1, 303 К	4.6	1.6	[353]
		ДМСО	$2.34 \pm 0.07$	–	[352]
5	Пірогалол	етанол-вода 2:1, 303 К	$6.4 \times 10^3$	6.2	[353]
		ДМСО	$987 \pm 21$	–	[352]
6	Флороглюцин	етанол-вода 2:1, 303 К	16	4.3	[353]
		ДМСО	$1.17 \pm 0.03$	–	[352]
7	4-метил-пірокате-хін	метанол, 298 К	$5.15 \times 10^2$	2	[59]
8	3,5-ди-терт-бутилпірокатехін	метанол, 298 К	$1.68 \times 10^2$	2	[59]
9	4-нітро-пірока-техін	метанол, 298 К	$1.83 \times 10^2$	2	[59]
10	Галова кислота	етанол-вода 2:1, 303 К	$7.3 \times 10^2$	6.7	[353]
11	Фенол	циклогексан, 298 К	0.10	–	[356]
12	Іонол	метанол	$0.037 \pm 0.009$	–	[351]
		метанол, 298 К	5.0	2.8	[357]

В апротонних середовищах встановлена кореляція між константою швидкості реакції фенолів з  $\bullet DPPH$  та енергією гомолітичного розриву зв'язку О-Н [356, 362], а також з енергією активації [363]. У [356] знайдена тісна кореляція між константою швидкості реакції (5.1) і величиною потенціалу іонізації для реакційного середовища вода-ДМСО.

У роботі [364] вказується на кореляцію між константами швидкості реакції незаміщених фенолів зі стирилперокси-радикалами і константами швидкості взаємодії цих фенолів з  $\bullet DPPH$ . Водночас термодинамічні параметри реакцій АО з пероксирадикалами (реакція 1.7) і  $\bullet DPPH$  (реакція 5.1) відрізняються. Згадуване вище екранування реакційного центру  $\bullet DPPH$  зменшує його реакційну здатність і призводить до малої величини передекспоненційного множника в рівнянні Арреніуса:  $4.5 \cdot 10^3 - 1.9 \cdot 10^6 M^{-1} c^{-1}$  [362] порівняно з передекспоненційним множником для реакції фенолів з пероксидними радикалами, що дорівнює  $10^{8.5} M^{-1} c^{-1}$  [365]. Антиоксиданти, молекули яких є досить об'ємними, можуть дуже повільно реагувати з  $\bullet DPPH$  або взагалі не проявляти антирадикальних властивостей у цій модельній системі і одночасно демонструвати високу реакційну здатність стосовно радикалів  $RO_2\bullet$  [366].

У реакції  $\bullet DPPH$  з фенолами донором Н-атома виступає гідроксильна група. В якості інтермедіата в реакції (5.1) утворюється фенокиський радикал, що було доведено методом ЕПР для 4-ізопропіл-2,6-дитертбутилфенолу [367] і Тролоксу [354]. Фенокиський радикал далі теж реагує з  $\bullet DPPH$  з утворенням молекулярних продуктів, які досі залишаються мало дослідженими.



Ентальпії ОН-зв'язків фенолів знаходяться в межах 326-359 кДж/моль. З врахуванням енергії зв'язку N-H в молекулі DPPH-H, що дорівнює 329.8 кДж/моль [362] можна очікувати, що реакція (5.1) в деяких випадках є оборотною, причому  $k_{DPPH} < k_{-DPPH}$ , що було вперше показано для іонолу [368], а пізніше для інших фенольних антиоксидантів [361]. Це призводить до того, що навіть при багатократному надлишку антиоксиданту реакція з  $\bullet DPPH$  про-тікає не до кінця, на відміну від реакції (1.7) з пероксидними радикалами, яка є екзотермічною і практично необоротною, оскільки значення ентальпії пер-оксидного зв'язку знаходиться в області 359–368 кДж/моль [14].

У дослідженнях останніх двох десятиліть доведений значний вплив реакційного середовища на реакцію  $\bullet DPPH$  з фенольними антиоксидантами [369]. Якщо розчинник володіє здатністю утворювати міжмолекулярні водневі зв'язки з АО (ДМСО, тетрагідрофуран, ацетонітрил), то швидкість реакції (5.1) буде нижчою, ніж у розчиннику, що не утворює подібні зв'язки (наприклад, у гептані).

У розчинниках, що характеризуються значними акцепторними властивостями щодо атома водню (спирти та інші) взаємодія фенолів з  $\bullet DPPH$  відбувається за двома паралельними механізмами – переносом атома водню – HAT (*Hydrogen Atomic Transfer*) і послідовною дисоціацією молекули фенолу і переносом електрона – SPLET (*Sequential Proton-Less Electron Transfer*) (схема 5.3) [58]:

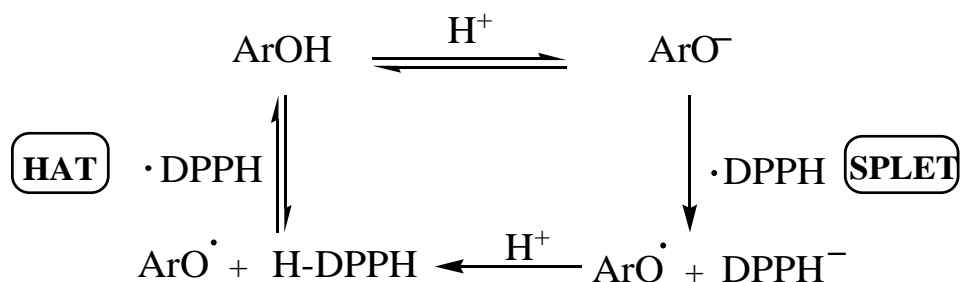


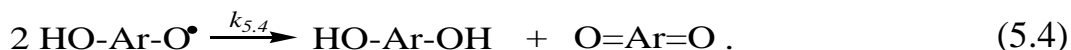
Схема 5.3 Механізм реакції фенолів з  $\bullet DPPH$  у полярних середовищах

Взаємодія фенолів з  $\bullet DPPH$  за механізмом SPLET реалізується швидко через велику реакційну здатність фенолят-іона порівняно з нейтральною молекулою [370]. У полярних розчинниках внесок механізму HAT є несуттєвим [362]. Треба зазначити, що стехіометричний коефіцієнт реакції (5.1) залишається незмінним незалежно від внеску різних механізмів [58].

Існує досить простий спосіб блокування механізму SPLET у полярних розчинниках. Для цього реакцію проводять у присутності добавок кислот [369, 371]. На нашу думку, найбільш раціонально використовувати для цієї мети хлороводневу кислоту через низьку імовірність побічних процесів окиснення, що відбуваються, наприклад, у присутності органічних кислот і деяких кисневмісних кислот.

Такий підхід було використано для визначення параметрів антирадикальної активності ДФТ (таблиця 5.6) [372].

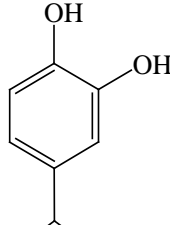
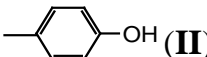
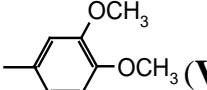
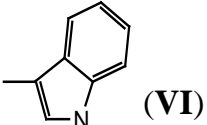
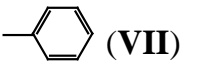
Взаємодія двохатомного фенолу з  $\bullet\text{DPPH}$  згідно з [317, 369] описується такою послідовністю реакцій:



В етанолі при 298 К реакція між пірокатехіном і  $\bullet\text{DPPH}$  повністю відбувається протягом декількох секунд, що зазначалося у Розділі II. Для ДФТ знебарвлення розчину радикала  $\bullet\text{DPPH}$  спостерігається в момент змішування реагентів. При додаванні в реакційну систему невеликої кількості кислоти швидкість процесу істотно знижується і досягає сталої величини у присутності HCl в концентрації 0.1 мМ (рис. 5.4).

Таблиця 5.6

Параметри АРА ДФТ і двохатомних фенолів в реакції з  $\bullet\text{DPPH}$   
за механізмом НАТ

№ з/п	Сполука	$f_{\text{DPPH}}$	$n(S)$	$k_{5.2},$ $\text{M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$	BDE*, кДж/моль
1	 R=	$2.5 \pm 0.4$	$0.8 \pm 0.2$	$56 \pm 18$	324.0
2	 (II)				
3	 (V)	$2.1 \pm 0.2$	$0.8 \pm 0.2$	$54 \pm 10$	323.5
4	 (VI)	$2.4 \pm 0.3$	$0.8 \pm 0.2$	$86 \pm 13$	322.7
5	 (VII)	$2.6 \pm 0.1$	$1.0 \pm 0.4$	$67 \pm 9$	325.4
6	Пірокатехін	$2.0 \pm 0.6$	$1.0 \pm 0.2$	$5 \pm 1$	334.3
7	4-Метилпірокатехін	$2.1 \pm 0.6$	$0.8 \pm 0.1$	$18 \pm 5$	328.0

\*BDE розраховували для OH-групи в пара-положенні відносно тіазольного кільця. Розрахунки виконано у програмному пакеті GAMESS-US з використанням базисного набору 6-31G(p,d) [373] і обмінно-кореляційного функціоналу B3LYP [374]. Врахування розчинника проводили в рамках моделі PCM [375]. Розрахунок проводили в рамках Density Functional Theory (DFT).

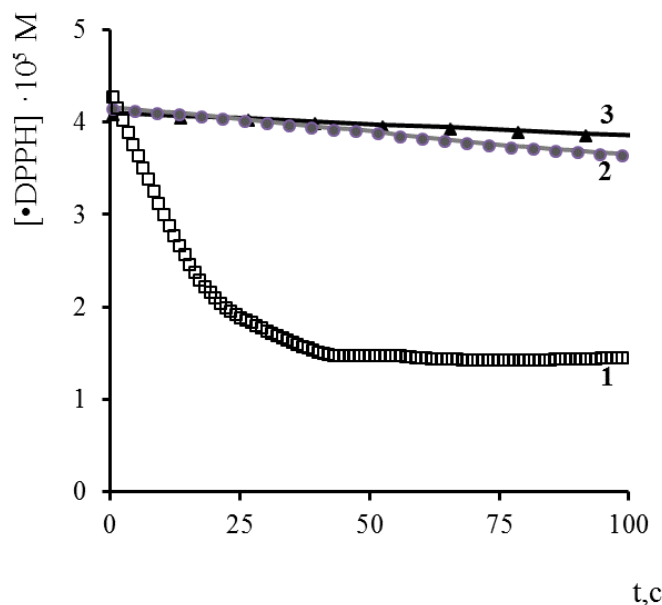


Рис. 5.4 Кінетичні криві витрачання  $\bullet$ DPPH у реакції з пірокатехіном у присутності HCl.  $T = 298\text{ K}$ ,  $[o\text{-QH}_2]_0 = 5 \cdot 10^{-5}\text{ M}$ :  
1. –  $[\text{HCl}]_0 = 0.01\text{ mM}$ , 2. –  $[\text{HCl}]_0 = 0.1\text{ mM}$ , 3. –  $[\text{HCl}]_0 = 1\text{ mM}$

Причина високої швидкості реакції досліджених сполук з  $\bullet$ DPPH в етанолі без добавок HCl полягає у протіканні реакції переважно за механізмом SPLET. Введення сильної кислоти приводить до пригнічення дисоціації фенолу і тим самим до різкого зниження швидкості процесу за рахунок зміни механізму [362, 369]. Таким чином, в умовах експерименту реакція  $\bullet$ DPPH з вивченими сполуками реалізується за механізмом HAT. Це додатково підтверджується кореляцією між константою швидкості реакції (5.2) і значенням BDE зв'язку O–H в молекулах вивчених сполук, розрахованих квантово-хімічними методами:

$$\ln k_{\text{DPPH}} = -0.24 \cdot \text{BDE} (\text{кДж/моль}) + 82.5; R^2 = 0.95 \text{ (implicit solvent model)}.$$

Взаємодія ДФТ і пірокатехіну з радикалом  $\bullet$ DPPH очевидно відбувається через утворення відповідних арилоксильних радикалів. Їхнє подальше перетворення за реакцією (5.3) обумовлює величини стехіометричного коефіцієнта реакції антиоксидантів з  $\bullet$ DPPH, що близькі до двох.

### 5.2.2 Реакція фенольних антиоксидантів з катіон-радикалом ABTS $^{+\bullet}$

За останні три десятиріччя широке розповсюдження знайшов метод визначення АРА в реакції зі стабільним катіон-радикалом 2,2'-азинобіс(3-етилбензтіазолін-6-сульфонової кислоти) – ABTS $^{+\bullet}$  [376].

Привабливість цього методу обумовлена амфіфільністю радикала ABTS $^{+\bullet}$ , його стабільністю в широкому діапазоні рН (від 2.0 до 10.5 [377]), наявністю

інтенсивних смуг поглинання в довгохвильовій області абсорбційного електронного спектра (табл. 5.7) і відносною простотою процедури генерації радикала за допомогою різних окислювачів (табл. 5.8).

Таблиця 5.7

Параметри електронних спектрів ABTS і продуктів його окислення [378]

Сполука	$\lambda_{\max}$ , нм	$\varepsilon \cdot 10^{-4}$ , $M^{-1} \cdot cm^{-1}$
ABTS	340	3.66
ABTS <sup>•+</sup>	417	3.47
	645	1.35
	728	1.5
	810	1.27
ABTS <sup>2+</sup>	518	3.6

Таблиця 5.8

Способи генерації катіон-радикала ABTS<sup>•+</sup>

№ з/п	Реагент-окисник	Опис методу	Посилання
1	K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	окислення ABTS (7 мМ) під дією K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> (2.45 мМ) при кімнатній температурі за відсутності світла протягом 16 годин	[73]
2	MnO <sub>2</sub>	окислення ABTS (5 мМ) під дією твердого MnO <sub>2</sub> (25 мг/мл) при кімнатній температурі	[375]
3	2,2'-азобісамідинопропан (AAPH)	окислення ABTS (150 мкМ) у фосфатній буферній системі у присутності 5мМ AAPH при 318 К	[376]
4	Міоглобін/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	із метміоглобіну (2.5 пМ) у присутності пероксиду водню (75 пМ) утворюються радикали ферил-міоглобіну, які окислюють ABTS (150 пМ)	[375]
5	Пероксидаза/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	окислення ABTS (60 мкМ) у присутності пероксидази хрому (0.25 пМ) і H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (50 мкМ) в 50 мМ гліцин-HCl буфері	[377]

Редокс-потенціал пари ABTS<sup>•+</sup>/ABTS дорівнює 0.68 В [378]. Тобто всі сполуки, редокс-потенціал яких нижчий, ніж 0.68 В, можуть взаємодіяти з радикалом ABTS<sup>•+</sup>, відновлюючи його.

Для кількісної оцінки антирадикальної здатності сполук у реакції з ABTS<sup>•+</sup> використовують стехіометричний коефіцієнт  $f_{ABTS^{•+}}$  (число молекул ABTS<sup>•+</sup>, що реагує з однією молекулою антиоксиданту) або Тролоксів еквівалент (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity* – TEAC)<sup>378</sup> [73]. TEAC відповідає концентрації Тролоксу (в моль/л), за якої Тролокс реагує з розчином ABTS<sup>•+</sup> у тій самій мірі, що і 1 М розчин антиоксиданту. Очевидно, що стехіометричний

коефіцієнт і ТЕАС лінійно пов'язані між собою. Дуже мало робіт, де АРА характеризували б константою швидкості реакції антиоксиданту з  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ .

У роботах [382, 383] зазначається, що  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  реагує з антиоксидантами за механізмом PCET з переносом протона на середовище:



Реакція (5.5) є оборотною [384]. Так, відома константа швидкості взаємодії фенокисьного радикала з  $\text{ABTS}$  –  $k_{5.5} = 3.8 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  (водне середовище, 293 K) [385]. Радикали антиоксиданту ( $\text{In}^{\bullet}$ ) можуть надалі реагувати з іншим радикалом  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  або вступати в реакції рекомбінації (диспропорціонування) [382]. Для антиоксидантів з високим редокс-потенціалом рекомбінація є мало-ймовірною через малу концентрацію  $\text{In}^{\bullet}$  (рівновага в реакції 5.5 сильно зміщена вліво). Низький редокс-потенціал антиоксиданту і утворення сильного проміжного відновника (наприклад, семіхінонного радикала [386]) сприяє протіканню реакції з  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  майже до кінця.

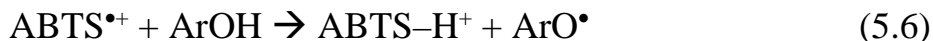
Взаємодія  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  з фенолами, як і багатьма іншими антиоксидантами, перебігає дуже швидко, наприклад, з Тролоксом – менше, ніж за 0.1 с [383]. Константа швидкості реакції  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  з Тролоксом дорівнює  $4.1 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  (рН 7.4, 288 K) [387], з аскорбіновою кислотою  $8 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  і  $>10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  у нейтральному і кислому середовищі відповідно [388]. Багатоатомні феноли швидше взаємодіють з катіон-радикалом  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  ніж одноатомні [383].

У [389] проаналізований взаємозв'язок між величиною ТЕАС і числом гідроксильних груп у гідроксибензойних кислотах. ТЕАС закономірно зростає зі збільшенням числа ОН-груп. Ізомерні дигідроксибензени в реакції з  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  демонструють різну стехіометрію [390]. Найбільше значення ТЕАС спостерігалось для резорцину. У [380] знайдено, що значення стехіометричного коефіцієнта для *пара*-заміщених фенолів більше, ніж для *орто*-заміщених. Швидкість витрачання  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  збільшується, якщо в молекулі АО є донорні замісники у *пара*- й особливо в *орто*-положенні фенолу [380, 383]. Водночас реакційна здатність фенолів, що містять *трет*-бутильні замісники у другому і шостому положенні менша, ніж їхніх незаміщених ізомерів [380], що вказує на значимість стеричного фактора.

У роботах [380, 387, 389, 390] проведено порівняння ТЕАС з параметрами антиоксидантної активності, визначеними в інших модельних системах. Кореляція не була виявлена. Очевидно, це пов'язано з індивідуальними особливостями модельної системи, в якій присутній  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  [391], а також з некоректним зіставленням статичного параметра (ТЕАС) з кінетичним (константи швидкості і т. п.).

У [387] показана відсутність кореляції між константою швидкості реакції 1,4-дигідропіридинів з  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  та їх редокс-потенціалом. Тобто здатність АО віддавати електрон не є вирішальним фактором у реакції з катіон-радикалом. У [389] знайдено, що ТЕАС обернено-пропорційно залежить від енергії зв'язку

О-Н. Тобто Н-атом гідроксильної групи безпосередньо бере участь у реакції з  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ . Цей механізм може бути зображений у вигляді переносу електрона з одночасним узгодженим переносом протона [392]. У [393] також вказано на можливість відновлення катіон-радикала  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  за змішаним механізмом, у тому числі і з переносом Н-атома (НАТ):



Реакція (5.6) для  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  є, однак, дуже мало ймовірною.

На користь PCET-механізму свідчить висока рН-залежність антирадикальної активності фенольних сполук. Так, у [394] встановлено, що ТЕАС для більшості досліджених сполук зменшується з рН. АРА Тролоксу не залежить від рН, також це справедливо для галової кислоти, кверцетину, (+)-катехіну. Для аскорбінової і сечової кислот у кислих середовищах спостерігаються більш високі значення ТЕАС, що протирічить результатам, отриманим у [388].

