

УДК 547.22:541.13:541.8:541.127

*І.В. Єфімова, О.В. Смирнова, Й.О. Опейда, Л.М. Вахітова***ДІЯ АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ І СУПЕРОКСИД-АНІОНА В ПРОЦЕСАХ ІНГІБУВАННЯ РАДИКАЛЬНО-ЛАНЦЮГОВОГО ОКИСНЕННЯ В АПРОТОННОМУ СЕРЕДОВИЩІ****Інститут фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л.М. Литвиненка НАН України, м. Київ, Україна**

Вивчено ініційоване окиснення кумолу у апротонному середовищі у присутності аскорбінової кислоти та аніон-радикала кисню. Супероксид-аніон отримували реакцією комплексоутворення  $\text{KO}_2$  з краун-етером 18-краун-6. Кінетику процесу окиснення досліджували газоволюмометричним методом, вимірюючи кількість поглиненого кисню при постійному парціальному тиску кисню і температурі 348 К. Дослідження здійснювали при постійній концентрації комплексу  $\text{KO}_2 \cdot 18\text{-краун-6}$  в системі і при варіюванні концентрацією аскорбінової кислоти. Одержано кінетичні криві поглинання кисню модельними системами з різними інгібіторами. Показано, що присутність аскорбінової кислоти та супероксид-аніона забезпечує ефект синергізму інгібування окиснення. Для характеристики спільної дії аскорбінової кислоти та аніон-радикалу кисню на процес окиснення кумолу введено та розраховано параметр синергетичної ефективності інгібування. Знайдено оптимальне співвідношення аскорбінової кислоти та супероксид-аніона для максимально ефектної синергетичної дії антиоксидантів в процесі інгібування радикально-ланцюгового окиснення кумолу у апротонному середовищі. Зроблено висновок відносно можливих шляхів нейтралізації негативних наслідків, викликаних присутністю супероксид-аніона.

**Ключові слова:** аскорбінова кислота, аніон-радикал кисню, інгібування, радикально-ланцюгове окиснення, кумол.

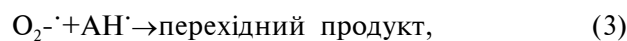
DOI: 10.32434/0321-4095-2020-131-4-55-59

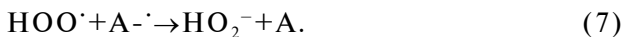
**Вступ**

Останні три десятиліття відзначені підвищенням інтересу до дослідження вільнорадикальних процесів за участю аніон-радикала кисню (АРК), який в апротонному середовищі може реагувати як основа, нуклеофіл, відновник середньої сили та як радикал [1–3].

Літературні дані свідчать про те, що в апротонному середовищі реакція супероксид-аніону з аскорбіновою кислотою (АК) протікає за механізмом депротонування [4]. Проте у водному середовищі між ними має місце окиснювально-відновлювальна взаємодія з перенесенням водню і протона з молекули АК на АРК [5]. Крім того, супероксид-аніон може бути медіатором при окисненні аскорбінової кислоти. З цієї точки зору викликає інтерес спільна дія АРК і АК в процесах радикально-ланцюгового окиснення. Відомо [6], що при окисненні АК киснем в ап-

ротонному і водному середовищі, реалізованому за ланцюговим механізмом, як проміжний продукт утворюється супероксид-аніон, який, в свою чергу, взаємодіє з молекулою аскорбінової кислоти і аскорбат-радикалом. Деталі механізму окиснення АК в апротонному середовищі представлені на схемою рівнянь (1)–(7).





Утворення АРК відбувається при окисненні аскорбат-іона киснем (1). Константа швидкості реакції невелика, для апротонного середовища вона складає  $k=0,68 \pm 0,21$  л/(моль·с), а для водного середовища –  $k=0,32 \pm 0,08$  л/(моль·с). Високі швидкості реакції (2) взаємодії молекули аскорбінової кислоти з аніон-радикалом кисню ( $k=2,7 \cdot 10^5$  л/(моль·с)) та реакції (3) взаємодії аскорбат-радикала з супероксид-аніоном ( $k \sim 5 \cdot 10^4$  л/(моль·с)) обумовлюють здатність АК подавляти АРК [7].