Кінетика взаємодії фенольних антиоксидантів з попередньо генерованим  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  дуже часто вказує на двостадійність процесу. Це спостерігається, наприклад, для кверцетину, рутину, [78, 395], пірокатехіну та його похідних [396]. Для багатоатомних фенолів і їхніх похідних у реакції з  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  на кривій витрачання катіон-радикала спостерігається спочатку швидке падіння його концентрації з подальшим уповільненням на другій, «повільній», ділянці кінетичної кривої (див. рис. 5.5.).

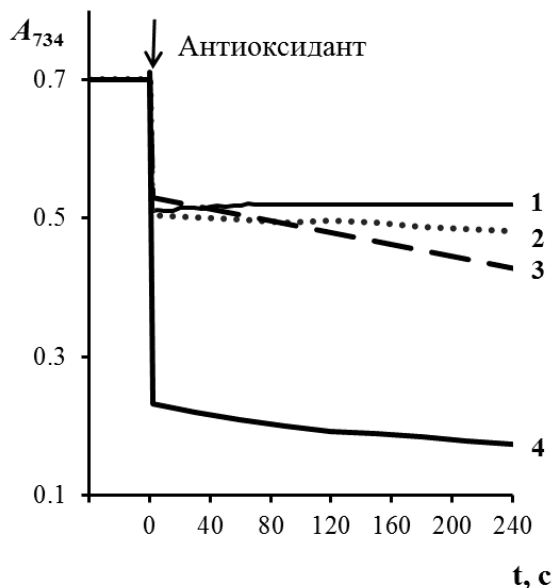


Рис. 5.5 Кінетичні криві витрачання  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  в реакції з антиоксидантами, фосфатна буферна система, рН 7.4,  $[\text{ABTS}^{\bullet+}]_0 = 4.7 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ : 1. – Тролокс,  $5.7 \cdot 10^{-6} \text{ М}$ ; 2. –  $o\text{-QH}_2$ ,  $5.0 \cdot 10^{-6} \text{ М}$ ; 3. – ДФТ VI,  $5.7 \cdot 10^{-6} \text{ М}$ ; 4. – Резорцин,  $5.0 \cdot 10^{-6} \text{ М}$

Отже, стехіометричний коефіцієнт, що використовується для оцінки антирадикальної ємності, буде залежати від часу реакції (таблиця 5.9).

Таблиця 5.9

Зміна стехіометричного коефіцієнта  $f_{\text{ABTS}^{\bullet+}}$  залежно від часу реакції

Сполука \ Час, с	0	60 с	300 с	600 с
Пірокатехін	2.1	2.2	2.3	2.4
Резорцин	5	6	7	—

З метою оптимізації способу оцінки антирадикальної здатності нами був використаний інший підхід до визначення  $f_{\text{ABTS}^{\bullet+}}$ , заснований на інгібуванні окислення ABTS під дією персульфату калію у присутності антиоксиданту. Подібний підхід описаний у роботі [397], але автори оцінювали антирадикальні властивості сполук у масових концентраціях відносно Тролоксу, що ускладнює порівняння результатів через розбіжності в кінетиці цих реакцій.

За відсутності інгібітора, ABTS окислюється персульфатом калію за реакцією (5.7) і фіксується зростання поглинання у характерних для  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  областях спектра.



У присутності антиоксиданту відбувається миттєве відновлення катіон-радикала з утворенням вихідної молекули ABTS. На кінетичних кривих накопичення  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  в цьому випадку з'являються періоди індукції (див. рис. 5.6).

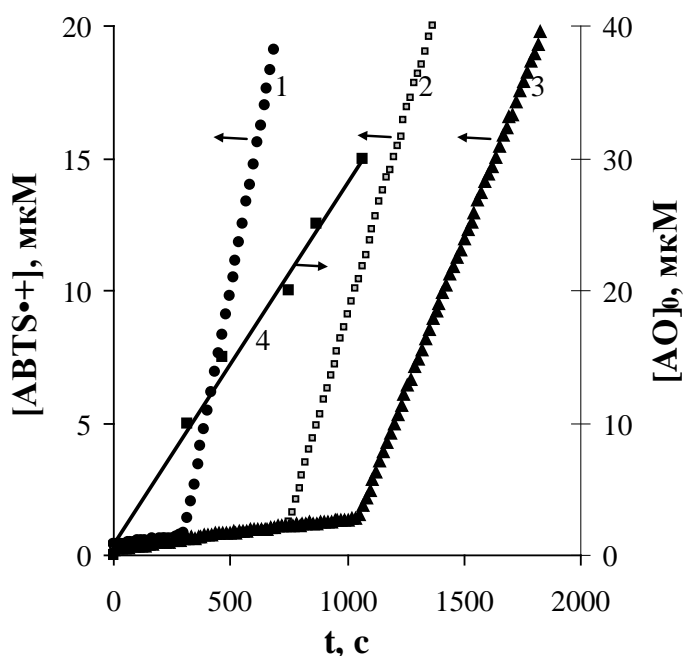


Рис. 5.6 Накопичення  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  в реакції з  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  у присутності пірокатехіну:  
 1. –  $C_0(o\text{-QH}_2) = 0,01$  мМ; 2. –  $C_0(o\text{-QH}_2) = 0,02$  мМ;  
 3. –  $C_0(o\text{-QH}_2) = 0,03$  мМ. 4. – Лінійна залежність між початковою концентрацією  $o\text{-QH}_2$  та періодом індукції;  $C_0(\text{ABTS}) = C_0(\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8)_0 = 0,4$  мМ, фосфатний буфер, pH 7.4,  $T = 298$  К

Після повного витрачання антиоксиданту накопичення  $ABTS^{\bullet+}$  поновлюється, але відбувається зі швидкістю нижчою, ніж за умов неінгібованого окислення, що, очевидно, обумовлено накопиченням продуктів перетворення антиоксиданту, які проявляють антирадикальні властивості.

Між тривалістю періоду індукції і початковою концентрацією антиоксиданту спостерігається лінійна залежність (рис. 5.6, кр. 4). Це свідчить про витрачання антиоксиданту в періоді індукції з постійною швидкістю, що дорівнює швидкості генерування радикалів  $ABTS^{\bullet+}$  в реакції з персульфатом калію ( $V_i$ ). Сталість  $V_i$  обумовлена тим, що концентрація АО на порядок менша концентрацій  $ABTS$  і  $K_2S_2O_8$ , і протягом періоду індукції витрачається переважно антиоксидант, а витрачанням  $ABTS$  і  $K_2S_2O_8$  до певної міри можна знехтувати.

Загалом, кінетичний цикл процесу утворення  $ABTS^{\bullet+}$  і витрачання АО в періоді індукції буде виглядати так:

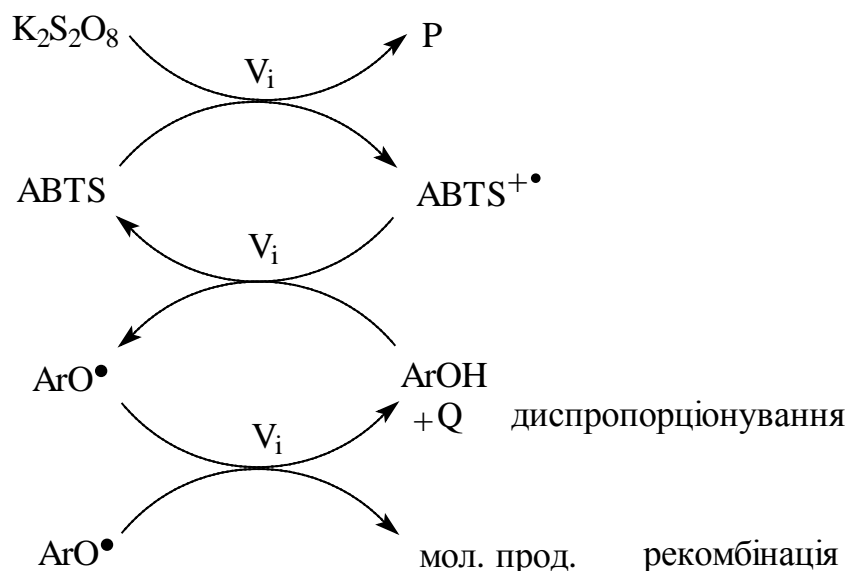


Схема 5.4 Взаємодія у системі  $ABTS-K_2S_2O_8$ -антиоксидант

Така модель дозволяє за аналогією з процесами інгібованого окиснення вуглеводнів для визначення стехіометричного коефіцієнта інгібування ( $f_{ABTS^{\bullet+}}^{ind}$ ) використовувати співвідношення

$$f_{ABTS^{\bullet+}}^{ind} = \frac{\tau \cdot V_i}{[InH]_0},$$

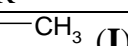
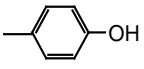
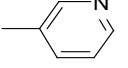
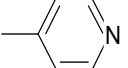
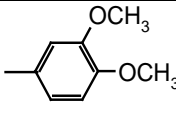
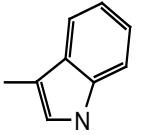
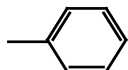
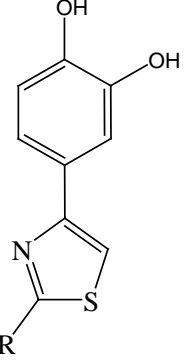
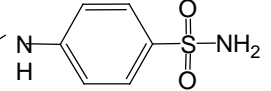
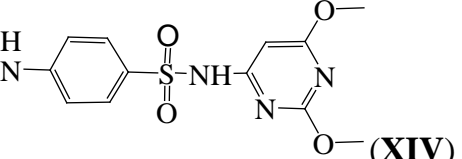
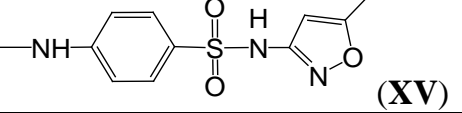
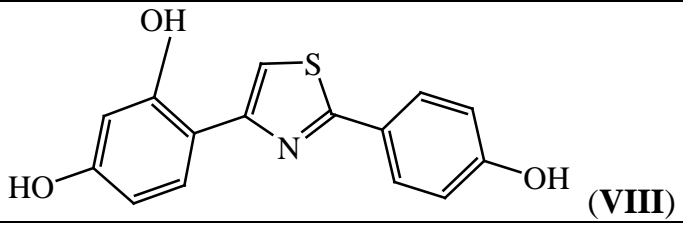
де  $V_i$  дорівнює початковій швидкості накопичення  $ABTS^{\bullet+}$  в реакції з  $K_2S_2O_8$ , за відсутності інгібітора (при концентраціях реагентів  $C_0(ABTS) = C_0(K_2S_2O_8) = 0,4$  мМ,  $V_i$  дорівнювала  $(5 \pm 0.5) \cdot 10^{-8}$  ( $M^{-1} \cdot s^{-1}$ )).

Таким чином було розраховано стехіометричні коефіцієнти інгібування (таблиця 5.10).



Таблиця 5.10

Антирадикальна ємність двохатомних фенолів та ДФТ

№ з/п	Сполука	$f_{ABTS^{\cdot+}}$	$f_{ABTS^{\cdot+}}^{ind}$
1	R=  (I)	$2.0 \pm 0.1$	$1.4 \pm 0.1$
2	 (II)	$3.1 \pm 0.5$	$1.5 \pm 0.2$
3	 (III)	$1.7 \pm 0.1$	$1.6 \pm 0.5$
4	 (IV)	$2.3 \pm 0.5$	$2.5 \pm 0.8$
5	 (V)	$2.2 \pm 0.3$	$1.2 \pm 0.2$
6	 (VI)	$1.8 \pm 0.6$	$2.4 \pm 0.2$
7	 (VII)	$1.4 \pm 0.2$	$1.4 \pm 0.1$
8	 (R) (XII)	$9 \pm 1$	$2.0 \pm 0.2$
9	 (XIII)	$6.0 \pm 0.4$	$3.7 \pm 0.2$
10	 (XIV)	$7.5 \pm 0.3$	$4.0 \pm 0.4$
11	 (XV)	$5.7 \pm 0.2$	$3.3 \pm 0.3$
12	 (VIII)	$3.5 \pm 0.5$	—
13	Пірокатехін	$2.1 \pm 0.4$	$1.8 \pm 0.3$
14	4-Метилпірокатехін	$2.0 \pm 0.3$	$2.3 \pm 0.8$
15	Тролокс	$2.0 \pm 0.2$	$1.9 \pm 0.1$
16	Резорцин	$5.0 \pm 1.5$	$2.5 \pm 0.5$
17	Іюнол	$1.2 \pm 0.3$	—

Їх було порівняно з величиною стехіометричного коефіцієнта, розрахованого в реакції з попередньо генерованим радикалом  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  за методом R.Re [73]. При розрахунках за методом R.Re використовували тільки першу «швидку» стадію реакції (перші 60 с). Суттєва розбіжність спостерігається для тих сполук, для яких за нашим припущенням відбувається утворення реакційно здатних щодо  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  продуктів.

Величина  $f_{\text{ABTS}^{\bullet+}}$  для пірокатехіну та його похідних із числа дигідроксифенілтіазолів близька до 2 (таблиця 5.10). В реакції з  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  з цих сполук утворюються відповідні гідроксіарильні радикали. Значення  $pK_a$  для семихінонного радикала пірокатехіну дорівнює 5.0 [228]. Це означає, що в умовах експерименту (pH 7.4) такі радикали практично повністю дисоційовані і повинні легко віддавати електрон для відновлення другого радикала  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  (схема 5.5). Основним молекулярним продуктом, що утворюється з пірокатехіну, буде відповідний *o*-хінон, а  $f_{\text{ABTS}^{\bullet+}}$  буде наближатися до 2.

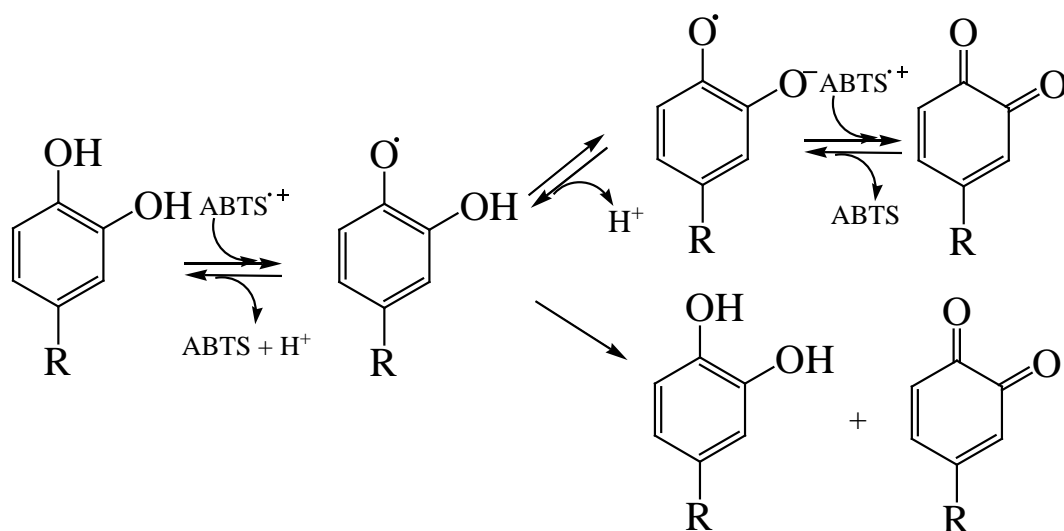


Схема 5.5 Механізм реакції між ДФТ і  $\text{ABTS}^{\bullet+}$

У результаті диспропорціонування гідроксіарильних радикалів пірокатехіну і ДФТ може регенеруватися вихідний антиоксидант, який так само може знову взаємодіяти з  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ . Однак квазістаціонарні концентрації таких гідроксіарильних радикалів будуть на кілька порядків нижчими, ніж  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ , і вклад цього шляху в сумарний процес буде незначним.

Резорцин має найбільше значення  $f_{\text{ABTS}^{\bullet+}}$ . Його похідне 2-(4'-гідроксифеніл)-4-(2'',4''-дигідроксифеніл)тіазол також демонструє високу антирадикальну ємність, для нього  $f_{\text{ABTS}^{\bullet+}} = 3,5 \pm 0,5$ . При додаванні цих фенолів у систему, що містить радикал  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  в концентрації більшій, ніж  $\frac{[\text{ABTS}^{\bullet+}]_0}{f_{\text{ABTS}^{\bullet+}}}$  з'являються

продукти, забарвлені в рожевий колір. Згідно з роботою [382], рожеве забарвлення спостерігається при взаємодії катіон-радикала  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  з резвератролом, катехіном і морином. Молекули всіх цих сполук містять фрагмент 1,3-дигідрок-

сибензену, тобто утворення забарвлених продуктів пов'язане з його перетвореннями. Дійсно, при взаємодії резорцину і 2-(4'-гідроксифеніл)-4-(2'',4''-дигідроксифеніл)тіазолу з  $ABTS^{\bullet+}$  спостерігається утворення продуктів, що мають в обох випадках смугу поглинання з максимумом 520 нм (рис. 5.7). Для резорцину встановлено, що зі збільшенням глибини протікання реакції ця смуга поглинання зникає і з'являється нова в області 470 нм (рис. 5.7).

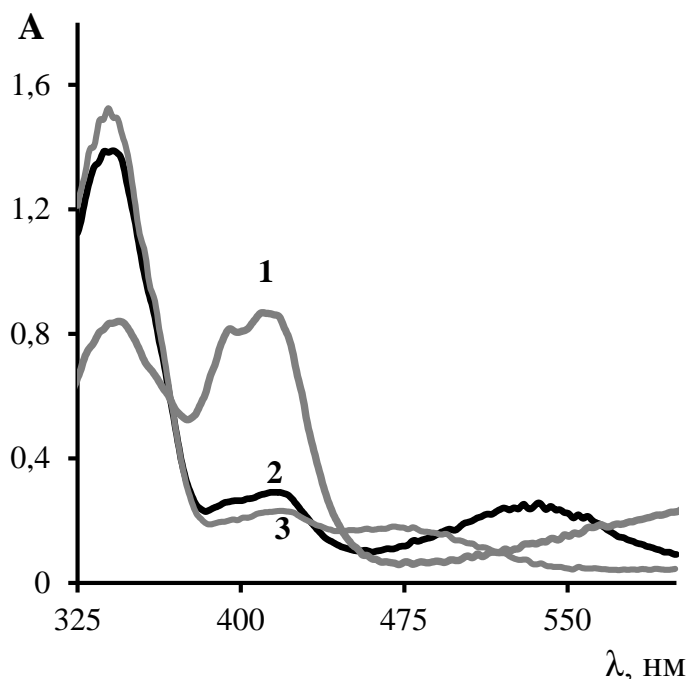


Рис. 5.7 Зміна UV-VIS спектра при взаємодії  $ABTS^{\bullet+}$  з резорцином. Фосфатний буфер, pH 7.4,  $[ABTS^{\bullet+}]_0 = 4.7 \cdot 10^{-5}$  М,  $[m-QH_2]_0 = 5.0 \cdot 10^{-6}$  М: 1. – спектр  $ABTS^{\bullet+}$  без антиоксиданту; 2. – відразу після додавання антиоксиданту; 3. – через 5 хв від початку реакції

Для гідроксіарильних радикалів резорцину і 2-(4'-гідроксифеніл)-4-(2'',4''-дигідроксифеніл)тіазолу, що утворюються в реакції (5.9), загибель у реакції диспропорціонування неможлива, оскільки вони не утворюють хіноїдних структур. Аніон-радикали цих речовин можуть зникати в ході димеризації або взаємодіяти з катіон-радикалом з утворенням продуктів приєднання. Подібні продукти були ідентифіковані для реакції флороглюцину з  $ABTS^{\bullet+}$  [78]. Такі аддукти можуть проявляти антирадикальні властивості, що призводить до більших значень  $f_{ABTS^{\bullet+}}$ .

Таким чином, взаємодія ДФТ зі стабільними радикалами  $\bullet DPPH$  і  $ABTS^{\bullet+}$  залежить від структури антиоксиданту, реакційної здатності продуктів його перетворення й умов проведення реакції. Інтерпретація результатів АРА в цих модельних реакціях повинна виконуватися з урахуванням всіх додаткових чинників, що можуть впливати на антирадикальну здатність, і обов'язково співвідноситься з поведінкою антиоксидантів в інших модельних системах.

### 5.3 Взаємодія дигідроксифенілітіазолів з киснем

Антиоксидантна активність ДФТ обумовлена пірокатехіновим фрагментом молекули. Оскільки у водному середовищі пірокатехін [178, 207] і його похідні [398] окиснюються розчиненим киснем, то і ДФТ повинні окиснюватися в таких умовах. Так, 4-(3',4'-дигідроксифеніл)тіазоли легко окиснюються у водно-лужних середовищах у межах рН 9.0–10.8 (рис. 5.8).

Окиснення ДФТ і *o*-QH<sub>2</sub> являє собою складний процес. Первинними продуктами автоокиснення є відповідні хінони і пероксид водню, зміна концентрації яких під час реакції зафіксована методом йодометричного титрування (рис. 5.9). Накопичення пероксиду водню і поглинання кисню відбувається симбатно тільки на початковому етапі окислення *o*-QH<sub>2</sub> і ДФТ I. Кількість кисню, поглиненого з реакційного середовища, перевищує початкову концентрацію субстрату. Це свідчить про подальшу окисну трансформацію первинних продуктів реакції автоокиснення (хінонів), які накопичуються, а потім витрачаються, що спостерігалось в експерименті (рис. 5.9). Відомо, що у водному середовищі *o*-бензохінон здатний до подальших перетворень, наприклад, з розкриттям бензенового кільця і утворенням похідних гідроксомуконової кислоти [399] або димеризації [39].

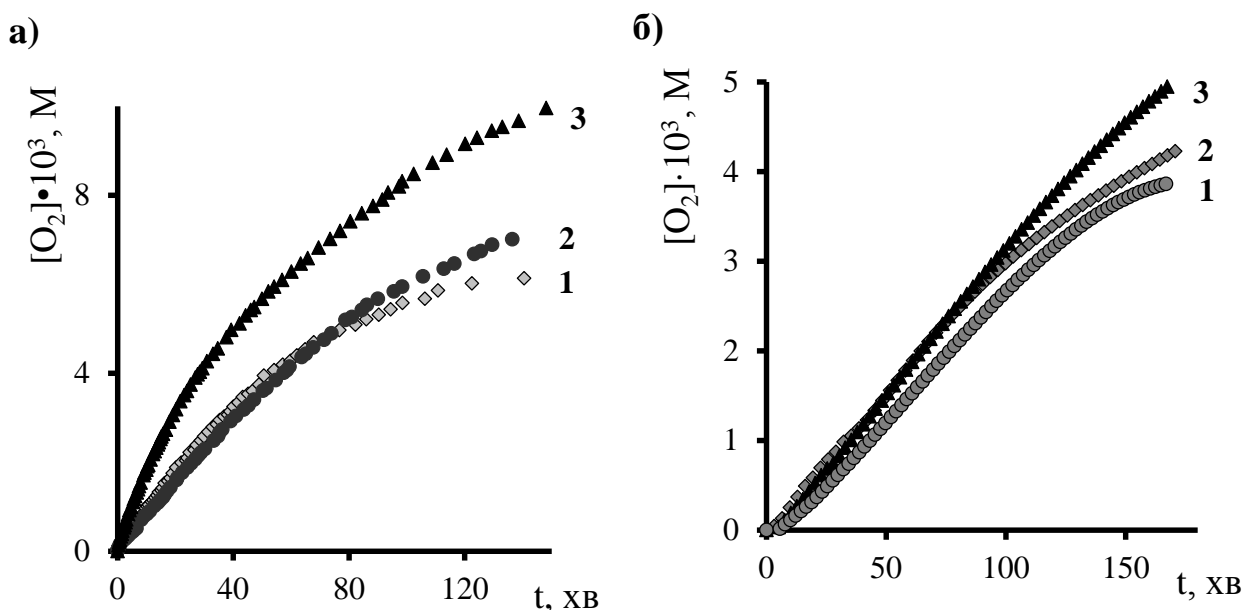


Рис. 5.8 Кінетичні криві поглинання кисню при автоокисненні пірокатехіну і ДФТ,  $[S]_0 = 5.0$  мМ,  $T = 308$  К: а) КБС (рН = 9.2):ДМСО = 0.7:0.3. 1. *o*-QH<sub>2</sub>, 2. – ДФТ (VII), 3. – ДФТ (VI); б) 0.1 М Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (рН 9.1): ДМСО = 1:0.3. 1. – ДФТ (V), 2. – *o*-QH<sub>2</sub>, 3. – ДФТ (VI)

На початку процесу кінетичне рівняння швидкості окиснення має вигляд:

$$V_0(O_2) = k_{ox} \cdot [ArOH]_0^n \cdot [O_2]_0^m,$$

де  $V_0(O_2)$  – початкова швидкість поглинання кисню,  $[ArOH]_0$  і  $[O_2]_0$  – початкові концентрації фенолу та кисню,  $n$  та  $m$  – порядки реакції за відповідними реагентами,  $k_{ox}$  – константа швидкості окиснення.

З урахуванням  $[O_2] = \text{const}$  у системі, що забезпечувалося способом постановки експерименту, отримаємо:

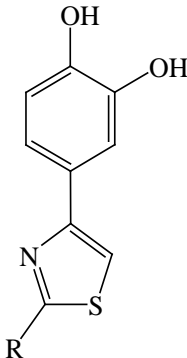
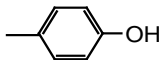
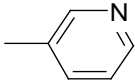
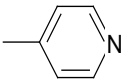
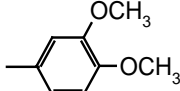
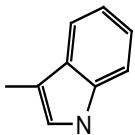
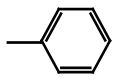
$$V_0(O_2) = k_{eff} [ArOH]_0^n,$$

де  $k_{eff} = k_{ox} \cdot [O_2]_0^m$ .

Виміряні за допомогою електрода Кларка рівноважні концентрації кисню у фосфатному і карбонатному буферних розчинах у межах pH 9 – 10.8 і  $T = 308 \text{ K}$  змінюються незначно, їхнє середнє значення дорівнює  $(2.1 \pm 0.1) \cdot 10^{-4} \text{ M}$ . Приймаючи  $m = 1$  [39], було визначено кінетичні параметри реакції автоокиснення пірокатехіну та ДФТ, що наведені в таблиці 5.11.

Таблиця 5.11

Параметри автоокиснення ДФТ і *o*-QH<sub>2</sub>

№ з/п	Сполука		Буферна система	n <sub>АО</sub>	k <sub>eff</sub> 10 <sup>4</sup> , с <sup>-1</sup>	k <sub>ох</sub> , (М·с) <sup>-1</sup>
		R=, шифр				
1		—CH <sub>3</sub>	КБС	1.1 ± 0.4	2.8 ± 0.6	1.3 ± 0.3
			ФБС	1.2 ± 0.7	0.8 ± 0.3	0.4 ± 0.1
2			КБС	1.0 ± 0.4	2.3 ± 0.4	1.1 ± 0.2
3			КБС	1.1 ± 0.5	2.1 ± 0.4	1.0 ± 0.2
			ФБС	1.0 ± 0.5	0.9 ± 1	0.46 ± 0.05
4			КБС	0.9 ± 0.2	1.5 ± 0.5	0.7 ± 0.2
5			КБС	1.2 ± 0.2	4 ± 2	1.7 ± 0.9
			ФБС	1.2 ± 0.4	0.9 ± 0.2	0.4 ± 0.1
6			КБС	1.0 ± 0.1	5.4 ± 0.4	2.6 ± 0.2
	ФБС		1.1 ± 0.2	1.0 ± 0.1	0.5 ± 0.1	
7		КБС	0.8 ± 0.5	2.4 ± 0.9	1.1 ± 0.4	
8	Пірокатехін		КБС	1.0 ± 0.2	2.7 ± 0.5	1.3 ± 0.2
			ФБС	1.0 ± 0.4	0.9 ± 0.3	0.5 ± 0.2

Обчислені значення  $k_{ox}$  є ефективними, оскільки окиснення двохатомних фенолів, як зазначалося, є складним процесом.

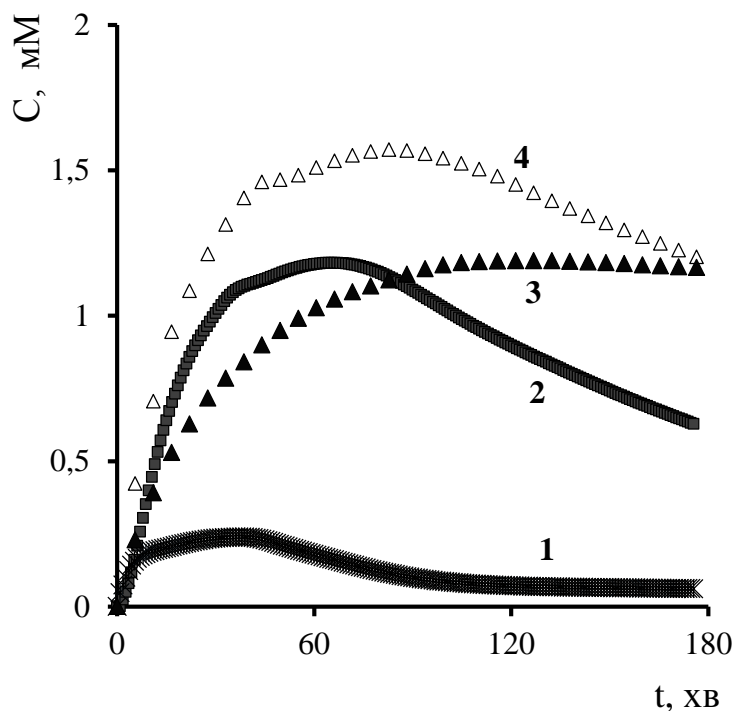


Рис. 5.9 Кінетика накопичення проміжних продуктів (хінон,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) при автоокисненні пірокатехіну і ДФТ I.  $T = 308 \text{ K}$ , КБС ( $\text{pH} = 9.2$ ): ДМСО = 0.7:0.3:  
 1.– хінон при автоокисненні  $o\text{-QH}_2$ ; 2.–  $\text{H}_2\text{O}_2$  при автоокисненні  $o\text{-QH}_2$ ;  
 3.– хінон при автоокисненні ДФТ (I); 4.–  $\text{H}_2\text{O}_2$  при автоокисненні ДФТ (I)

Однак у початковий момент реакції, коли вплив проміжних продуктів мінімальний, ця константа є кінетичною характеристикою реакції. Значення константи швидкості реакції автоокиснення ДФТ і  $o\text{-QH}_2$  збігаються у межах похибки, за винятком ДФТ VI у карбонатній буферній системі.

### 5.3.1 Хемілюмінесценція в реакції автоокиснення дигідроксибенілтіазолів

Автоокиснення ДФТ у водно-лужному середовищі супроводжується хемілюмінесценцією (рис. 5.10). Вид кривих та інтенсивність ХЛ залежить від структури сполуки, що окиснюється, і умов експерименту (рис. 5.10 і 5.11). Інтенсивність світіння для всіх вивчених сполук у розчині  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  набагато нижча ніж у карбонатній буферній системі при однакових значеннях  $\text{pH}$  (рис. 5.10 і рис. 5.11), що узгоджується з більшою швидкістю поглинання кисню в останній (таблиця 5.11).

Максимальна інтенсивність хемілюмінесценції зростає зі збільшенням початкової концентрації субстрату (рис. 5.12). Залежність максимальної інтенсивності від початкової концентрації антиоксиданта має нелінійний характер, що, ймовірно, пов'язано з фізичним гасінням ХЛ забарвленими продуктами окиснення.

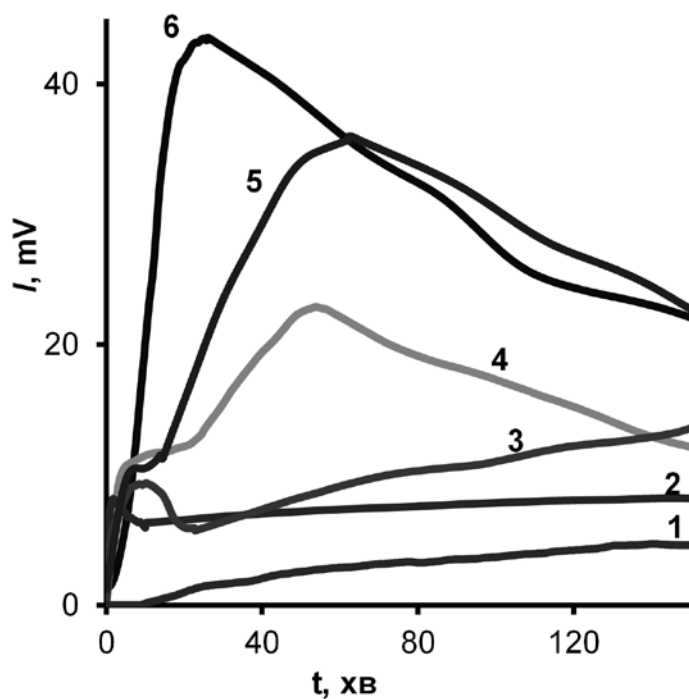


Рис. 5.10 Кінетичні криві хемілюмінесценції в реакції автоокиснення тіазолів і пірокатехіну. КБС (рН = 9.2):ДМСО = 0.7:0.3,  $T = 308\text{ K}$ ,  $[AO]_0 = 5 \cdot 10^{-3}\text{ M}$ : 1. – ДФТ (VII); 2. – ДФТ (V); 3. – ДФТ (VI); 4. – ДФТ (II); 5. – *o*-QH<sub>2</sub>; 6. – ДФТ (I)

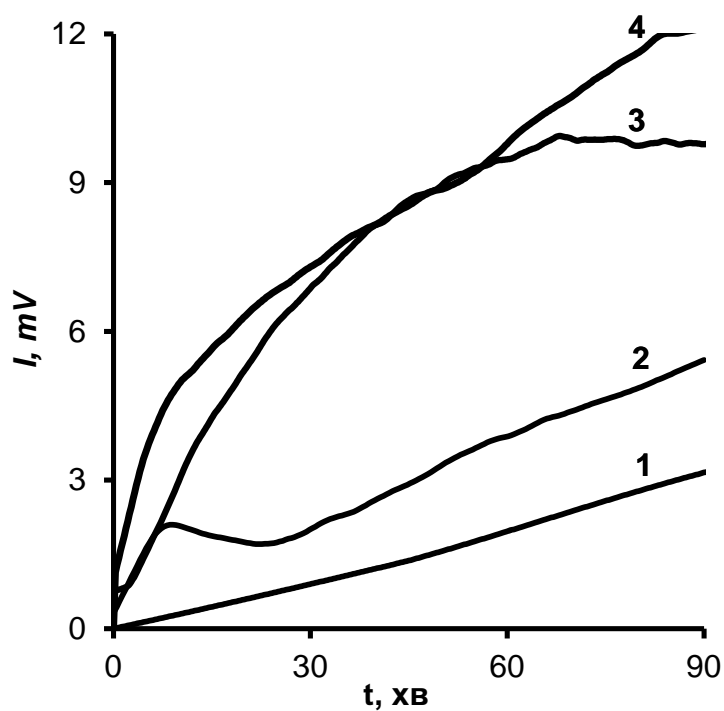


Рис. 5.11 Кінетичні криві хемілюмінесценції в реакції окиснення тіазолів і пірокатехіну. 0.1 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (рН 9.1):ДМСО = 0.7:0.3,  $T = 308\text{ K}$ ,  $[AO]_0 = 5 \cdot 10^{-3}\text{ M}$ : 1. – *o*-QH<sub>2</sub>; 2. – ДФТ (VI); 3. – ДФТ (I); 4. – ДФТ (II)

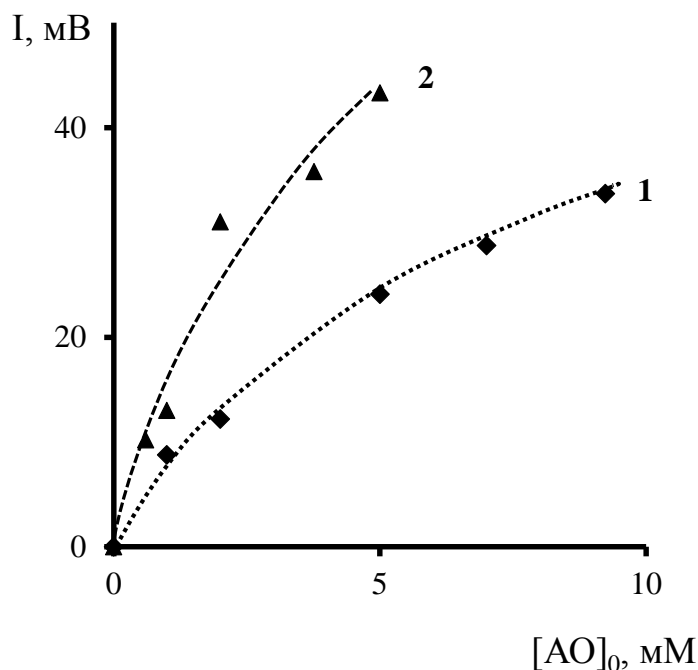


Рис. 5.12 Залежність максимальної інтенсивності хемілюмінесценції від початкової концентрації ДФТ: КБС (рН = 9.2):ДМСО = 0.7:0.3, Т = 308 К: 1. – ДФТ (II); 2. – ДФТ (I)

Ймовірними емітерами ХЛ-світіння у процесах автоокиснення пірокатехіну і ДФТ є відповідні хінони, які утворюються в реакції рекомбінації радикалів. З метою з'ясування природи емітера хемілюмінесценції був вивчений спектральний склад ХЛ-світіння у процесі окиснення ДФТ (I) і пірокатехіну. З цією метою використовували набір стандартних скляних світлофільтрів за методикою, описаною у підрозділі 2.2.2. Форма кінетичної ХЛ-кривої у процесі автоокиснення *o*-QH<sub>2</sub> не змінюється при варіюванні різних СФ. Це характерно і для ХЛ-світіння при автоокисненні ДФТ (I). Отже, в реакції утворюється один емітер ХЛ-світіння. Отримані спектри випромінювання емітерів у реакції автоокиснення *o*-QH<sub>2</sub> і ДФТ (I) наведені на рис. 5.13. Визначені максимуми смуг емітерів складають:

- *o*-QH<sub>2</sub> – 588 ± 8 нм;
- ДФТ (I) – 565 ± 12 нм.

Незначні відмінності у спектральних характеристиках випромінювання емітерів ХЛ, що утворюються при автоокиснення *o*-QH<sub>2</sub> і ДФТ (I), свідчить про їх подібність за хімічною природою.

Енергії збуджених станів емітерів дорівнюють для пірокатехіну 191 ± 3 кДж/моль і для ДФТ (I) – 199 ± 3 кДж/моль. Ці величини близькі до енергії першого триплетного рівня 1,2-антрахінону (197 кДж/моль) і 9,10-фенантрохінону (204 кДж/моль) [400]. Таким чином, ймовірний емітер хемілюмінесценції – *орто*-хінон або у випадку ДФТ – відповідний *орто*-діоксогексадієнілтіазол.