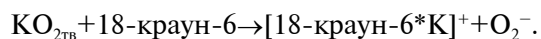
В біологічних об'єктах аскорбінова кислота має сильно виражені відновлювальні властивості та є ефективною «пасткою» активних форм кисню. Сам факт утворення аніон-радикала кисню як проміжного продукту при окисненні аскорбінової кислоти цікавий у зв'язку з вивченням реакцій супероксид-аніона з біологічно активними субстратами. Дослідження в цьому напрямку мають особливе значення, оскільки таким чином може бути встановлено механізм токсичної дії аніон-радикала кисню у живих організмах і знайдено можливі шляхи нейтралізації негативних наслідків, викликаних присутністю супероксид-аніона.

Тому метою даної роботи є дослідження сумісної дії аскорбінової кислоти і аніон-радикала кисню в процесах інгібування радикально-ланцюгового окиснення вуглеводнів в апротонному середовищі.

#### **Експериментальна частина**

У цій роботі як модельну систему використовували ініційоване рідинно-фазне радикально-ланцюгове окиснення кумолу (ІПБ), для якого механізм і усі елементарні стадії добре вивчено [8].

Супероксид-аніон отримували реакцією комплексоутворення  $\text{KO}_2$  з краун-етером [9]:



Як реакційне апротонне середовище обрали ацетонітрил (АН), в якому добре розчиняються усі компоненти окиснюваної суміші та супероксид-аніон досить стабільний. У досліджуваній системі використовувався добре вивчений ініціатор окиснення – азодіізобутиронітрил (АІБН). Швидкість ініціювання  $W_i$  при 348 К складає  $1,811 \cdot 10^{-6}$  моль/(л·с).

Для приготування модельної системи безпосередньо в реактор брали наважки АІБН, АК, додавали 1 мл ІПБ і 1 мл розчину супрамолеку-

лярного комплексу  $\text{KO}_2 \cdot 18\text{-краун-6}$  в АН. Дослідження проводили при постійній концентрації комплексу  $\text{KO}_2 \cdot 18\text{-краун-6}$  в системі і при варіюванні концентрації АК.

За кінетикою процесу окиснення стежили за допомогою газоволюмометричного методу, вимірюючи кількість поглиненого кисню при постійному парціальному тиску кисню 760 мм рт. ст. і температурі 348 К на приладі, описаному раніше [10]. Установка дозволяє вимірювати швидкість поглинання кисню від  $10^{-8}$  моль/(л·с) і більше. Помилка експерименту складає 5–7%.

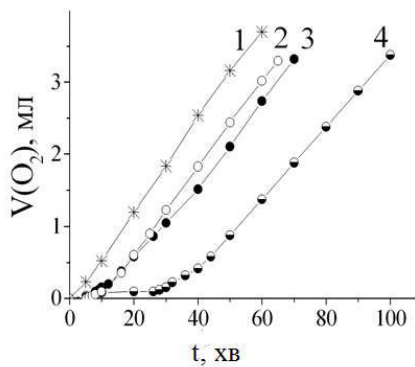
Результати кінетичних досліджень обробляли наступним чином. З отриманих кінетичних кривих в координатах  $V(\text{O}_2)=f(t)$  величину періоду індукції визначали графічно шляхом екстраполювання прямолінійних ділянок на кінетичній кривій до їх перетину, потім з точки перетину опускали перпендикуляр на вісь абсцис і визначали значення періоду індукції як відрізок, що відтинається на осі часу. Швидкість поглинання кисню досліджуваною системою визначали за тангенсом кута нахилу кінетичної кривої.

В роботі використовувалися ІПБ, АН, АІБН, очищені згідно з методикою [11], і АК (ФС–42–2668–89). При визначенні показника якості АК питома обертаність складала  $+20,9 \pm 0,4$ .

#### **Результати та обговорення**

Авторами [12] показано, що в реакції ініційованого окиснення кумолу при введенні супрамолекулярного комплексу  $\text{KO}_2 \cdot 18\text{-краун-6}$  в систему кумол–ініціатор спостерігається інгібуючий ефект, величина якого залежить як від концентрації ініціатора, так і від концентрації комплексу, що додано до окиснювальної системи. Крім того, участь АРК в процесі інгібування радикально-ланцюгового окиснення підтверджено введенням пропілброміду в окиснювальну систему АІБН–ІПБ– $\text{KO}_2 \cdot 18\text{-краун-6}$ –ДМСО [12].

На рисунку приведені кінетичні криві поглинання кисню окиснювальною сумішшю АІБН–ІПБ–АН з різними інгібіторами. При введенні АРК в окиснювальну систему спостерігали гальмування реакції упродовж 8 хв. При введенні АК в досліджувану суміш також спостерігався інгібуючий ефект, величина періоду індукції складала 11 хв. Одночасне введення аскорбінової кислоти і аніон-радикала кисню в окиснювальну систему АІБН–ІПБ–АН викликає синергетичний ефект, величина періоду індукції за тих самих концентрацій інгібіторів складала 31 хв.



Кінетичні криві поглинання кисню системами з різними інгібіторами: 1 – без інгібіторів, 2 – АРК, 3 – АК, 4 – АРК та АК. [АІБН]= $2,00 \cdot 10^{-2}$  моль/л, [АК]= $2,00 \cdot 10^{-3}$  моль/л, [ІПБ]=3,59 моль/л, [K<sub>O<sub>2</sub>\*18-краун-6</sub>]= $2,50 \cdot 10^{-3}$  моль/л, АН, 348 К

В табл. 1 надані кінетичні параметри окиснення суміші АІБН–ІПБ–АН з різними інгібіторами. Величини швидкості поглинання кисню після виходу з періоду індукції для досліджуваних систем змінюються в межах ( $2,13$ – $2,21$ ) $\cdot 10^{-6}$  моль/(л·с).

Таблиця 1

Значення величини періоду індукції ( $\tau$ ), швидкості поглинання кисню протягом часу індукції ( $W_i$ ) та після виходу з нього ( $W_{[O]}$ ) в процесі окиснення кумолу в присутності аскорбінової кислоти і супероксид-аніону\*

Система	$\tau$ , хв	$W_i \cdot 10^6$ , моль/(л·с)	$W_{[O]} \cdot 10^6$ , моль/(л·с)
АІБН–ІПБ–АН	0	–	$2,21 \pm 0,12$
АІБН–ІПБ–АН–АК	11	$0,48 \pm 0,04$	$2,15 \pm 0,11$
АІБН–ІПБ–АН–АРК	8	$0,24 \pm 0,02$	$2,20 \pm 0,12$
АІБН–ІПБ–АН–АК–АРК	31	$0,29 \pm 0,03$	$2,13 \pm 0,11$

Примітка: \* – [АІБН]= $2,00 \cdot 10^{-2}$  моль/л, [K<sub>O<sub>2</sub>\*18-краун-6</sub>]= $2,50 \cdot 10^{-3}$  моль/л, [АК]= $2,00 \cdot 10^{-3}$  моль/л, [ІПБ]=3,59 моль/л, АН, 348 К.

Для характеристики спільної дії АК і АРК в процесі окиснення ІПБ введено параметр синергетичної ефективності інгібування (СЕ), який розраховується за рівнянням:

$$CE = \frac{\tau_{AK+APK}}{\tau_{AK} + \tau_{APK}},$$

де  $\tau_{AK}$  – значення величини періоду індукції, обумовленого дією АК (хв);  $\tau_{APK}$  – значення величини періоду індукції, обумовленого дією АРК (хв);  $\tau_{AK+APK}$  – значення величини періоду індукції, обумовленого сумісною дією АК та АРК (хв).

Якщо  $CE > 1$ , то спостерігається синергізм дії інгібіторів; якщо  $CE = 1$ , то спостерігається адитивна дія антиоксидантів; якщо  $CE < 1$ , то спостерігається антагонізм дії інгібіторів.

Значення синергетичної ефективності інгібування СЕ розраховано для досліджуваних процесів і надано в табл. 2. Показано, що при малому вмісті аскорбінової кислоти (до  $3,50 \cdot 10^{-3}$  моль/л) значення СЕ зростає, при концентрації аскорбінової кислоти  $3,50 \cdot 10^{-3}$  моль/л та вище значення величини СЕ зменшується, і вже при концентрації  $8,50 \cdot 10^{-3}$  моль/л спостерігається антагонізм інгібувальної дії АК і АРК. Це свідчить про те, що в апротонному середовищі при концентрації АК вище  $3,50 \cdot 10^{-3}$  моль/л витрачання інгібіторів відбувається за рівняннями (2) та (3), окрім взаємодії з перекисними радикалами.

Таблиця 2

Залежність величини періоду індукції ( $\tau$ ) та синергетичної ефективності інгібування (СЕ) АК і АРК від концентрації аскорбінової кислоти ([АК]) у процесі окиснення кумолу\*

[АК] $\cdot 10^3$ , моль/л	$\tau$ , хв		СЕ
	АК	АК+АРК	
2,00	11	31	1,07
3,50	26	43	1,23
4,00	30	46	1,18
5,50	45	59	1,09
7,00	61	72	1,01
8,50	75	83	0,95

Примітка: \* – [АІБН]= $2,00 \cdot 10^{-2}$  моль/л [K<sub>O<sub>2</sub>\*18-краун-6</sub>]= $2,50 \cdot 10^{-3}$  моль/л, [Ку]=3,59 моль/л, АН, 348 К.