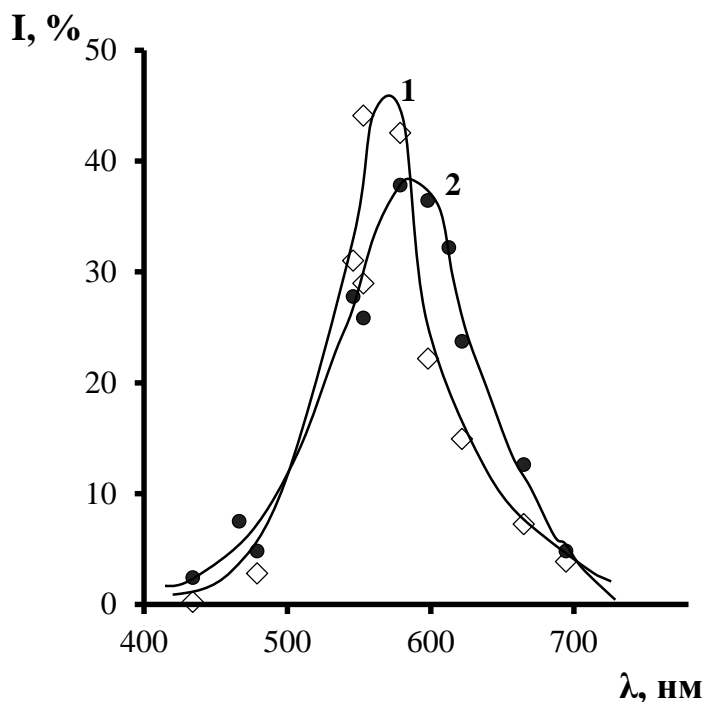


Рис. 5.13 Спектри випромінювання емітерів ХЛ, що утворюються у процесі авто-окиснення. КБС, рН = 10.0, T = 308 К. [АО]<sub>0</sub> = 5.0 мМ: 1. – ДФТ (I); 2. – o-QH<sub>2</sub>

### 5.3.2 Радикалоутворення при окисненні ДФТ у водному середовищі

Швидкість зародження радикалів (швидкість ініціювання  $V_i$ ) під час авто-окиснення ДФТ було визначено за допомогою методу інгібіторів, детально викладеному у Розділі III, з використанням аскорбінової кислоти.

Додавання аскорбінової кислоти при окисненні ДФТ спричиняє появу на кривих ХЛ періодів індукції (рис 5.14).

Тривалість індукційного періоду прямо пропорційна початковій концентрації аскорбінової кислоти для всіх вивчених субстратів (рис. 5.15).

Швидкості зародження радикалів при автоокисненні ДФТ визначали зі співвідношення (3.8), приймаючи, що  $f$  дорівнює одиниці. Отримані величини швидкостей реакції радикалоутворення наведені в таблиці 5.12.

Швидкість радикалоутворення, як і швидкість поглинання кисню, зменшується при переході з карбонатної буферної системи в розчин фосфатної солі.

Швидкість радикалоутворення в реакції автоокиснення вивчених сполук змінюється в межах одного порядку (таблиця 5.12), найнижче значення отримано для реакції автоокиснення модельної сполуки – o-QH<sub>2</sub>. Тобто у вивченому ряду тіазольні замісники підвищують реакційну здатність ДФТ щодо молекулярного кисню порівняно з пірокатехіном.

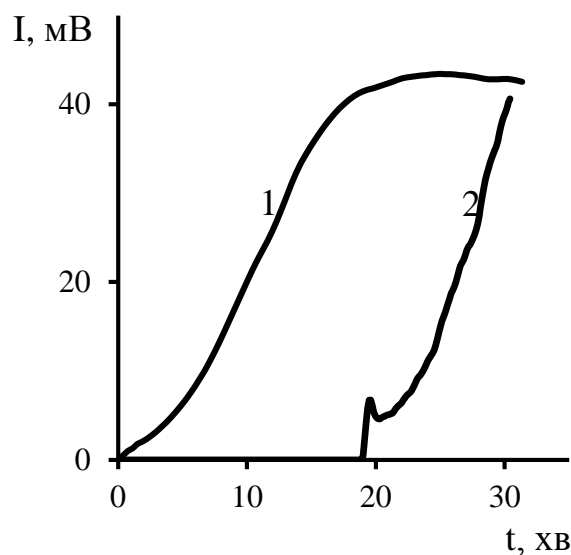
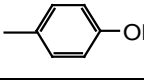
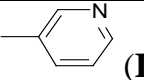
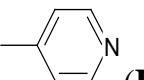
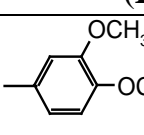
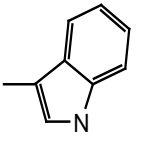
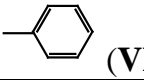


Рис. 5.14 Криві хемілюмінесценції в реакції автоокиснення ДФТ (I). КБС (рН 9.2):ДМСО = 0.7:0.3, T = 308 К, [ДФТ I]<sub>0</sub> = 5 мМ: 1. – за відсутності аскорбінової кислоти; 2. – у присутності аскорбінової кислоти, [Asc]<sub>0</sub> = 0.2 мМ

Таблиця 5.12

Швидкості реакції радикалоутворення при окисненні пірокатехіну і ДФТ

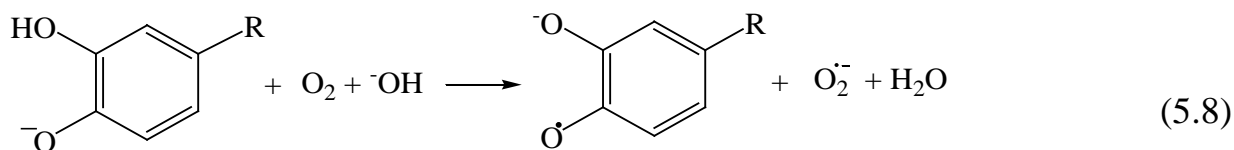
№ з/п	Сполука	$V_i \cdot 10^7, \text{M} \cdot \text{c}^{-1}$	
		(КБС)	(0.1 М Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )
	R=		
1	—CH <sub>3</sub> (I)	3.2 ± 0.2	0.21 ± 0.09
2	 (II)	11.0 ± 1.6	3.2 ± 0.9
3	 (III)	1.4 ± 0.5	1.3 ± 0.6
4	 (IV)	3.7 ± 0.3	—
5	 (V)	2.3 ± 0.4	0.29 ± 0.04
6	 (VI)	12 ± 4	4 ± 1
7	 (VII)	2.3 ± 0.5	—
8	Пірокатехін	0.8 ± 0.2	0.052 ± 0.005

Швидкість автоокиснення ДФТ (I), а також швидкість зародження радикалів підвищується зі збільшенням рН реакційної системи (таблиця 5.13). Це

пов'язано зі збільшенням частки дисоційованих пірокатехінових фрагментів ДФТ, швидкість взаємодії яких з киснем вища, ніж недисоційованих форм. Така ж закономірність, очевидно, буде спостерігатися і для інших ДФТ.

Якщо припустити, що швидкості автоокиснення ( $V_{(O_2)}$ ) характеризує швидкість продовження ланцюгів, то співвідношення  $V_{(O_2)}/V_i$  буде дорівнювати довжині ланцюгів у процесі автоокиснення ( $\nu$ ). Для рН 9.2, 10.0, 10.8 отримані  $\nu$ , рівні 4.4, 2.4 і 0.64 відповідно, тобто з підвищенням рН довжина ланцюгів у реакції автоокиснення знижується.

Швидкість ініціювання змінюється зі структурою сполуки. Це вказує на те, що реакція радикалоутворення при автоокисненні *o*-QH<sub>2</sub> і ДФТ протікає безпосередньо із залученням субстрату.



Спінова заборона в реакції (5.8) долається через механізм PCET, а її термодинамічний аспект буде визначатися різницею редокс-потенціалів:

$$\Delta E = E(\text{O}_2/\text{O}_2^{\bullet -}) - E(\text{HO-Ar-O}^\bullet/\text{HO-ArO}^-).$$

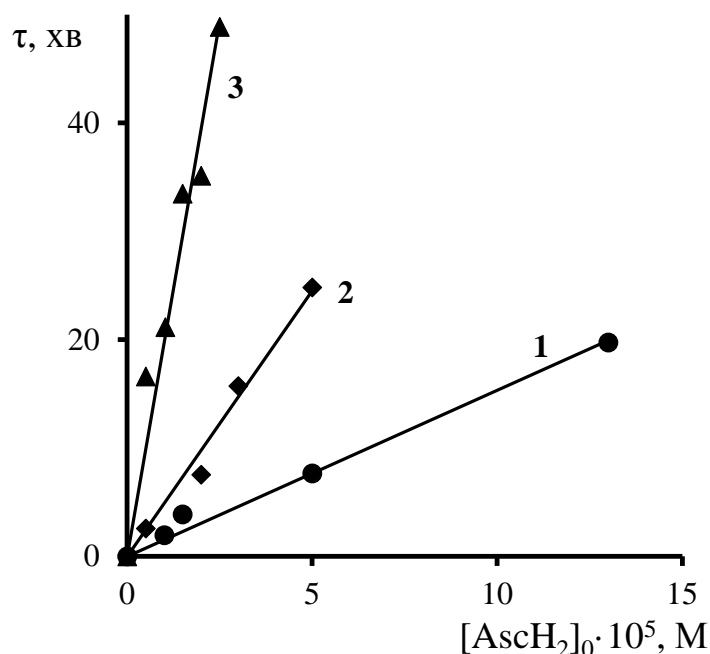


Рис. 5.15 Залежність періоду індукції від концентрації аскорбінової кислоти в реакції інгібованого автоокиснення ДФТ і *o*-QH<sub>2</sub>. КБС (рН 9.2):ДМСО = 0.7:0.3, T = 308 K, [AO]<sub>0</sub> = 5 mM: 1. – ДФТ II; 2. – ДФТ I; 3. – *o*-QH<sub>2</sub>

Тут має спостерігатись антибатна залежність від одноелектронного потенціалу Ar(OH)<sub>2</sub>. Такі дані між  $V_i$  і потенціалом напівхвилі  $E_{1/2}$ , визначеним методом циклічної вольтамперометрії, наведені на (рис. 5.16).

Таблиця 5.13

Значення початкових швидкостей поглинання кисню і радикалоутворення при автоокисненні ДФТ (I), КБС (рН 9.2):ДМСО = 0.7:0.3, T = 308 K

рН КБС	$V_{(O_2)} \cdot 10^6, \text{M} \cdot \text{c}^{-1}$	$V_i \cdot 10^6, \text{M} \cdot \text{c}^{-1}$
9.2	$1.44 \pm 0.05$	$0.33 \pm 0.07$
10.0	$2.36 \pm 0.04$	$1.7 \pm 0.8$
10.8	$3.4 \pm 0.1$	$5.3 \pm 0.5$

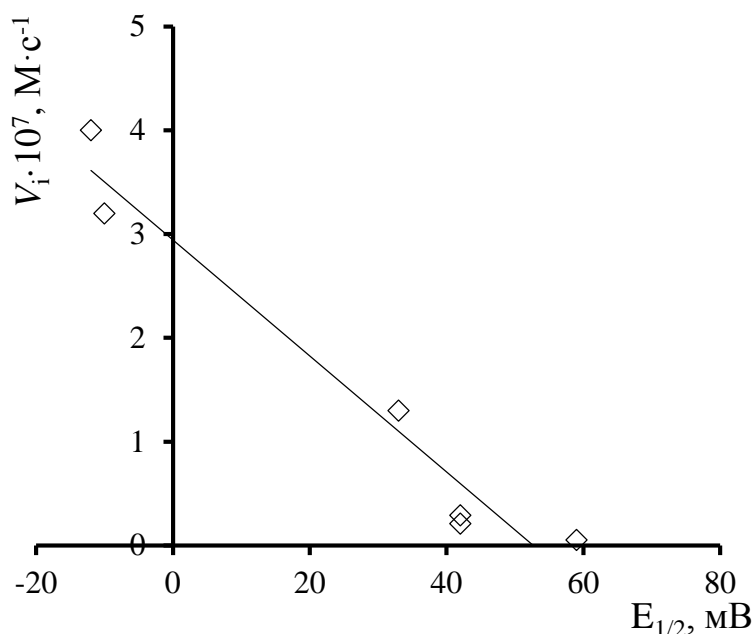


Рис. 5.16 Залежність швидкості зародження радикалів при автоокисненні ДФТ від потенціалу напівхвилі. 0.1 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ :ДМСО = 1:0.3, T = 308 K,  $[\text{AO}]_0 = 5.0 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

Таким чином, автоокиснення ДФТ у водно-лужних середовищах є радикальним процесом. Зародження радикалів у системі здійснюється внаслідок протон-спряженого переносу електрона від моноаніона ДФТ на кисень. Кінетичні закономірності процесу автоокиснення ДФТ здебільшого є такими ж, як для пірокатехіну, хоча антирадикальна та антиоксидантна активності ДФТ у полярних середовищах є вищими.

Реакційним центром, відповідальним за антиоксидантні властивості ДФТ, є дигідроксиарильний фрагмент молекули. Високі антиоксидантні властивості дигідроксифенілтіазолів порівняно з пірокатехіном обумовлені впливом тіазольного циклу, який імовірно вступає у спряження з гідроксиарильним фрагментом молекули і таким чином стабілізує відповідний дигідроксиарильний аніон-радикал.

Наявність антибактеріальних властивостей у ДФТ разом із середньою токсичністю [401] обумовлює перспективність практичного використання дигідроксифенілтіазолів в якості сполук, що виявляють комбіновану дію – антиоксидантну та антибактеріальну.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Block G, Dietrich M., Norkus E. P., Packer L. Oxidative stress in human populations. *Critical reviews of oxidative stress and aging: advances in basic science diagnostics and intervention* / Eds. R. G. Cutler, H. Rodriguez. Singapore, 2003. P. 870–880.
2. Freya Q., Schafer F. Q., Kelley E. E., Buettner G. R. Critical reviews of oxidative stress and aging. *Critical Reviews of Oxidative Stress and Aging* / Eds. Cutler R. G., Rodrigues H. – World Scientific, 2003. Vol. 2, Ch. 49. P. 849–869.
3. Осипов А. Н, Азизова О. А., Владимиров Ю. А. Активные формы кислорода и их роль в организме. *Успехи биологической химии*. 1990. Т. 31. С. 180–208.
4. Afanas'ev I. B. Superoxide Ion Chemistry and Biological Implications. Vol. 1–2. Florida: CRC Press, 1989.
5. Фридович И. Радикалы кислорода, пероксид водорода и токсичность кислорода. *Свободные радикалы в биологии* / ред. И. Фридович. М.: Мир, 1979. Т. 1. С. 272–314.
6. Gebicki S, Gebicki J. M. Formation of peroxides in amino acids and proteins exposed to oxygen free radicals. *Biochem. J.* 1993. Vol. 289, No 3. P. 743–749.
7. Gorman A. A. Singlet molecular oxygen. *Chem. Soc. Rev.* 1981. Vol. 10, No 2. P. 205–231.
8. Bielski B. H. J., Cabelli D. E. Superoxide and hydroxyl radical chemistry in aqueous solution. *Active Oxygen in Chemistry* / Eds. C. S. Foote, J. S. Valentine, A. Greenberg. London: Liebman J. Feds. Chapman and Hall, 1995. P. 66–104.
9. Kohen R., Niska A. Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantication. *Toxicologic Pathology*. 2002. Vol. 30, No 6. P. 620–650.
10. Mates J. M., Perez-Gomez C., Nunez De Castro I. Antioxidant Enzymes and Human Diseases. *Clinical Biochemistry*. 1999. Vol. 32, No 8. P. 595–603.
11. Denisov E. T., Afanas'ev I. B. Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology. Florida, Boca Raton: CRC, Taylor and Francis, 2005. 981 p.
12. Денисов Е. Т., Эмануэль М. Н. Кинетические критерии эффективности ингибиторов окисления. *Кинетика и катализ*. 1973. Т. 19, No 4. P. 823–828.
13. Денисов Е. Т. Элементарные реакции ингибиторов окисления. *Успехи химии*. 1973. Т. 42, № 3. С. 361–390.
14. Denisova T. G., Denisov E. T. Handbook of Antioxidants. Taylor and Francis Group, 1999. 312 p.
15. Ковтун Г. А. Реакционная способность взаимодействия фенольных антиоксидантов с пероксильными радикалами. *Катализ и нефтехимия*. 2000. № 4. С. 1–8.
16. Ковтун Г. А., Плужников В. А. Химия ингибиторов окисления органических соединений. Киев: Наук. думка, 1995. 129 с.

17. Packer L. Free radical scavengers and antioxidants in prophylaxy and treatment of brain diseases. *Free Radicals Brain. Aging, Neurological and Mental Disorders* / Eds. L. Parker, L. Prilipko, J. Christen. Springer Berlin Heidelberg, 1992. P. 1–20.
18. Денисов Е. Т. Кинетика гомогенных химических реакций. М.: Высшая школа, 1988. 391 с.
19. Денисов Е. Т. Саркисов М., Лихтенштейн Г. И. Химическая кинетика. М.: Химия, 2000. 565 с.
20. Денисов Е. Т. Константы скорости гомолитических жидкофазных реакций. М.: Наука, 1971. 711 с.
21. Neta P., Grodkowski J. Rate Constants for Reactions of Phenoxyl Radicals in Solution. *Phys. Chem. Ref. Data*. 2005. Vol. 34, No. 1. P. 109–199.
22. Денисов Е. Т. Денисова Т. Г. Реакционная способность природных фенолов. *Успехи химии*. 2009. Т. 78, № 11. С. 1129–1155.
23. Денисова Т. Г., Денисов Е. Т. Реакционная способность природных фенолов в радикальных реакциях. *Кинетика и катализ*. 2009. Т. 50, № 3. С. 355–363.
24. Денисов Е. Т. Параболическая модель переходного состояния для реакций радикального присоединения по кратным С–С связям. *Кинетика и катализ*. 1992. Т. 33, № 1. С. 66–73.
25. Денисов Е. Т. Триpletное отталкивание и сродство к электрону как факторы, влияющие на энергию активации реакций радикального отрыва. *Кинетика и катализ*. 1994. Т. 35, № 3. С. 325–331.
26. Хемилюминесцентные методы исследования медленных химических процессов / В. Я. Шляпинтох и др. М.: Наука, 1966. 300 с.
27. Рогинский В. А. Фенольные антиоксиданты. Реакционная способность и эффективность. М.: Наука, 1988. 247 с.
28. Денисов Е. Т., Азатян В. В. Ингибирование цепных реакций. Черногловка, 1997. 268 с.
29. Денисов Е. Т., Дроздова Т. И. Анализ кинетических данных реакции пероксильных радикалов с фенолами в рамках параболической модели. *Кинетика и катализ*. 1994. Т. 35, № 2. С. 176–183.
30. Денисов Е. Т., Дроздова Т. И. Реакционная способность феноксильных радикалов. Факторы, определяющие активность кислородцентрированных радикалов в реакциях со связями С–Н и О–Н. *Кинетика и катализ*. 1997. Т. 38, № 1. С. 43–51.
31. Туманов В. Е., Денисов Е. Т. Анализ реакционной способности антиоксидантов и образующихся из них радикалов в рамках модели пересекающихся термов Морзе. *Кинетика и катализ*. 1997. Т. 38, № 3. С. 371–376.
32. Вартамян Л. С. Фенолы как источники радикалов в биохимических системах. *Успехи химии*. 1975. Т. 44, Вып. 10. С. 1851–1870.
33. Binstead R.A. Meyer T.J., Metal-oxygen multiple bond lengths: a statistical study. *J. Am. Chem. Soc.* 1987. Vol. 109. P. 3287–3297.

34. Krinsky N. I. Mechanism of action of biological antioxidants. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1992. Vol. 200. P. 248–254.
35. Stability and reactivity of aryloxy radicals derived from a novel antioxidant BO-653 and related compounds. Effects of substituent and side chain in solution and membranes / A. Watanabe et al. *J. Am. Chem. Soc.* 2000. Vol. 122, № 2. P. 5438–5442.
36. Frankel E. N., Meyer A. S. // The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Sc. Food and Agriculture*. Vol. 80, № 13. P. 1925–1941.
37. Johnson E. R., Salamone M., Bietti M., DiLabio G. A. Modeling noncovalent radical-molecule interactions using conventional density-functional theory: beware erroneous charge transfer. *J. Phys. Chem. A*. 2013. Vol. 117. P. 947–952.
38. Loshadkin D., Roginsky V., Pliss E. Substituted p-hydroquinones as a chain-breaking antioxidant during the oxidation of styrene. *Int. J. Chem. Kin.* 2002. Vol. 34, № 3. P. 162–171.
39. Roginsky V., Alegria A. E. Oxidation of Tea Extracts and Tea Catechins by Molecular Oxygen. *J. Agric. Food Chem.* 2005. Vol. 53, № 11. P. 4529–4535.
40. Сирота Т. В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы. *Вопросы медицинской химии*. 1999. Т. 45, № 3. С. 109–116.
41. Perkins M. J. Free Radical Chemistry New York: Ellis Horwood, 1994. 182 p.
42. Proton-coupled electron transfer versus hydrogen atom transfer in benzyl/toluene, methoxyl/methanol, and phenoxy/phenol self-exchange reactions / Mayer J. M. etc. *J. Am. Chem. Soc.* 2002. Vol. 124, No 34. P. 11142–11147.
43. Proton-coupled electron transfer between  $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{py})\text{OH}_2]^{2+}$  and  $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{py})\text{O}]^{2+}$ . A solvent isotope effect ( $\text{kH}_2\text{O}/\text{kD}_2\text{O}$ ) of 16.1 / R. A. Binstead et al. *J. Am. Chem. Soc.* 1981. Vol. 103, No 10. P. 2897–2899.
44. Iordanova N., Hammes-Schiffer S. J. Theoretical Investigation of Large Kinetic Isotope Effects for Proton-Coupled Electron Transfer in Ruthenium Polypyridyl Complexes. *J. Am. Chem. Soc.* 2002. Vol. 124, No 17. P. 4848–4856.
45. Farrer B. T. Thorp H. H. Driving Force and Isotope Dependence of the Kinetics of Proton-Coupled Electron Transfer in Oxoruthenium(IV) Polypyridyl Complexes. *Inorg. Chem.* 1999. Vol. 38, No 10. P. 2497–2502.
46. Meyer T. J., My Hang V. Huynh. The Remarkable Reactivity of High Oxidation State Ruthenium and Osmium Polypyridyl Complexes. *Inorg. Chem.* 2003. Vol. 42, No 25. P. 8140–8160.
47. Costentin C., Louault C. Evidence for Concerted Proton–Electron Transfer in the Electrochemical Oxidation of Phenols with Water As Proton Acceptor. Tri-tert-butylphenol. *J. Am. Chem. Soc.* 2008. Vol. 130, No 47. P. 15817–15819.
48. Gutteridge J. M., Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci.* 1990. Vol. 15, No 4. P. 129–135.
49. Proton-Coupled Electron Transfer / D. R. Weinberg et al. *Chemical Reviews*. 2012. Vol. 112, No 7. P. 4016–4093.
50. Proton-coupled electron transfer: a unifying mechanism for biological charge transport, amino acid radical initiation and propagation, and bond making/

- breaking reactions of water and oxygen / Ch. J. Chang et al. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2004. Vol. 1655. P. 13–28.
51. Binstead R. A. Meyer T. J. Metal-oxygen multiple bond lengths: a statistical study. *J. Am. Chem. Soc.* 1987. Vol. 109. P. 3287–3297.
  52. MPW1K Performs Much Better than B3LYP in DFT Calculations on Reactions that Proceed by Proton-Coupled Electron Transfer (PCET) / Lingwood M. et al. *J. Chem. Theory Comput.* 2006. Vol. 2(3). P. 740–745.
  53. Hammes-Schiffer S., Soudackov A.V. Proton-coupled electron transfer in solution, proteins, and electrochemistry. *J. Phys. Chem. B*. 2008. Vol. 112, No 45. P. 14108–14123.
  54. A unified perspective on the hydrogen atom transfer and proton-coupled electron transfer mechanisms in terms of topographic features of the ground and excited potential energy surfaces as exemplified by the reaction between phenol and radicals / O.Tishchenko et al. *J. Am. Chem. Soc.* 2008. Vol. 130, No 22. P. 7000–7010.
  55. Huynh M. H. Meyer T. J. Proton-coupled electron transfer. *Chem. Rev.* 2007. Vol. 107, No 11. P. 5004–5064.
  56. Meunier B., de Visser S.P., Shaik S. Mechanism of oxidation reactions catalyzed by cytochrome p 450 enzymes. *Chem. Rev.* 2004. Vol. 104. P. 3947–3980.
  57. Warren J. J., Tronic T. A., Mayer J. M. The Thermochemistry of Proton-Coupled Electron Transfer Reagents and its Implications. *Chem. Rev.* 2010. Vol. 110, No 12. P. 6961–7001.
  58. Litwinienko G., Ingold K. U. Abnormal solvent effects on hydrogen atom abstraction. 2. Resolution of the curcumin antioxidant controversy. The role of sequential proton loss electron transfer. *J. Org. Chem.* 2004. Vol. 69, No 18. P. 5888–5896.
  59. Foti M., Daquino C., Geraci C. Electron-Transfer Reaction of Cinnamic Acids and Their Methyl Esters with the DPPH• Radical in Alcoholic Solutions. *J. Org. Chem.* 2004. 69. P. 2309–2314.
  60. Kinetic study of the electron-transfer oxidation of the phenolate anion of a vitamin E model by molecular oxygen generating superoxide anion in an aprotic medium / I. Nakanishi et al. *Org. Biomol. Chem.* 2003. Vol. 1, No 22. P. 4085–4088.
  61. Barclay L. R. C., Vinqvist M. R., Mukai K. On the antioxidant mechanism of curcumin: classical methods are needed to determine antioxidant mechanism and activity. *Org. Lett.* 2000. Vol. 2. P. 2841–2843.
  62. Jovanovic S. V., Steenken S., Boone C. W., Simic M. G. H-Atom Transfer Is A Preferred Antioxidant Mechanism of Curcumin. *J. Am. Chem. Soc.* 1999. Vol. 121. P. 9677–9681.
  63. How curcumin works preferentially with water soluble antioxidants / S.V. Jovanovic et al. *J. Am. Chem. Soc.* 2001. Vol. 123, No 13. P. 3064–3068.
  64. Unexpected Acid Catalysis in Reactions of Peroxyl Radicals with Phenols / Valgimigli L. etc. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2009. Vol. 48. P. 8348–8351.



65. Shaik S. S., Schlegel H.B., Wolfe S. Theoretical Aspects of Physical Organic Chemistry: The S<sub>N</sub>2 Mechanism. New York: Wiley, 1992. 285 p.
66. Blanksby S. J., Ellison G. B. Bond dissociation energies of organic molecules. *Acc. Chem. Res.* 2003. Vol. 36, No 4. P. 255–263.
67. Bordwell F. G., Cheng J.-P., Harrelson A. Jr. Homolytic bond dissociation energies in solution from equilibrium acidity and electrochemical data. *J. Am. Chem. Soc.* 1988. Vol. 110. P. 1229–1231.
68. Wayner D. M. Bond energies in solution from electrode potentials and thermochemical cycles. *Chem. Res.* 1993. Vol. 26, No 5. P. 287–294.
69. Tilset M. The Thermodynamics of Organometallic Systems Involving Electron-Transfer Paths. *Electron Transfer in Chemistry* / Ed. V. Balzani. Germany, Wiley-VCH: Weinheim, 2001. P. 677–713.
70. Tilset M. Organometallic Electrochemistry: Thermodynamics of Metal–Ligand Bonding. *Comprehensive Organometallic Chemistry III* / ed. G.Parkin. Elsevier: Amsterdam, 2007. Vol. 1. P. 279–305.
71. Evidence for Concerted Proton–Electron Transfer in the Electrochemical Oxidation of Phenols with Water As Proton Acceptor. Tri-tert-butylphenol / C. Costentin et al. *J. Am. Chem. Soc.* 2008. Vol. 130, No 47. P. 15817–15819.
72. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates / Miller N.J. et al. *Clin. Sci.* 1993. Vol. 84. P. 407–412.
73. Antioxidant activity applying an improved ABTS•+ radical cation decolorization assay / R. Re et al. *Free Rad. Biol. Med.* 1999. Vol. 26, No 9/10. P 1231–1237.
74. Rice-Evans C. A., Miller N. J. Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods Enzymol.* 1999. Vol. 299. P. 279–293.
75. Childs R. E., Badsky W. G. The steady-state kinetics of peroxidase with 2,20-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid as chromogen. *Biochem J.* 1975. Vol. 145. P. 93–103.
76. Campos A. M., Escobar J., Lissi E.A. The total reactive antioxidant potential (TRAP) and total antioxidant reactivity (TAR) of *Ilex paraguayensis* extracts and red wine. *J. Braz. Chem. Soc.* 1996. № 7. P. 43–49.
77. Bourbonnais R., Leech D., Paice G.M. Electrochemical analysis of the interactions of laccase mediators with lignin model compound. *Biochim. Biophys. Acta.* 1998. Vol. 1379, No 3. P. 381–390.
78. Osman A. M., Wong K.K.Y., Fernyhough A. ABTS radical-driven oxidation of polyphenols: Isolation and structural elucidation of covalent adducts. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 2006. Vol. 346, No 1. P. 321–329.
79. Lind J., Merényi G. Kinetic and thermodynamic properties of the aminoxyl (NH<sub>2</sub>O\*) radical. *J. Phys. Chem A.* 2006. Vol. 110, No 1. P. 192–197.
80. The Chemistry of Hydroxylamines, Oximes and Hydroxamic Acids / ed. Z. Rappoport, J. F. Liebman. West Sussex: Wiley, 2009. Parts 1 & 2. 1064 p.

81. Recupero F., Punta C. Free radical functionalization of organic compounds catalyzed by N-hydroxyphthalimide. *Chem Rev.* 2007. Vol. 107, No 9. P. 3800–3842.
82. Kishioka S., Yamada A. J. Kinetic study of the catalytic oxidation of benzyl alcohols by phthalimide-N-oxyl radical electrogenerated in acetonitrile using rotating disk electrode voltammetry. *Electroanal. Chem.* 2005. Vol 578. P 71–77.
83. Electrocatalytic oxidation of alcohols using substituted N-hydroxyphthalimides as catalysts / K. Gorgy et al. *J.-L. Electrochim. Acta.* 1998. Vol. 44, No 2–3. P. 385–393.
84. Kishioka S., Yamada A. Electro-oxidation of N-hydroxy imides for redox mediator in acetonitrile containing lutidine as a base. *Electrochim. Acta.* 2006. Vol. 51. – P. 4582–4588.
85. Минаев Б. Ф. Спин-катализ в процессах фото- и биоактивации молекулярного кислорода. *Укр. біохім. журн.* 2009. Т. 81, № 3. С. 21–45.
86. Schweitzer C., Schmidt R. Physical mechanisms of generation and deactivation of singlet oxygen. *Chem. Rev.* 2003. Vol. 103, No 5 P. 1685–1758.
87. Buchachenko A. L. Recent advances in spin chemistry. *Pure Appl. Chem.* 2000. Vol. 72, No. 12. P. 2243–2258.
88. Денисов Е. Т. Роль триплетного отталкивания в реакциях присоединения алкильных радикалов к С–О-связи и алкоксильных радикалов к С–С-связи. *Изв. РАН. Сер. хим.* 1999. № 6. С. 46–52.
89. Buchachenko A. L., Berdinsky V. L. Electron spin catalysis. *Chemical Reviews.* 2002. Vol. 102, No 3. P. 603–612.
90. Минаев Б. Ф. Об электронных механизмах биоактивации молекулярного кислорода. *Укр. біохім. журн.* 2002. Т. 74, № 3. С. 11–24.
91. Минаев Б. Ф. Теория влияния растворителя на радиационную вероятность перехода  $a^1\Delta_g \rightarrow X^3\Sigma_g^-$  в молекуле кислорода. *Оптика и спектроскопия.* 1985. Т. 58. С. 1238–1241.
92. Мулдахметов З. М., Минаев Б. Ф., Кеңде Г. А. Оптические и магнитные свойства триплетного состояния. Алма-Ата: Наука, 1983. 263 с.
93. Clennan E. L. Pace A. Advances in singlet oxygen chemistry. *Tetrahedron.* 2005. Vol. 61, № 28. P. 6665–6691.
94. Neta P., Huie R. E., Ross A. B. Rate constants for reactions of inorganic radicals in aqueous solution. *J. Phys. Chem. Ref. Data.* 1988. Vol. 17, No 3. P. 1027–1285.
95. Buxton G. V., Greenstock C. L., Helman W. P., Ross A. B. Critical review of rate constants for reactions hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals ( $\bullet\text{OH}/\bullet\text{O}^-$ ) in aqueous solution. *J. Phys. Chem. Ref. Data.* 1988. Vol. 17. P. 513–886.
96. Kramarenko G. G., Hummel S. G., Martin S. M., Buettner G. R. Ascorbate reacts with singlet oxygen to produce hydrogen peroxide. *Photochem. Photobiol.* 2006. Vol. 82. P. 1634–1637.
97. Bisby R. H., Morgan C. G., Hamblett I., Gormahn A. A. Quenching of singlet oxygen by trolox C, ascorbate and amino acids: effect pH and temperature. *J. Chem. Phys. A.* 1999. Vol. 103. P. 7454–7459.

98. Girotti A. W. Mechanism of lipid peroxidation. *J. Free Radical Biol. Med.* 1985. Vol. 1. P. 87–95.
99. Buettner G. R., Hall R. D. Superoxide, hydrogen peroxide and singlet oxygen in hematoporphyrin derivative, -cysteine, -NADH and light systems. *Biochim. Biophys. Acta.* 1987. Vol. 823. P. 501–507.
100. Minaev B. F. Spin effects in reductive activation of O<sub>2</sub> by oxidase enzymes. *RIKEN Rev.* 2002. Vol. 44. P. 147–149.
101. Lane N. Oxygen: The molecule that made the world. Oxford: University Press, 2002. 135 p.
102. Klinman J. P. Life as aerobes: are there simple rules for activation of dioxygen by enzymes? *J. Biol. Inorg. Chem.* 2001. Vol. 6, No 1. P. 1–13.
103. Prabhakar R., Siegbahn P. E. M., Minaev B. F. A theoretical study the dioxygen activation by glucose oxidase and copper amine oxidase. *Biochim. Et Biophysica Acta.* 2003. V. 1647, № 1/2. P. 173 –178.
104. Минаев Б. Ф. Ферментативный спин-катализ. Активация O<sub>2</sub> флавопротеидами и металл-оксигеназами. *Вісник Черкаського інженерно-технологічного інституту.* 2001. № 3. С. 12–16.
105. Минаев Б. Ф. Квантово-химическое исследование механизмов фотосенсибилизации, люминесценции и тушения синглетного кислорода в растворах. *Ж. прикл. спектроск.* 1985. Т. 42, № 6. С. 766–771.
106. Минаев Б. Ф. Спин-орбитальное взаимодействие состояний с переносом заряда и механизм тушения синглетного кислорода аминами. *Теор. эксперим. хим.* 1984. Т. 20, № 2. С. 209–212.
107. Minaev B. F. Spin effects in activation of hydrocarbons. The role of triplet states in catalysis. *J. Mol. Catal. A. Chem.* 2001. Vol. 171, No 1–2. P. 27–56.
108. Минаев Б. Ф., Ящук Л. В. Спин-орбитальное взаимодействие в молекуле кислорода вблизи предела диссоциации. *Оптика и спектроскопия.* 2003. Т. 95. С. 553–559.
109. Sawyer D. T. Oxygen Chemistry. New York: Oxford Univ. Press, 1992. 236 p.
110. Брусков В. И., Масалимов Ж. К., Черников А. В. Образование активных форм кислорода в воде под действием тепла. *ДАН.* 2002. Т. 384, № 6. С. 821–824.
111. Брусков В. И., Масалимов Ж. К., Черников А. В. Образование активных форм кислорода под действием тепла при восстановлении растворенного кислорода воздуха. *ДАН.* 2001. Т. 381, № 2. С. 262–264.
112. Bruskov V. I., Malakhova L. V., Masalimov Zh. K., Chernikov A. V. Heat-induced formation of reactive oxygen species and 8-oxoguanine, a biomarker of the damage to DNA. *Nucleic. Acids. Res.* 2002. Vol. 30. P. 1354–1363.
113. Классен В. И. Омагничивание водных систем. М.: Химия, 1982. 296 с.
114. Бродский А. М., Царевский А. В. Развитие физической химии сольватированного электрона. *Успехи химии.* 1987. Т. 66, № 10. С. 1693–1716.
115. Клосс А. И. Электрон-радикальная диссоциация и механизм активации воды. *ДАН СССР.* 1988. Т. 303, № 6. С. 1403–1407.
116. Энергия химических связей. Потенциал ионизации и сродство к электрону / [Л. В. Гуревич и др.]. М.: Наука, 1974. 351 с.

117. Пикаев А. К., Ершов Б. Г. Первичные продукты радиолиза воды и их реакционная способность. *Успехи химии*. 1967. Т. 36, № 8. С. 1427–1459.
118. Янковский О. Ю. Механизмы защиты от токсического действия кислорода и способы использования реактивных форм кислорода в живых системах. *Ж. общ. биол.* 1983. Т. 44, № 1. С. 62–70.
119. Янковский Ю. В. Токсичность кислорода и биологические системы (эволюционные, экологические и медико-биологические аспекты). Спб: ИГРА, 2000. 294 с.
120. Савицкий А. В., Нелюбин В. И. Активация молекулярного кислорода при взаимодействии с комплексами переходных металлов. *Успехи химии*. 1975. Т. 44, № 2. С. 214–235.
121. Сычев А. Я., Исак В. Г. Гомогенный катализ соединениями железа. Кишинев: Штиинца, 1988. 216 с.
122. Костюк В. А., Потапович А. И. Биорадикалы и биоантиоксиданты. Минск: БГУ, 2004. 179 с.
123. Афанасьев И. Б. Анион-радикал кислорода – в химических и биохимических процессах. *Успехи химии*. 1979. Т. 48, № 6. С. 977–1014.
124. Свободные радикалы в живых системах / Ю. А. Владимиров и др. М: ВИНТИ, Серия Биофизика, 1991. Т. 29. 249 с.
125. Roberts J. L., Calderwood T. S., Sawyer D. T. Oxygenation by superoxide ion of tetrachloromethane, trichlorofluoromethane, trichloromethane, p,p'-DDT and related trichloromethyl substrates (RCCl<sub>3</sub>) in aprotic solvents. *J. Amer. Chem. Soc.* 1983. Vol. 105, No 26. P. 7691–7696.
126. Divišek J., Kastening B. Electrochemical generation and reactivity of the superoxide ion in aqueous solutions. *J. Electroanal. Chem.* 1975. Vol. 65, No 2. P. 603–621.
127. Ilan Y., Rabani J. On some fundamental reactions in radiation chemistry: Nanosecond pulse radiolysis. *Int. J. Rad. Phys. Chem.* 1976. Vol. 8, No 5. P. 609–611.
128. Baxendale J. H., Ward M. D., Wardman P. Heats of ionization of HO<sub>2</sub> and OH in aqueous solution. *Trans. Faraday Soc.* 1971. Vol. 67. P. 2532–2537.
129. Green M. S., Hill H. A. O. Chemistry of dioxygen. *Methods of Enzymology*. 1984. Vol. 105. P. 3–22.
130. Bielski B. H. J., Allen A. O. Mechanism of the disproportionation of superoxide radicals. *J. Phys. Chem.* 1977. Vol. 81, No 11. P. 1048–1050.
131. Sutton H. C., Sangster D. F. Reactivity of semiquinone radicals and its relation to the biochemical role of superoxide. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1*. 1982. Vol. 78. P. 695–711.
132. Oae S., Takata T., Kim Y. H. Reaction of organic sulfur compounds with superoxide anion-III. Oxidation of organic sulfur compounds to sulfinic and sulfonic acids. *Tetrahedron*. 1981. Vol. 37. P. 37–44.
133. Lee-Ruff E., Timms N. Superoxide mediated autoxidation of hydrocarbons. *Can. J. Chem.* 1980. Vol. 58. P. 2138–2141.
134. Oxidation of thymine derivatives with superoxide ion / T. Harayama et al. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1988. P. 1171–1178.