### Висновки

Таким чином, дослідження ініційованого окиснення кумолу киснем у присутності АК і супрамолекулярної системи, що містить АРК, показало, що одночасне введення АК і супероксид-аніона в окислювальну систему викликає ефект синергізму. Знайдено оптимальне співвідношення АК і АРК для максимально ефективної синергетичної дії антиоксидантів у процесі інгібування окиснення кумолу в середовищі АН.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Du J., Cullen J.J., Buettner G.R. Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of cancer // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2012. – Vol.1826. – P.443-457.
2. Antioxidant activity of Hypericum androsaemum infusion:

scavenging activity against superoxide radical, hydroxyl radical and hypochlorous acid / Valentao P., Fernandes E., Carvalho F., Andrade P.B., Seabra R.M., de Lourdes Bastos M. // *Biol. Pharm. Bull.* – 2002. – Vol.25. – No. 10. – P.1320-1323.

3. Piskarev I.M., Ivanova I.P. Assessment of oxidative and antioxidant capacity of biological substrates by chemiluminescence induced by Fenton reaction // *Sovremennye Tekhnologii v Meditsine.* – 2016. – Vol.8. – No. 3. – P.16-25.

4. Peover M.E., White B.S. The formation of the superoxide ion by electrolysis of oxygen in aprotic solvents // *Chem. Commun.* – 1965. – P.183-184.

5. Kinetics and mechanism of the oxidation of ascorbic acid in aqueous solutions by a trans-dioxoruthenium(VI) complex / Wang Y.-N., Lau K.-C., Lam W.W.Y., Man W.-L., Leung C.-F., Lau T.-C. // *Inorg. Chem.* – 2009. – Vol.48. – No. 1. – P.400-406.

6. Oxidation by superoxide ion of catechols, ascorbic acid, dehydrophenazine, and reduced flavins to their respective anion radicals. A common mechanism via a combined proton-hydrogen atom transfer / Sawyer D.T., Calderwood T.S., Johlman C.L., Wilkins C.L. // *J. Org. Chem.* – 1985. – Vol.50. – P.1409-1412.

7. Cabelli D.E., Bielski B.H.J. Kinetics and mechanisms for the oxidation of ascorbic acid/ascorbate by HO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub><sup>-</sup> radicals. A pulse radiolysis and stopped-flow photolysis study // *J. Phys. Chem.* – 1983. – Vol.87. – P.1809-1814.

8. Денисов Е.Т. Кинетика гомогенных химических реакций. – М.: Высш. школа, 1988. – 390 с.

9. Ефимова И.В., Помещенко А.И., Онейда И.А. Реакции O<sub>2</sub><sup>-</sup>-содержащих супрамолекул с алкилгалогенидами // *Журн. общ. химии.* – 2004. – Т.74. – № 7. – С.1100-1104.

10. Эмануэль Н.М., Заиков Г.Е., Майзус З.К. Роль среды в радикально-цепных реакциях окисления органических соединений. – М.: Наука, 1973. – 297 с.

11. Armarego W.L.F., Chai C.L.L. Purification of laboratory chemicals. – Elsevier Science, 2003. – 608 p.

12. Онейда И.А., Помещенко А.И., Ефимова И.В. Радиально-цепное окисление кумола в присутствии супрамолекулярных систем, содержащих супероксид-анион // *Журн. физ. химии.* – 2004. – Т.78. – № 11. – С.1976-1979.

Надійшла до редакції 06.09.2019

## EFFECT OF ASCORBIC ACID AND SUPEROXIDE ANION ON THE PROCESSES OF INHIBITION OF CHAIN-RADICAL OXIDATION IN AN APROTIC MEDIUM

I.V. Efimova\*, O.V. Smirnova, I.A. Opeida, L.N. Vakhitova  
L.M. Litvinenko Institute of Physical-Organic and Coal Chemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