135. Nanni E. J., Stallings M. D., Sawyer D. T. Does superoxide ion oxidize catechol, alpha-tocopherol, and ascorbic acid by direct electron transfer? *J. Amer. Chem. Soc.* 1980. Vol. 102, No 13. P. 4481–4485.
136. Base liberation from nucleotide by superoxide intramolecular enhancement effect phosphate group / H. Y. Yamane et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1987. Vol. 142. P. 1104–1110.
137. Chern C. I., SanFilippo J. The reaction of superoxide with hydrazines, hydrazones, and related compounds. *J. Org. Chem.* 1977. Vol. 42, No 1. P. 178–180.
138. Scully F. E., Davis R. C. Superoxide in organic synthesis: a new mild method for the oxidation of amines to carbonyls via N-chloramines. *J. Org. Chem.* 1978. Vol. 43, No 7. P. 1467–1468.
139. Picot A., Milliet P., Cherest M., Lusiuchi X. Action de l'anion superoxyde sur les fluosulfonates de n-methyl benzo-pyridinium et les n-oxydes de benzo-pyridine. *Tetrahedron Letters*. 1977. Vol. 18, No 43. P. 3811–3812.
140. Sagae H., Fujihira M., Osa T., Lund H. Oxidation of nitroalkylbenzene with electro-generated superoxide ion. *Chem. Letters*. 1977. Vol. 6, № 7. P. 793–796.
141. Moro-oka Y., Foote C. S. Chemistry of superoxide ion. I. Oxidation of 3,5-di-tert-butylcatechol with potassium superoxide. *J. Amer. Chem. Soc.* 1976. Vol. 98, No 6. P. 1510–1514.
142. Афанасьев И. Б., Полозова Н. И. Одноэлектронное окисление п- и диоксибензолов анион-радикалами кислорода в апротонной среде. *Ж. орг. химии*. 1978. Т. 14, № 5. С. 1013–1018.
143. Halliwell B., Gutteridge J. M. C. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Arch. Biochem. Biophys.* 1986. Vol. 246. P. 501–514.
144. Rabani J., Mulac W. A., Matheson M. S. The pulse radiolysis of aqueous tetranitromethane. I. Rate constants and the extinction coefficient of eaq-. II. Oxygenated solutions. *J. Phys. Chem.* 1965. Vol. 69, No 1. P. 53–70.
145. Merenyi G., Lind S. Role of a peroxide intermediate in the chemiluminescence of luminol. A mechanistic study. *J. Amer. Chem. Soc.* 1980. Vol. 102, No 18. P. 5830–5835.
146. Adams G. E., Willson R. L. Pulse radiolysis studies on the oxidation of organic radicals in aqueous solution. *Trans. Faraday Soc.* 1969. Vol. 65. P. 2981–2987.
147. Rao P. S., Hayon E. Experimental determination of the redox potential of the superoxide radical  $\bullet\text{O}_2^-$ . *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1973. Vol. 51, No 2. P. 468–473.
148. Patel K. B., Willson R. L. Semiquinone free radicals and oxygen. Pulse radiolysis study of one electron transfer equilibria. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1*. 1973. Vol. 69. P. 814–825.
149. Rabani J., Klug-Roth D., Lilie J. Pulse radiolytic investigations of the catalyzed disproportionation of peroxy radicals. Aqueous cupric ions. *J. Phys. Chem.* 1973. Vol. 77, No 9. P. 1169–1175.

150. Rush J. D., Bielski B. H. J. Pulse radiolytic studies of the reaction of perhydroxyl/superoxide  $O_2^-$  with iron(II)/iron(III) ions. The reactivity of  $HO_2/O_2^-$  with ferric ions and its implication on the occurrence of the Haber-Weiss reaction. *J. Phys. Chem.* 1985. Vol. 89, No 23. P. 5062–5066.
151. Bielski B. H. J., Cabelli R. L., Arudi R. L., Ross A. B. Reactivity of  $HO_2/O_2^-$  radicals in aqueous solution. *J. Phys. Chem. Ref. Data.* 1985. Vol. 14. P. 1041–1101.
152. Freeman M. L., Spitz D. R., Meredith M. J. Does heat shock enhance oxidative stress? Studies with ferrous and ferric ion. *Radiate Res.* 1990. Vol. 124. P. 288–293.
153. Desferrioxamine (desferal) and superoxide free radicals / M. J. Davies et al. *Biochem. J.* 1987. Vol. 246. P. 725–729.
154. Scarpa M., Stevanato R., Viglino P., Rigo A. Superoxide ion as active intermediate in the autoxidation of ascorbate by molecular oxygen. *Biol. Chem.* 1983. Vol. 258. P. 6695–6697.
155. Cabelli D. E., Bielski B. H. J. Kinetics and mechanisms for the oxidation ascorbic acid/ascorbate by  $-$  radicals. A pulse radiolysis and stopped-flow photolysis study. *J. Phys. Chem.* 1983. Vol. 87. P. 1809–1814.
156. Halliwell B., Gutteridge J. M. C. The importance of free radicals and catalytic metal ions in human disease. *Molec. Aspects Med.* 1985. Vol. 8. P. 89–193.
157. Rao P. S., Hayon E. Redox potentials of free radicals. IV. Superoxide and hydroperoxy radicals  $\bullet O_2^-$  and  $HO_2$ . *J. Phys. Chem.* 1975. Vol. 79, No 4. P. 397–402.
158. Regino C. A. S., Richardson D. E. Bicarbonate-catalyzed hydrogen peroxide oxidation of cysteine and related thiols. *Inorganica Chimica Acta.* 2007. Vol. 360, No 14. P. 3971–3977.
159. Денисов Е. Т., Харитонов В. В. Образование свободных радикалов из  $H_2O_2$  в циклогексанол. *Кинетика и катализ.* 1964. Т. 4, № 5. С. 781–786.
160. Кисленко В. Н., Берлин А. А. Кинетика и механизм окисления органических веществ пероксидом водорода. *Успехи химии.* 1991. Т. 60, № 5. С. 949–981.
161. Шапилов О. Д., Костюковский Я. Л. Кинетика взаимодействия перекиси водорода с муравьиной кислотой в водных растворах. *Кинетика и катализ.* 1974. Т. 15, № 4. С. 1065–1067.
162. Денисов Е. Т., Мицкевич Н. И., Агабеков В. Е. Механизмы жидко-фазного окисления кислородсодержащих органических соединений. Минск: Наука и техника, 1975. 334 с.
163. McLane C. K. Hydrogen peroxide in the thermal hydrogen oxygen reaction I. Thermal decomposition of hydrogen peroxide. *J. Chem. Phys.* 1949. Vol. 17, № 4. P. 379–386.
164. Броунштейн Б. И., Денисов Е. Т., Слуцкер Б. М., Штейнберг А. С. Исследование кинетики термического разложения перекиси водорода в жидкой фазе. *Кинетика и катализ.* 1971. Т. 12, № 5. С. 1121–1125.
165. Шибаева Л. В., Метелица Д. И., Денисов Е. Т. Окисление фенола молекулярным кислородом в водных растворах. II. Роль перекиси

- водорода в реакции окисления фенола кислородом. *Кинетика и катализ*. 1969. Т. 10, № 6. С. 1239–1243.
166. Шамб У., Сеттерфилд Ч., Вентворс Р. Перекись водорода. М.: Из-во иностр. лит., 1958. 578 с.
  167. Сычев А. Я., Исак В. Г. Соединения железа и механизмы гомогенного катализа активации  $O_2$ ,  $H_2O_2$  и окисления органических субстратов. *Успехи химии*. 1995. Т. 64, № 12. С. 1183–1209.
  168. Rate constant of sparingly water-soluble phenolic antioxidants with hydroxyl radicals / W. Bors et al. *Oxygen radicals in chemistry and biology* / ed. W. Bors, M. Saran, D. Tait. Berlin, 1984. P. 95–99.
  169. Greenhill P. G., O-Grady B. V. The rate constant of the reaction of hydroxyl radicals with methanol, ethanol and (D3) methanol. *Aust. J. Chem.* 1986. Vol. 39. P. 1775–1787.
  170. Скурлатов Ю. И., Дука Г. Г., Штамм Е. В. Введение в экологическую химию водной среды. *Ecological Chemistry: The Third Int. Conf.* (May 20–21, 2005): Abstracts. Chisinau, Republic of Moldova, 2005. С. 78–84.
  171. Штамм Е. В., Пурмаль А. П., Скурлатов Ю. И. Роль пероксида водорода в природной водной среде. *Успехи химии*. 1991, Т. 60, № 11. С. 2373–2411.
  172. Николаевский А. Н., Филиппенко Т. А., Кучер Р. В. Окисление незамещенных двухатомных фенолов молекулярным кислородом в бензоле. *Журнал органической химии*. 1980. Т. 16, № 2. С. 331–336.
  173. Мамедов Б. А., Рагимов А. В., Гусейнов С. А., Лиогонький Б. И. Исследование закономерностей окисления олигогидрохинона в щелочной среде. *Кинетика и катализ*. 1983. Т. 24, № 1. С. 7–10.
  174. Steenken S., Neta P. Transient phenoxyl radicals: formation and properties in aqueous solutions. *The chemistry of phenols* / Ed. Z. Rappoport. John Wiley and Sons, 2003. P. 1107–1152.
  175. Иванова Б. И., Макалец Л. Г. Некоторые причины различной реакционной способности одно- и двухатомных фенолов в широком интервале pH. *Ж. прикл. химии*. 1975. Т. 48, № 12. С. 2722–2727.
  176. Song Y., Buettner G. R. Thermodynamics and kinetic considerations for reaction of semiquinone radicals to form superoxide and hydrogen peroxide. *Free Rad. Biol. Med.* 2010. Vol. 49. P. 919–962.
  177. Brunmark A., Cadenas E. Redox and addition chemistry of quinoid compounds and its biological implications. *Free Rad. Biol. Med.* 1989. Vol. 7. P. 435–477.
  178. Шендрик А. Н., Каниболоцкая Л. В., Одарюк И. Д., Безнос В. В. Окисление фенольных антиоксидантов кислородом в водных средах. *Укр. хим. журн.* 2009. Т. 75, № 12. С. 90–96.
  179. Кинетика поглощения кислорода и хемилюминесценции при окислении липидов в присутствии ионов  $Fe^{2+}$  / И. А. Опейда и др. *Кинетика и катализ*. 1994. Т. 35, № 1. С. 38–44.
  180. O'Brien P. J. Molecular mechanism of quinone cytotoxicity. *Chem. Biol. Interact.* 1991. Vol. 80. P. 1–41.

181. Sławińska D., Lichtszeld K., Michalska T. Singlet oxygen and chemiluminescence in autooxidation of pyrogallol. *Polish. J. Chem.* 1978. Vol. 52. P. 1729–1740.
182. Бабко А. К., Дубовенко Л. И., Луковская Н. М. Хемилюминесцентный анализ. Киев: Октябрь, 1966. 250 с.
183. Slawinska D., Slawinski J. Biological chemiluminescence. *Photochem. Photobiol.* 1983. Vol. 37. P. 709–715.
184. Cadenas E. Biological chemiluminescence. *Photochem. Photobiol.* 1984. Vol. 40. P. 823–830.
185. Мелузова Г. Б., Белова Л. А., Воронков В. Г. Хемилюминесценция реакции окисления пирогаллола растворенным в воде кислородом. *ЖФХ.* 1970. Т. 44. С. 1328–1330.
186. Шендрик А. Н., Качурин И. О., Опейда И. А. Новый эмиттер хемилюминесценции в ингибированной гидрохиноном реакции окисления кумола. *ТЭХ.* 1994. Т. 30, № 2. С. 103–107.
187. Marklund S., Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* 1974. Vol. 4, No 3. P. 469–474.
188. Brunmark A., Cadenas E. Electronically excited state generation during the reaction of p-benzoquinone with hydrogen peroxide. Relation to product formation: 2-OH- and 2,3-epoxy-p-benzoquinone. The effect of glutathione. *Free Radical. Biol. Med.* 1987. Vol. 3. P. 169–180.
189. Нассар М., Николаевский А. Н., Шендрик А. Н., Опейда И. А. К механизму реакции между арилокси- и пероксирадикалами. *Доповіді національної академії наук України.* 2002. № 5. С. 166–171.
190. Roginsky V., Barsukova T. Kinetics oxidation of hydroquinones by molecular oxygen. Effect of superoxide dismutase. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2.* 2000. P. 1575–1582.
191. Roginsky V. A., Pisarenko L. M., Bors W., Michel Ch. The kinetics and thermodynamics of quinone-semiquinone-hydroquinone systems under physiological conditions. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2.* 1999. P. 871–876.
192. Bruce J. M. Photochemistry quinines. *The chemistry of quinonoid compounds* / Ed. S. Patai. – London: Wiley & Sons, 1974. P. 465–538.
193. Lin J.-M., Yamada M. Oxidation reaction between periodate and polyhydroxyl compounds and its application to chemiluminescence *Anal. Chem.* 1999. Vol. 71, No 9. P. 1760–1766.
194. Bollyky L. J. The Photo decomposition of chlorine dioxide solutions. *J. Amer. Chem. Soc.* 1970. Vol. 92. P. 3230–3232.
195. Duran N., Cadenas E. The role of singlet oxygen and triplet carbonyls in biological systems. *Rev. Chem. Interm.* 1987. Vol. 8. P. 147–187.
196. Land E. J., Ebert M. Pulse radiolysis studies of aqueous phenol. Water elimination from dihydroxycyclohexadienyl radicals to form phenoxyl. *Trans. Faraday Soc.* 1967. Vol. 63. P. 1181–1190.



197. Encinas M. V., Lissi E. A., Olea A. F. Quenching of triplet benzoquinone by vitamins E and C and by sulfur-containing aminoacids and peptides. *Photochem. Photobiol.* 1985. Vol. 42. P. 347–352.
198. Eyer P. Effect of superoxide dismutase on the autoxidation of 1,4-hydroquinone. *Chem. Biol. Interact.* 1991. Vol. 80, No 2. P. 159–176.
199. Zhang L., Bandy B., Davison A. I. Effects of metals, ligands and antioxidants on the reaction of oxygen with 1,2,4-benzenetriol. *Free Rad. Biol. Med.* 1996. Vol. 20, No 4. P. 495–505.
200. Klegeris A., Korkina L. G., Greenfield S. A. Autoxidation dopamine: a comparison of luminescent and spectrophotometric detection in basic solution. *Free Rad. Biol. Med.* 1995. Vol. 18, No 2. P. 215–222.
201. Wood P. M. The redox potential of the system oxygen-superoxide. *FEBS Letters.* 1974. Vol. 44, No 1. P. 22–24.
202. Ilan Y. A., Czapski G., Meisel D. The one-electron transfer redox potentials of free radicals. I. The oxygen/superoxide system. *Biochim. Biophys. Acta.* 1976. Vol. 430, No 2. P. 209–224.
203. Tsang W. Heats of formation of organic free radicals by kinetic methods in energetics of organic free radicals. *Energetics of organic free radicals* / eds. J. A. Simoes, A. Greenberg, J. F. Liebman. Glasgow: Blackie Academic and Professional, 1996. P. 22–58.
204. Li Y., Kuppusamy P., Zweier J. L., Trush M. A. ESR evidence for the generation of reactive oxygen species from the copper-mediated oxidation of benzene metabolite, hydroquinone: role in DNA damage. *Chem. Biol. Interact.* 1995. Vol. 94. P. 101–120.
205. Mandal S., Kazmi N. H., Sayre L. M. Ligand dependence in copper-catalyzed oxidation of hydroquinones. *Arch. Biochem. Biophys.* 2005. Vol. 435. P. 21–31.
206. Segura-Aguilar L., Lind C. On the mechanism of the Mn(3+)-induced neurotoxicity of dopamine: prevention of quinone-derived oxygen toxicity by DT diaphorase and superoxide dismutase. *Chem. Biol. Interact.* 1989. Vol. 72. P. 309–324.
207. Balla J., Kiss T., Jameson R. F. Copper(II)-catalyzed oxidation of catechol by molecular oxygen in aqueous solution. *Inorg. Chem.* 1992. Vol. 31. P. 58–62.
208. Макалец Б. И., Иванова Л. Г., Курзанова В. В. Каталитическое окисление фенола кислородом воздуха в водных растворах. *Нефтехимия.* 1971. Т. 11, № 5. С. 723–728.
209. Buettner G. R., Jurkiewicz B. A. Ascorbate free radicals as a marker of oxidative stress: an EPR study. *Free Radical Biol. Med.* 1993. Vol. 14. P. 49–55.
210. Munday R. Autoxidation of naphthohydroquinones: effects of metals, chelating agents, and superoxide dismutase. *Free Radical Biol. Med.* 1997. Vol. 22. P. 689–695.
211. Ishi T., Fridovich I. Dual effects of superoxide dismutase on the autoxidation of 1,4-naphthohydroquinone. *Free Rad. Biol. Med.* 1990. Vol. 8, No 1. P. 21–24.
212. Schafer F. Q., Buettner G. R. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radicals Biol. Med.* 2001 Vol 30, No 11. P. 1191–1212.

213. Alegria A. E., Lopez M., Guevara N. Thermodynamics of semiquinone disproportionation in aqueous buffer. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* 1996. Vol. 92, No 24. P. 4965–4968.
214. Scurlock R., Rougee M., Bensasson R. V. Redox properties of phenols, their relationships to singlet oxygen quenching and to their inhibitory effects on benzo(a)pyrene-induced neoplasia. *Free Radicals Res. Commun.* 1990. Vol. 8, No 4/6. P. 251–258.
215. Steenken S., Neta P. One-electron redox potentials of phenols. Hydroxy- and aminophenols and related compounds of biological interest. *J. Phys. Chem.* 1982. Vol. 86, No 18. P. 3661–3667.
216. Danilewicz J. C. Review of reaction mechanisms of oxygen and proposed intermediate reductions products in wine: central role of iron and copper. *Amer. J. Enol. Vitic.* 2003. Vol. 54. P. 73–85.
217. DeVries S., Berden J. A., Slater E. S. Properties of a semiquinone anion located in the QH<sub>2</sub>: Cytochrome c oxidoreductase segment of the mitochondrial respiratory chain. *FEBS Lett.* 1980. Vol. 122, No 1. 143–148.
218. Pruetz W. A., Land E. J., Sloper R. W. Charge transfer in peptides. Effects of temperature, peptide length and solvent conditions upon intramolecular one-electron reactions involving tryptophan and tyrosine. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1.* 1981. Vol. 77, No 2. P. 281–292.
219. Greenstock C. L., Miller R. W. The oxidation of tiron by superoxide anion. Kinetics of the reaction in aqueous solution and in chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta: Bioenergetics.* 1975. Vol. 396, No 1. P. 11–16.
220. Bors W., Saran M., Michel C. Pulse-radiolytic investigations of catechols and catecholamines ii. Reactions of tiron with oxygen radical species. *Biochim. Biophys. Acta: General subject.* 1979. Vol. 582, No 3. P. 537–542.
221. Miller R. W., MacDowall F. D. H. The Tiron free radical as a sensitive indicator of chloroplastic photoautoxidation. *Biochim. Biophys. Acta: Bioenergetics.* 1975. Vol. 387, No 1. P. 176–187.
222. Nanni E. J., Stallings M. D., Sawyer D. T. Does superoxide ion oxidize catechol, alpha.-tocopherol, and ascorbic acid by direct electron transfer? *J. Amer. Chem. Soc.* 1980. Vol. 102, No 13. P. 4481–4485.
223. Picot A., Milliet P., Cherest M., Lusiuchi X. Action de l'anion superoxyde sur les fluosulfonates de n-methyl benzo- pyridinium et les n-oxydes de benzo-pyridine. *Tetrahedron Letters.* 1977. Vol. 18, No 43 P. 3811–3812.
224. Buettner G. R., Jurkiewicz B. A. Ascorbate free radicals as a marker of oxidative stress: an EPR study. *Free Radical Biol. Med.* 1993. Vol. 14. P. 49–55.
- 225 Potentiometric and magnetometric study of the duroquinone system / L. Michaelis et al. *J. Amer. Chem. Soc.* 1938. Vol. 60, No 7. P. 1678–1683.
226. Kitagawa H., Fujisawa H., Sakurai H. Scavenging effects of dihydric and polyhydric phenols on superoxide anion radicals, studied by electron spin resonance spectrometry. *Chem. Pharm. Bull.* 1992. Vol. 40, No 2. P. 304–307.
227. Raghavan N. V., Steenken S. Electrophilic reaction of the hydroxyl radical with phenol. Determination of the distribution of isomeric

- dihydroxycyclohexadienyl radicals. *J. Amer. Chem. Soc.* 1980. Vol. 102, No 10. P. 3495–3499.
228. Steenken S., O'Neill P. Oxidative demethoxylation of methoxylated phenols and hydroxybenzoic acids by the hydroxyl radical. An *in situ* electron spin resonance, conductometric pulse radiolysis and product analysis study. *J. Phys. Chem.* 1977. Vol. 81, No 6. P. 505–508.
  229. Neta P., Fessenden R. W. Hydroxyl radical reactions with phenols and anilines as studied by electron spin resonance. *J. Phys. Chem.* 1974. Vol. 78, No 5. P. 523–529.
  230. Richter H. W. Pulse radiolysis of 4-tert-butyl-1,2-dihydroxybenzene and 4-tert-butyl-1,2-quinone. *J. Phys. Chem.* 1979. Vol. 83, No 9. P. 1123–1129.
  231. O'Neill P., Steenken S., D. Linde H. V., Schulte-Frohlinde D. Reaction of OH-radicals with nitrophenols in aqueous solution. *Radiat. Phys. Chem.* 1978. Vol. 12, No 1/2. P. 13–17.
  232. Mvula E., Schuchmann M. N., Von Sonntag C. Reactions of phenol-OH-adduct radicals. Phenoxyl radical formation by water elimination vs. oxidation by dioxygen. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2.* 2001. P. 264–268.
  233. Litwinienko G., Ingold K. U. Abnormal solvent effects on hydrogen atom abstractions. 1. The reactions of phenols with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) in alcohols. *J. Org. Chem.* 2003. Vol. 68, No 9. P. 3433–3438.
  234. Anbar M., Meyerstein D., Neta P. Reactivity of aliphatic compounds towards hydroxyl radicals. *J. Chem. Soc. B.* 1966. No 8. P. 742–747.
  235. Free radical combination reactions involving phenoxyl radicals / M. Jonson et al. *J. Phys. Chem.* 1993. Vol. 97. P. 8229–8233.
  236. Reaction of superoxide with phenoxyl-type radicals / N. D'Alessandro et al. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2.* 2000. No 9. P. 1862–1867.
  237. Cadenas E., Merenyi G., Lind J. Pulse radiolysis study on the reactivity of Trolox C phenoxyl radical with superoxide anion. *FEBS Lett.* 1989. Vol. 253, No 1/2. P. 235–238.
  238. Howard J. A. Phenoxyl and related radicals. *Landolt-Boernstein. Numerical data and functional relationship in science and technology. New series, Group II; Molecules and radicals* / Ed. H. Fisher. Berlin: Springer-Verlag, 1997. Vol. 18, subvol. D1, Chap. 8. P. 231–272.
  239. Schuler R. H., Neta P., Zemel H., Fessenden W. Conversion of hydroxyphenyl to phenoxyl radicals: a radiolytic study of the reduction of bromophenols in aqueous solution. *J. Amer. Chem. Soc.* 1976. Vol. 98, No 13. P. 3825–3831.
  240. Holton D. M., Murphy D. Determination of acid dissociation constants of some phenol radical cations. Part 2. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2.* 1979. Vol. 75. P. 1637–1642.
  241. Wang D., Gyoergy I., Hildenbrand K., von Sonntag C. Free radical induced oxidation of phloroglucinol. A pulse radiolysis and EPR study. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2.* 1994. No 1. P. 45–55.

242. Adams G. E., Michael B. D. Pulse radiolysis of benzoquinone and hydroquinone. Semiquinone formation by water elimination from trihydroxycyclohexadienyl radical. *Trans. Faraday Soc.* 1967. Vol. 63. P. 1171–1180.
243. Qin L., Tripathi G. N. R., Schuler R. H. Radiolytic oxidation of 1,2,4-benzenetriol. An application of time-resolved resonance Raman spectroscopy to kinetic studies of reaction intermediates. *J. Phys. Chem.* 1987. Vol. 91, No 7. P. 1905–1910.
244. Sun Q., Schuler R. H. A pulse radiolytic study of the acid dissociation of hydroxyl protons in radicals related to salicylic acid. *J. Phys. Chem.* 1987. Vol. 91, No 17. P. 4591–4595.
245. Tripathi G. N. R., Schuler R. H. Comment on the reported observation of the “raman spectrum of the phenoxy radical” in stopped flow experiments. *Chem. Phys. Lett.* 1982. Vol. 88, No 2. P. 253–255.
246. Alfassi Z. B., Shoute L. C. T. Temperature dependence of the self-decay rate constants of some phenoxyl radicals in aqueous solution. *Int. J. Chem. Kinet.* 1993. Vol. 25, No 2. P. 79–90.
247. Ye M., Schuler R. H. J. Second-order combination reactions of phenoxyl radicals. *J. Phys. Chem.* 1989. Vol. 93, No 5. P. 1898–1902.
248. Wardman P. Bioreductive activation of quinones: redox properties and thiol reactivity. *Free Radical Res.* 1990. Vol. 8. P. 219–229.
249. Comparative pulse radiolysis studies of alkyl- and methoxy-substituted semiquinones formed from quinones and hydroquinones / V. A. Roginsky et al. *J. Chem. Soc. Faraday. Trans.* 1998. Vol. 94. P. 1835–1840.
250. Butler J., Hoey B. M., Lea J. S. The reduction of anti-tumour diaziridinyl benzoquinones. *Biochim. Biophys. Acta: General subject.* 1987. Vol. 925, No 2. P. 144–149.
251. Chlorination increases the persistence of semiquinone free radicals derived from polychlorinated biphenyl hydroquinones and quinines / Y. Song et al. *J. Org. Chem.* 2008. Vol. 73. P. 8296–8304.
252. Nonenzymatic displacement of chlorine and formation of free radicals upon the reaction of glutathione with PCB quinones / Y. Song et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009. Vol. 106. P. 9725–9730.
253. Reaction between ortho-semiquinones and oxygen: Pulse radiolysis, electron spin resonance, and oxygen uptake studies / B. Kalyanaraman et al. *Arch. Biochem. Biophys.* 1988. Vol. 266, No 1/2. P. 277–284.
254. Денисов Е. Т., Мицкевич Н. И., Агабеков В. Е. Механизм жидрофазного окисления кислородсодержащих соединений. Минск, 1975. 240 с.
255. Подчайнова В. Н., Симонова Л. Н. Медь. М.: Наука, 1990. 279 с.
256. Лидин Р. А., Молочко В. А., Андреева Л. Л. Химические свойства неорганических веществ. М.: Химия, 1996. 480 с.
257. Knoeck J., Taylor K. Aqueous boric acid-borate-mannitol equilibria. *Anal. Chem.* 1969. Vol. 41, No 13. P. 1730–1734.
258. Pizer R., Selzer R. The boric acid/lactic acid system. Equilibria and reaction mechanism. *Amer. Chem. Soc. Inorg. Chem.* 1984. Vol. 23, No. 19. P. 3023–3026.

259. Mochizuki M., Yamazaki S., Kano K., Ikeda T. Kinetics analysis and mechanism aspects of autooxidation of catechins. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2002. Vol. 1569. P. 35–44.
260. Slawinski M., Slawinski J. Chemiluminescence of cereal products. II. Chemiluminescence spectra. *J. Biolumin. Chemlumin.* 1998. Vol. 13, No 1. P. 13–19.
261. Liu M., Zhao L., Lin J.-M. Chemiluminescence energy transfer reaction for the on-line preparation of peroxy-monocarbonate and Eu(II)-dipicolinate Complex. *J. Phys. Chem. A*. 2006. Vol. 110. P. 7509–7514.
262. Richardson D. E., Yao H. R., Frank K. M., Bennett D. A. Equilibria, kinetics, and mechanism in the bicarbonate activation of hydrogen peroxide: oxidation of sulfides by peroxy-monocarbonate. *J. Amer. Chem. Soc.* 2000. Vol. 122, No 8. P. 1729–1739.
263. Nohl H., Jordan W., Youngman R. Quinones in biology: function in electron transfer and oxygen activation. *Adv. Free Radical Biol. Med.* 1986. Vol. 2. P. 211–279.
264. Bentley R., Campbell I. M. Biological reactions of quinines. *The chemistry of quinonoid compounds* / Ed. S. Patai. London : John Wiley and Sons, 1974. P. 683–736.
265. Pryor W. A., Hales B. J., Premovic P. I., Church D. F. The radical in cigarette tar: their nature and suggested physiological implications. *Science*. 1982. Vol. 220. P. 425–427.
266. Power G. Metabolism and reactions of quinoid anticancer agents. *Pharmac. Ther.* 1987. Vol. 35. P. 57–162.
267. Krueger F. R., Werther W., Kissel J., Schmidt E. R. Assignment of quinone derivatives as the main compound class composing “interstellar” grains based on both polarity ions detected by the “Cometary and Interstellar Dust Analyzer” (CIDA) onboard the spacecraft STARDUST. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2004. Vol. 18. P. 103–111.
268. Monks T. J., Lau S. S. Toxicology of quinone-thioethers. *Crit. Rev. Toxicol.* 1992. Vol. 22. P. 243–270.
269. Butler J., Hoey B. M. Reactions of glutathione radicals with benzoquinones. *Free Radic. Biol. Med.* 1992. Vol. 12. P. 337–345.
270. Rossi G., Moore G. A., O'Brien P. J. Quinone toxicity in hepatocytes without oxidative stress. *Arch. Biochem. Biophys.* 1986. Vol. 251. P. 25–35.
271. Metabolic activation of PSBs to quinones: reactivity toward nitrogen and sulfur nucleophiles and influence superoxide dismutase / A. R. Amaro et al. *Chem. Res. Toxicol.* 1996. Vol. 9. P. 623–629.
272. Stability of quinones toward water / K. H. Menting et al. *J. Org. Chem.* 1983. Vol. 48. P. 2814–2820.
273. Quinone toxicity in hepatocytes: studies on mitochondrial Ca<sup>2+</sup> release induced by benzoquinone derivatives / G. A. Moore et al. *Arch. Biochem. Biophys.* 1987. Vol. 259. P. 283–295.
274. Curci R., Edwards J. O. Activation of hydrogen peroxide by organic compounds. *Catalytic oxidation with hydrogen peroxide as oxidant (The series*

- Catalysis by metal complexes*) / Ed. G. Strukul. New-York: Springer-Verlag, 1992. Vol. 9, Ch. 2. P. 45–96.
275. Saito I., Otsuki T., Matsura T. The reaction of superoxide anion with vitamin K and its related compounds. *Tetrahedron Lett.* 1979. Vol. 19. P. 1693–1696.
  276. Brunmark A., Cadenas E., Segura-Aguilar J. DT-diaphorase-catalyzed reduction of various p-benzoquinone- and 1,4- naphthoquinone epoxides. *Free Radical. Biol. Med.* 1988. Vol. 5. P. 133–141.
  277. Mason R. P. Free-radical intermediates in the metabolism of toxic chemicals. *Free radical in biology. Vol 5.* / Ed. W. A. Pryor. – London: Academic Press, 1982. P. 161–222.
  278. Ozawa T., Hanaki A. Reactions superoxide ion with redox-active substance of physiological importance: generation of semiquinone radicals from physiologically impotent quinines. *Chem. Pharm. Bull.* 1983. Vol. 31. P. 2535–2539.
  279. Koppenol W. H., Butler J. Energetics of interreactions reactions of oxyradicals. *Adv. Free Radical. Biol. Med.* 1985. Vol. 1. P. 91–131.
  280. Вартамян Л. С. Фенолы как источники радикалов в биохимических системах. *Успехи химии.* 1975. Т. 44, Вып. 10. С. 1851–1870.
  281. Бердников В. М., Журавлева О. С. Термодинамические характеристики радикала  $\text{HO}\cdot 2$  в водном растворе. *Ж. физ. химии.* 1972. Т. 46, № 10. С. 2658–2661.
  282. Kalyanaraman B., Sealy R. C., Sinha B. K. An electron spin resonance study of the reduction of peroxides by anthracycline semiquinones. *Biochem. Biophys.* 1984. Vol. 799. P. 270–275.
  283. Nohl H., Jordan W. The involvement biological quinones in the formation of hydroxyl radicals via the Haber-Weiss reaction. *Bioorg. Chem.* 1987. Vol. 15. P. 374–382.
  284. Девис М., Остин Дж., Патридж Д. Витамин С: химия и биохимия. М.: Мир, 1999. 176 с.
  285. Buettner G. R. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation,  $\alpha$ -tocopherol, and ascorbate. *Arch. Biochem. Biophys.* 1993. Vol. 300. P. 535–543.
  286. Jarabak R. Harvey R. G., Jaraba J. Redox cycling of polycyclic aromatic hydrocarbon o-quinones: reversal of superoxide dismutase inhibition by ascorbate. *Arch. Biochem. Biophys.* 1997. Vol. 339, No 1. P. 92–98.
  287. Erben-Russ M., Michel C., Bors W., Saran M. Absolute rate constants of alkoxyl radical reactions in aqueous solution. *J. Phys. Chem.* 1987. Vol. 91. P. 2362–2365.
  288. Tamba M. O'Neill P. Redox reactions of thiol free radicals with the antioxidants ascorbate and chlorpromazine. Role in radioprotection. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II.* 1991. P. 1681–1685.
  289. Nishikimi M. Oxidation of ascorbic acid with superoxide anion generated by the xanthine-xanthine oxidase system. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1975. Vol. 63, № 2. P. 463–468.

290. Roginsky V., Michel Ch., Bors W. Reactivity of semiquinones with ascorbate and the ascorbate radical as studied by pulse radiolysis. *Arh. Biochem. Biophys.* 2000. Vol. 384, No 1. P. 74–80.
291. Davies M. J., Forni L. G., Willson R. L. Vitamin E analogue Trolox C. E.S.R. and pulse-radiolysis studies of free-radical reactions. *Biochem. J.* 1988. Vol. 255, No 2. P. 513–522.
292. Wardman P. Reduction potentials of one-electron couples involving free radicals in aqueous solution. *J. Phys. Chem. Ref. Data.* 1989. Vol. 18, No 4. P. 1637–1756.
293. Nagaoka T., Sakai T., Ogura K., Yoshino T. Oxygen reduction with hydroxy-1,4-naphthoquinones immobilized at carbon electrodes *J. Chem. Soc. Faraday Trans. I.* 1987. Vol. 83. P. 1823–1833.
294. Swallow A. J. Physical chemistry of quinines. *Function of quinones in energy conserving systems* / Ed. B. L. Trumpower. London: Academic Press, 1982. P. 59–72.
295. Bors W., Michel C., Schikora S. Interaction of flavonoids with ascorbate and determination of their univalent redox potentials: A pulse radiolysis study. *Free Radical. Biol. Med.* 1995. Vol. 19, No 1. P. 45–52.
296. Niki E., Noguchi N., Goton N. Dynamics of lipid peroxidation and its inhibition by antioxidant. *Biochem. Soc. Transaction.* 1992. Vol. 21. P. 313–317.
297. Davis H. F., McManus H. J., Fessenden R. W. An ESR study of free-radical protonation equilibria in strongly acid media. *J. Phys. Chem.* 1986. Vol. 90. P. 6400–6404.
298. Roginsky V. A., Stegmann H. B. Ascorbyl radical as natural indicator of oxidative stress: quantitative regularities. *Free Rad. Biol. Med.* 1994. Vol. 17, No 2. P. 93–103.
299. Bors W., Buettner G. R. The vitamin C radical and its reactions. *Vitamin C in health and disease* / Eds. L. Packer, J. Fuchs. New York: Marcel Dekker, Inc, 1997. Chapter 4. P. 75–94.
300. Buettner G. R., Kiminyo K. P. Optimal EPR detection of weak nitroxide spin adduct and ascorbyl free radical signals. *J. Biochem. Biophys. Methods.* 1992. Vol. 24. P. 147–151.
301. Kalyanaraman B., Felix C. C., Sealy R. C. Peroxidative oxidation of catecholamines. *J. Biol. Chem.* 1984. Vol. 259. P. 7484–7489.
302. Азатян В. В. Влияние химически активных примесей на условия возникновения воспламенения и взрыва. *Журн. Всес. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева.* 1976. Т. 21, № 4. С. 426–433.
303. Radical formation during phenol oxidation in aqueous media / A. N. Shendrik et al. *Int. J. Chem. Kinet.* 2012. Vol. 44, No 6. P. 414–422.
304. Inoue N., Akasaka K., Arimoto H., Ohru H. Effect of ascorbic acid on the chemiluminescence of polyphenols. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2006. Vol. 70. P. 1517–1520.
305. Danilewicz J. C. Review of reaction mechanisms of oxygen and proposed intermediate reductions products in wine: central role of iron and copper. *Amer. J. Enol. Vitic.* 2003. Vol. 54. P. 73–85.