\* e-mail: I.V.Efimova@nas.gov.ua

The initiated oxidation of cumene was studied in an aprotic medium in the presence of ascorbic acid and anion radical of oxygen. Superoxide anion was prepared by the reaction of KO<sub>2</sub> complexation with 18-crown-6 ether. The kinetics of the oxidation process was monitored by the gas volumetric measurements by determining the volume of absorbed oxygen at a constant partial pressure of oxygen and a temperature of 348 K. The study was conducted at a constant concentration of the complex KO<sub>2</sub>\*18-crown-6 in the system and at varying the concentration of ascorbic acid. The kinetic absorption curves of oxygen absorption were obtained for the test systems with different inhibitors. It was shown that the presence of ascorbic acid and superoxide anion ensures a synergistic effect of oxidation inhibition. To characterize the joint action of ascorbic acid and anion radical of oxygen on the cumene oxidation process, a parameter characterizing the synergistic inhibition efficiency was introduced and calculated. An optimum ratio of ascorbic acid to superoxide anion was determined to provide a maximally efficient synergistic action of antioxidants in the process of inhibition of chain-radical oxidation of cumene in an aprotic medium. Conclusion was made regarding possible ways of neutralizing the negative effects caused by the presence of superoxide anion.

**Keywords:** ascorbic acid; anion radical of oxygen; inhibition; chain-radical oxidation; cumene.

## REFERENCES

1. Du J., Cullen J.J., Buettner G.R. Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Cancer*, 2012, vol. 1826, pp. 443-457.

2. Valentao P., Fernandes E., Carvalho F., Andrade P.B., Seabra R.M., de Lourdes Bastos M. Antioxidant activity of Hypericum androsaemum infusion: scavenging activity against superoxide radical, hydroxyl radical and hypochlorous acid. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2002, vol. 25, pp. 1320-1323.

3. Piskarev I.M., Ivanova I.P. Assessment of oxidative and antioxidant capacity of biological substrates by chemiluminescence induced by Fenton reaction. *Sovremennye Tekhnologii v Medicine*, 2016, vol. 8, no. 3, pp. 16-25.

4. Peover M.E., White B.S. The formation of the superoxide ion by electrolysis of oxygen in aprotic solvents. *Chemical Communications (London)*, 1965, pp. 183-184.

5. Wang Y.-N., Lau K.-C., Lam W.W.Y., Man W.-L., Leung C.-F., Lau T.-C. Kinetics and mechanism of the oxidation of ascorbic acid in aqueous solutions by a trans-dioxoruthenium(VI) complex. *Inorganic Chemistry*, 2009, vol. 48, pp. 400-406.

6. Sawyer D.T., Calderwood T.S., Johlman C.L., Wilkins C.L. Oxidation by superoxide ion of catechols, ascorbic acid, dehydrophenazine, and reduced flavins to their respective anion radicals. A common mechanism via a combined proton-hydrogen atom transfer. *Journal of Organic Chemistry*, 1985, vol. 50, pp. 1409-1412.

7. Cabelli D.E., Bielski B.H.J. Kinetics and mechanisms for the oxidation of ascorbic acid/ascorbate by  $\text{HO}_2/\text{O}_2^-$  radicals. A pulse radiolysis and stopped-flow photolysis study. *Journal of Physical Chemistry*, 1983, vol. 87, pp. 1809-1814.

8. Denisov E.T., *Kinetika gomogennykh khimicheskikh reaktsii* [Kinetics of homogenous chemical reactions]. Vysshaya Shkola, Moscow, 1988. 390 p. (in Russian).

9. Efimova I.V., Pomeshhenko A.I., Opeida I.A. Reaktsii  $\text{O}_2$ -soderzhashchikh supramolekul s alkilgalogenidami [Reactions of  $\text{O}_2$ -containing supramolecules with alkylhalogenides]. *Zhurnal Obshchei Khimii*, 2004, vol. 74, no. 7, pp. 1100-1104. (in Russian).

10. Emanuel N.M., Zaikov G.E., Maizus Z.K., *Rol' sredy v radikalno-tsepnykh reaktsiyakh okisleniya organicheskikh soedinenii* [The function of a medium in chain-radical reactions of oxidation of organic compounds]. Nauka, Moscow, 1973. 297 p.

11. Armarego W.L.F., Chai Ch.L.L., *Purification of laboratory chemicals*. Elsevier Science, 2003. 608 p.

12. Opeida I.A., Pomeshhenko A.I., Efimova I.V. Radikalno-tsepnoe okislenie kumola v prisutstvii supramolekulyarnykh sistem, sodержashchikh superoksid-anion [Chain-radical oxidation of cumene in the presence of supramolecular systems containing superoxide anion]. *Zhurnal Fizicheskoi Khimii*, 2004, vol. 78, no. 11, pp. 1976-1979. (in Russian).