306. Dohrmann J. K., Bergmann B. Equilibria and rates of redox reactions involving the 2-tert-butyl-1,4-benzosemiquinone radical in aqueous solution: an investigation by potentiometry, esr, and pulse radiolysis. *J. Phys. Chem.* 1995. Vol. 99, No 4. P. 1218–1227.
307. Buettner G. R., Jurkiewicz B. A. Catalytic metals, ascorbate and free radicals: combinations to avoid. *Radiation Research.* 1996. Vol. 145. P. 532–541.
308. Buettner G. R. Ascorbate autooxidation in the presence of iron and copper chelates. *Free Rad. Res. Com.* 1986. Vol. 1. P. 349–353.
309. Buettner G. R. In the absence of catalytic metals ascorbate does not autoxidize at pH 7: ascorbate as a test for catalytic metals. *J. Biochem. Biophys. Meth.* 1988. Vol. 16. P. 27-40.
310. Bishop C. A., Tong L. K. J. Equilibria of substituted semiquinones at high pH. *J. Amer. Chem. Soc.* 1965. Vol. 87. P. 501–505.
311. Slabbert N. P. Ionisation of some flavanols and dihydroflavonols. *Tetrahedron.* 1977. Vol. 33, No 7. P. 821–824.
312. Dean J. A. Lange's handbook of chemistry. New York: McGraw-Hill Professional, 1999. 1466 p.
313. Алемасова А. С., Рокун А. Н., Шевчук И. А. Аналитическая атомно-абсорбционная спектроскопия. Севастополь: «Вебер», 2003. 327 с.
314. Пупышев А. А. Атомно-абсорбционный спектральный анализ. М.: «Техносфера», 2009. 283 с.
315. Комарь Н. П. Гомогенные ионные равновесия. Харьков: Вища школа, 1983. 207 с.
316. Васильев В. П. Термодинамические свойства растворов электролитов. М.: Высшая школа, 1982. 320с.
317. ССР:ТЕ 18/CRS1. Current market situation and medium term outlook. Intergovernmental group on tea twenty-third session / Hangzhou, the People's Republic of China, 17-20 May 2018. URL: <http://www.fao.org/3/BU642en/bu642en.pdf> (дата звернення 10.08.2018).
318. Цоциашвили И. И., Бокучава М. А. Химия и технология чая. М: Агропромиздат, 1989. 390 с.
319. ГОСТ 19885-74. Чай. Методы определения содержания таннина и кофеина. [Дата введения 1975-07-01]. Изд.офиц. М. Издательство стандартов, 1974. 5 с.
320. ГОСТ ИСО 14502-1-2010. Чай. Метод определения общего содержания полифенолов (ISO 14502-1:2005, IDT). [Дата введения 2012-01-01]. Изд. офиц. Москва: Стандартинформ, 2010. 18 с.
321. Блажей А., Шутый Л. Фенольные соединения растительного происхождения. М.: Мир, 1977. 240 с.
322. Friedman M., Jurgens H. S. Effect of pH on the Stability of Plant Phenolic Compounds. *J. Agric. Food Chem.* 2000. Vol. 48. P. 2101–2110.
323. Solvent and pH Effects on the Antioxidant Activity of Caffeic and Other Phenolic Acids / R. Amorati et al. *J. Agric. Food Chem.* 2006. Vol. 54. P. 2932–2937.



324. Справочник химика: В 3 т. / гл. ред. Б. П. Никольский. М.: Химия, 1963–1971. Т. 2: Физико-химические свойства веществ. 1963. 1168 с.
325. Tables of rate and equilibrium constants of heterolytic organic reactions / Ed. V. A. Palm. M.: VINITI, 1990. 305 p.
326. Диксон М. Энзимы: в 3 т. М.: Мир, 1982.
327. Каниболоцкая Л. В., Лебедкова О. С., Шендрик А. Н. Хемилюминесценция в реакциях окисления водных экстрактов чая кислородом в водно-щелочной среде. *Химия растительного сырья*. 2006. № 2. С. 43–46.
328. Спосіб хемілюмінесцентного визначення поліфенольних сполук водних екстрактів чаю: пат. 75488 Україна: МПК G01N 21/76. № u201202308; заявл. 27.02.2012; опубл. 10.12.2012, Бюл. № 23. 3 с.
329. Siddiqui N., Arshad M. F., Ahsan W., Alam M. S. Thiazoles: A Valuable insight into the recent advances and biological activities. *Int. J. Pharm. Sci. Drug. Res.* 2009. Vol. 1. P. 136–143.
330. Zeldin R. K., Petruschke R. A. Pharmacological and therapeutic properties of ritonavir-boosted protease inhibitor therapy in HIV-infected patients. *J. Antimicrob. Chemother.* 2004. Vol. 53, No 1. P. 4–9.
331. Hargvare K. D., Hess F. K., Oliver J. T. N-(4-substituted thiazolyl)oxamic acid derivatives? New series of potent orally active agents. *J. Med. Chem.* 1983. Vol. 26. P. 1158–1163.
332. Synthesis of 4-benzyl-1,3-thiazole derivatives as potential anti-inflammatory agents: An analogue-based drug design approach / R. N. Sharma et al. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2009. Vol. 24. P. 890–897.
333. Биологическая активность некоторых производных тиазола / Н. И. Мирян и др. *Хим.-фарм. ж.* 1973. Т. 7, № 8. С. 17–20.
334. Synthesis and antiradical and antibacterial activity of 4-(3',4'-dihydroxyphenyl) thiazole derivatives / V.V. Odaryuk et al. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2015. Vol. 49, No. 2. P. 96–98.
335. Horswill E.C., Howard J. A., Ingold K.U. The oxidation of phenols. III The stoichiometries for the oxidation of some substituted phenols with peroxy radicals. *Can. J. Chem.* 1966. Vol. 44, No 9. P. 985–991.
336. Кучер Р. В., Пейчева А. И., Николаевский А. Н. Ингибирующее действие производных диоксибензола в жидкофазном окислении этилбензола. *Нефтехимия*. 1972. Т. 12, № 1. С. 53–58.
337. Ягунов С. Е., Хольшин С. В., Кандалинцева Н. В. Алкилпирокатехины: подходы к синтезу и антирадикальные свойства. *Электронный журнал «Вестник Новосибирского государственного педагогического университета»*. 2013. Т. 5, № 15. С. 5–12. URL: <http://vestnik.nspu.ru/article/578>.
338. Barclay L.R., Vinqvist M.R. Phenols as antioxidants. *The chemistry of phenols* / Ed. Z. Rappoport. J. Wiley&Sons, Ltd, 2003. P. 839–908.
339. Нассар Махмуд, Николаевский А. Н., Шендрик А. Н., Опейда И. А. К механизму реакции между арилокси- и пероксирадикалами. *Доповіди НАН України*. 2002. № 5. С. 166–171.
340. Liu Z.-Q. Chemical methods to evaluate antioxidant ability. *Chem. Rev.* 2010. Vol. 110. P. 5675–5691.

341. Кинетика поглощения кислорода и хемилюминесценции при окислении липидов в присутствии  $\text{Fe}^{2+}$  / И. А. Опейда и др. *Кинетика и катализ*. 1994. Т. 35, № 1. С. 38–44.
342. Логинова Л. П. Контроль содержания п-гидроксibenзойной кислоты и парабенов в косметических средствах методом мицелярной тонкослойной хроматографии. *Химии*. 2006. Т. 731, Вып. 14. С. 127–134.
343. Fernández J., Pérez-Álvarez J. A., Fernández-López J. A. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry*. 1997. Vol. 59, No 3. P. 345–353.
344. Определение антиокислительной активности химических соединений / С. Г. Благородов и др. *Хим.-фарм. журн.* 1987. Т. 21, № 3. С. 292–296.
345. Бурлакова Е. Б., Мисин В. М., Храпова Н. Г., Завьялов А. Ю. Антиоксиданты. Термины и определения. М.: РУДН, 2010. 63 с.
346. Niki E. Assesment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology & Medicine*. 2010. Vol. 49. P. 503–515.
347. Reaction of phenols with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. Kinetics and DFT calculations applied to determine ArO-H bond dissociation enthalpies and reaction mechanism / M. C. Foti et al. *J. Org. Chem.* 2008. Vol. 73, No 23. P. 9270–9282.
348. Blois M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958. No 181. P. 1199–1200.
349. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 2004. Vol. 26, No. 2. P. 211–219.
350. Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci. Technol.* 1995. Vol. 28. P. 25–30.
351. Ordoudi S.A., Tsimidou M. Z., Vafiadis A. P., BakalBassis E. G. Structure-DPPH scavenging activity relationships: parallel study of catechol and guaiacol acid derivatives. *J. Agric. Food Chem.* 2006. Vol. 54. P. 5763–5768.
352. Sanches-Moreno C., Larrauri J. A., Saura-Calixto F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food. Agri.* 1998. V. 79. P. 270–279.
353. Račova L., Majekova M., Kostalova D., Stefek M. Antiradical and antioxidant activities of alkaloids isolated from Mahonia aquifolium. Structural aspects. *Bioorg.&Med. Chem.* 2004. Vol.12, No 17. P. 4709–4715.
354. Friaa O., Brault D. Kinetics of the reaction between the antioxidant Trolox and the free radical DPPH in semi-aqueous solution. *Org. Biomol. Chem.* 2006. Vol. 4. P. 2417–2423.
355. Suja K. P., Jayalekshmy A., Arumughan C. Free radical scavenging behavior of antioxidant compounds of sesame (*Sesamum indicum* L.) in DPPH system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004. Vol. 52. P. 912–915.
356. Белая Н. И., Белый А. Н., Пашенко А. И. Реакции незамещенных оксибензолов с 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом в системе вода-апротонный растворитель. *Ж. Общ. Химии*. 2012. № 5. С. 777–781.

357. Stopped-flow and spectrophotometric study on radical scavenging by tea catechins and the model compounds / Y. Senba et al. *Chem. Pharm. Bull.* 1999. Vol. 47, No 10. P. 1369–1374.
358. Lin L.-M., Li W.-S., Chen W.-L., Yeh A. Oxidation of catechols and flavonoids by DPPH. *J. Chin. Chem. Soc.* 2010. Vol. 57, No 4B. P. 883–887.
359. Lucarini M., Pedulli G. F., Guerra M. A Critical Evaluation of the Factors Determining the Effect of Intramolecular Hydrogen Bonding on the O-H Bond Dissociation Enthalpy of Catechol and of Flavonoid Antioxidants. *Chem.-Eur. J.* 2004. Vol. 10. P. 933–939.
360. Mulred P., Korth H.-G., Pratt D. A. Critical Re-evaluation of the O-H Bond Dissociation Enthalpy in Phenol. *J. Phys. Chem.* 2005. Vol. 109. P. 2647–2655.
361. Bondet V., Brand-Williams W., Berset C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH· free radical method. *Lebesm.-Wiss.u.Technol.* 1997. Vol. 30, No 6. P. 609–615.
362. Foti M. C., Daquinoa C. Kinetic and thermodynamic parameters for the equilibrium reactions of phenols with the dpph· radical. *Chem. Commun.* 2006. P. 3252–3254.
363. Reaction of phenols with the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. Kinetics and DFT calculation applied to determine ArO-H bond dissociation enthalpies and reaction mechanism / M. Foti et al. *J. Org. Chem.* 2008. V. 73. P. 9270–9282.
364. Naphthalene Diols: A New Class of Antioxidants Intramolecular Hydrogen Bonding in Catechols, Naphthalene Diols, and Their Aryloxy Radicals / M. C. Foti et al. *J. Org. Chem.* 2002. Vol. 67. P. 5190–5196.
365. Benson S. Thermodynamical kinetics. New York: Wiley, 1976. 320 p.
366. Huang D. J., Ou B. X., Prior R. L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *J. Agric. Food. Chem.* 2005. Vol. 53. P. 1841–1856.
367. Ayscough P. B., Russel K. E. Kinetic studies of a phenoxy radical intermediate using optical and electron spin resonance spectroscopy *Can. J. Chem.* 1967. Vol. 45, No 24. P. 3019–3024.
368. Ayscough B. P., Russel K. E. Spectroscopic studies of the reversible reaction between 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl and 2,4,6-tri-t-butylphenol. *Can. J. Chem.* 1965. Vol. 43. P. 3039–3044.
369. Litwinenko G., Ingold K. U. Abnormal solvent effects on hydrogen atom abstraction. 1. The reaction of phenols with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (dpph·) in alcohols. *J. Org. Chem.* 2003. Vol. 68. P. 3433–3438.
370. Steenken S., Neta P. One-electron redox potentials of phenols. Hydroxy- and aminophenols and related compounds of biological interest. *J. Phys. Chem.* 1982. Vol. 86. P. 3661–3667.
371. Волков В.А., Дорофеева Н. А., Пахомов П. М. Кинетический метод анализа антирадикальной активности экстрактов растений. *Хим.-фарм. ж.* 2009. Т. 43, № 6. С. 27–31.
372. Antiradical activity of 2-substituted 4-(1,3-thiazol-4-yl)-1,2-dihydroxybenzenes / V.V. Odaryuk et al. *Russian Journal of General Chemistry.* 2014. Vol. 84, No. 2. P. 268–271.

373. Zhao Y., Truhlar D. G. How Well Can New-Generation Density Functionals Describe the Energetics of Bond-Dissociation Reactions Producing Radicals. *J. Phys. Chem. A*. 2008. V. 112, No 6. P. 1095–1099.
374. Zhao Y. Truhlar D. G. The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals. *Theor. Chem. Acc.* 2008. V. 120, No 1–3. P. 215–241.
375. Tomasi J., Menucci B., Cammi R. Quantum Mechanical Continuum Solvation Models. *Chem. Rev.* 2005. V. 105, No 8. P. 2999–3094.
376. Liu Z-Q. Chemical method to evaluate antioxidant ability. *Chem. Rev.* 2010. Vol. 110, No 10. P. 5675–5691.
377. Venkatasubramanian L., Maruthamuthu P. Kinetics and Mechanism of Formation and Decay of 2,2'-Azinobis-(3-E thylbenzothiazole-6-Sulphonate) Radical Cation in Aqueous Solution by Inorganic Peroxides. *Int. J. Chem. Kin.* 1989. Vol. 21. P. 399–421.
378. Scott S. L., Chen W.-J., Bakac A., Espenson J. H. Spectroscopic parameters, electrode potentials, acid ionization constants and electron exchange of the 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) radicals and ions. *J. Phys. Chem.* 1993. Vol. 97. P. 6710–6714.
379. Miller N. J., Rice-Evans C. Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS+ radical cation assay. *Free Radic. Res.* 1997. Vol. 26. P. 195–199.
380. Campos A. M., Lissi E. Kinetics of the reaction between 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) derived radical cations and phenols. *Int. J. Chem. Kin.* 1997. Vol. 29. P. 219–224.
381. Inhibition byl-Ascorbic Acid and Other Antioxidants of the 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic Acid) Oxidation Catalyzed by Peroxidase: A New Approach for Determining Total Antioxidant Status of Foods / M. B. Arnaoa et al. *Analytical Biochemistry*. 1996. Vol. 236, No 2. P. 255–261.
382. Гелетий Ю. В., Балавуэн Ж. Ж., Ефимов О. Н., Куликова В. С. Определение суммарной концентрации и активности антиоксидантов в пищевых продуктах. *Биоорганическая химия*. 2002. Т. 28, № 6. С. 551–556.
383. Pannala A. S., Chan T. S., O'Brien P. J., Rice-Evans C. A. Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 2001. Vol. 282, No 5. P. 1161–1168.
384. Wolfenden D. G., Willson R. L. Radical-cations as reference chromogens in kinetic studies of ono-electron transfer reactions: pulse radiolysis studies of 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate). *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*. 1982. P. 805–812.
385. Neta P., Huie R. E., Maruthamuth P., Steenken S. Solvent Effects in the Reactions of Peroxyl Radicals with Organic Reductants. Evidence for Proton-Transfer-Mediated Electron Transfer. *J. Phys. Chem.* 1989. Vol. 93. P. 7654-7659.

386. Buettner G. R. The Pecking Order of Free Radicals and Antioxidants: Lipid Peroxidation,  $\alpha$ -Tocopherol, and Ascorbate. *Arch. Biochem. Biophys.* 1993. Vol. 300. P. 535–543.
387. Structural effects on the reactivity 1,4-dihydropyridines with alkylperoxyl radicals and ABTS radical cation / C. Yanez et al. *Bioorg. Med. Chem.* 2004. Vol. 12. P. 2459–2468.
388. Wolfenden B. S., Willson R. L. Radical-cations as reference chromogens in kinetic studies of one electron transfer reactions: pulse radiolysis studies of 2,2'-azinobisethylbenzthiazoline-6-sulphonate). *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2.* 1982. No 4. P. 805–812.
389. TEAC antioxidant activity of 4-hydroxybenzoates / B. Tyrakowska et al. *Free Rad. Biol. Med.* 1999. Vol. 27, No 11/12. P. 1427–1436.
390. A critical appraisal of the use of the antioxidant capacity (TEAC) assay in defining optimal antioxidant structures / M. J. T. J. Arts et al. *Food Chemistry.* 2003. Vol. 80. P. 409–414.
391. Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity (IUPAC Technical report) / R. Apak et al. *Pure Appl. Chem.* 2013. Vol. 85, No 5. P. 957–998.
392. Neta P., Hui R. E., Marutamuthu P., Steenken P. Solvent effect in reaction of peroxyl radicals with organic reductants. Evidence for proton-transfer-mediated electron transfer. *J. Phys. Chem.* 1989. Vol. 93. P. 7654–7659.
393. Craft B. D., Kerrihard A. L., Amarowicz R., Pegg R. B. Phenol-based antioxidants and the in vitro methods used for their assessment. *Comprehensive reviews in food science and food safety.* 2012. Vol. 11. P. 148–172.
394. Labrinea E. P., Georgiou C. A. Stopped-flow method for assessment of pH and timing effect on the ABTS total antioxidant capacity assay. *Analytica Chimica Acta.* 2004. Vol. 526. P. 63–68.
395. Walker R.B., Everette J. D. Comparative reaction rates of various antioxidants with ABTS radical cation. *J. Agric. Food Chem.* 2009. Vol. 57, No 4. P. 1156–1161.
396. Одарюк В. В., Одарюк И. Д., Каниболоцкая Л. В., Шендрик А. Н. Антирадикальная способность фенольных антиоксидантов по отношению к катион-радикалу 2,2'-азино-бис(3-этилбензтиазолин-6-сульфоновой кислоты). *Вісник Донецького національного університету. Сер. Природничі науки.* 2014. № 2. С. 121–125.
397. Ильясов И. Р., Белобородов В. Л., Тюкавкина Н. А. Индукционный период образования ABTS•+ как характеристика антирадикальной активности ряда природных антиоксидантов. *Фармацевтическая химия и фармакогнозия.* 2008. № 8. С. 14–18.
398. Mochizuki M., Yamazaki S., Ikeda T. Kinetic analysis and mechanistic aspects of autoxidation of catechins. *Biochimica et Biophysica Acta.* 2002. No 1569. P. 35–44.
399. Сурджа Н. Р., Сридевич Н., Мохаммедюсуф К. Сравнительное изучение реакции окисления пирокатехина и 3,5-ди- трет-бутилпирокатехина

пероксидом водорода, катализируемой чистыми и инкапсулированными в цеолите комплексами меди с орто-фенилендиамином. *Кинетика и катализ*. 2004. Т. 45, № 3. С. 363–370.

400. Bruce J. M. Photochemistry of quinones. *Quinonoid Compounds*: Vol. 1 / Ed. S. Patai. John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, UK, 1974. P. 465–538.
401. Synthesis and antiradical and antibacterial activity of 4-(3',4'-dihydroxyphenyl) thiazole derivatives / V.V. Odaryuk et al. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2015. Vol. 49, No. 2. P. 96–98.

**ДЛЯ ПОДАТОК**

---

Наукове видання

*Шендрик Олександр Миколайович*

*Одарюк Вікторія Валентинівна*

*Одарюк Іван Дмитрович*

## **РАДИКАЛИ І ХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНЦІЯ У РЕАКЦІЯХ ФЕНОЛІВ З КИСНЕМ У ВОДІ**

*Монографія*

Редактор  
Технічний редактор

І. М. Колесникова  
Т. О. Важеніна

Підписано до друку 27.12.2018  
Формат 60 x 84/16. Папір офсетний.  
Друк – цифровий. Умовн. друк. арк. 10,2  
Тираж 300 прим. Зам. 84

Донецький національний університет імені Василя Стуса  
21021, м. Вінниця, 600-річчя, 21  
Свідectво про внесення суб'єкта видавничої справи  
до Державного реєстру  
серія ДК № 5945 від 15.01.2018