

## ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТЕЙ 1,3-ДИОКСИ-5-МЕТИЛБЕНЗОЛА

Методом MCSCF рассмотрено взаимодействие 1,3-диокси-5-метилбензола (С1-АОБ) и С1-АОБ<sup>•</sup> с АФК. Показана антиоксидантная активность С1-АОБ по отношению к радикалам ОН<sup>•</sup>, НО<sub>2</sub><sup>•</sup> и <sup>1</sup>О<sub>2</sub> (b <sup>1</sup>Σ<sub>g</sub><sup>+</sup>), возможность прооксидантного эффекта С1-АОБ в отношении <sup>1</sup>О<sub>2</sub> (a <sup>1</sup>Δ<sub>g</sub>), предсказаны антиоксидантные свойства С1-АОБ<sup>•</sup> к НО<sub>2</sub><sup>•</sup>. Полученные данные экспериментально подтверждены в модельной системе «пероксидаза - Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> - люминол».

Ключевые слова: 1,3-диокси-5-метилбензол, активационный барьер реакции, активные формы кислорода, антиоксидантная активность, прооксидантная активность.

Одним из приоритетных направлений современной биологии и медицины является поиск и исследование новых соединений, способных выступать в роли антиоксидантов. В качестве подобных веществ, способных к взаимодействию с разнообразными активными формами кислорода (АФК) можно рассматривать небольшие молекулы микробного и растительного происхождения – алкилоксибензолы – синтезируемые некоторыми растениями, грибами или микроорганизмами в ответ на изменяющиеся условия окружающей среды, такие как инфекция, повреждения тканей, или действие неблагоприятных физических или химических веществ [1]. Ранее у данной молекулы показана совокупность антиоксидантных [2] и фотопротекторных [3] свойств, явившихся основанием для практического использования С1-АОБ в качестве вещества, обладающего защитными функциями. Однако совокупность данных эффектов не раскрывает механизмы наблюдаемых явлений. В этой связи, особый интерес вызывает возможность изучения тонких взаимодействий С1-АОБ с гидратной оболочкой [4] и различными формами АФК с использованием методов квантовохимического моделирования с одновременным сопоставлением и согласованием подобных результатов с имеющимися экспериментальными данными.

### Методы исследования

Геометрия равновесных состояний молекул С1-АОБ, С1-АОБ<sup>•</sup>, НО<sub>2</sub><sup>•</sup>, О<sub>2</sub><sup>•</sup>, ОН<sup>•</sup>, Н<sub>2</sub>О, Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> и межмолекулярных комплексов [С1-АОБ – О<sub>2</sub>], [С1-АОБ<sup>•</sup> – НО<sub>2</sub><sup>•</sup>], [С1-АОБ – ОН<sup>•</sup>], [С1-АОБ<sup>•</sup> + Н<sub>2</sub>О], [С1-АОБ – Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>], [С1-АОБ<sup>•</sup> – Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>] рассчитана методом функционала плотности DFT [5], [6] с использованием функционала

V3LYP. Моделирование межмолекулярных потенциалов взаимодействия С1-АОБ и его фенок- сильного радикала С1-АОБ<sup>•</sup> с О<sub>2</sub>, НО<sub>2</sub><sup>•</sup>; Н<sub>2</sub>О и ОН<sup>•</sup> проводилось методом MCSCF (многоконфигурационный метод самосогласованного поля, МКССП) на собственных векторах ROHF. Активное пространство (АП) расчетов MCSCF включало шестнадцать электронов на двенадцати молекулярных орбиталях (МО) для реакции <sup>1,3</sup>[С1-АОБ + О<sub>2</sub>] = <sup>1,3</sup>[С1-АОБ<sup>•</sup> + НО<sub>2</sub><sup>•</sup>] и семнадцать электронов на двенадцати МО для реакции <sup>2</sup>[С1-АОБ + ОН<sup>•</sup>] = <sup>2</sup>[С1-АОБ<sup>•</sup> + Н<sub>2</sub>О]. Для улучшения сходимости в расчетах методами ROHF и DFT/V3LYP использовались канонические орбитали с параметрами A<sub>(cc)</sub> = 0,0, A<sub>(oo)</sub> = 1,0, A<sub>(vv)</sub> = 1,0, B<sub>(cc)</sub> = 3,0, B<sub>(oo)</sub> = 0,0, B<sub>(vv)</sub> = 0,0 [7].

При проведении экспериментальных исследований использован С1-акилоксибензол (С1-АОБ) с молекулярной массой Mr = 142,16 г/моль и степенью очистки 99,9% (Sigma, США). Способность С1-АОБ взаимодействовать с продуктами диссоциации Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> изучали в модельной ферментной системе «пероксидаза - Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> - люминол», окисление которого определялось взаимодействием с образующимися АФК и сопровождалось хемилюминесценцией с максимумом 428 нм. На основании значений интенсивности свечения в отсутствие (контроль) и присутствии С1-АОБ (опыт) проводили расчет индекса хемилюминесценции (ИХЛ).

### Результаты и обсуждение

Анализ сечения профиля потенциальной энергии реакции <sup>2</sup>[С1-АОБ + ОН<sup>•</sup>] = <sup>2</sup>[С1-АОБ<sup>•</sup> + Н<sub>2</sub>О], построенного по результатам расчета методом MCSCF, показал, что реакция взаимодействия С1-АОБ с радикалом ОН<sup>•</sup> протекает более эффективно, т. к. активационный барьер

прямой реакции  $E_a(\text{пр})=0,60$  эВ меньше, чем активационный барьер  $E_a(\text{обр})=1,75$  эВ обратного процесса – С1-АОБ +  $\text{H}_2\text{O}$ , что свидетельствует о проявлении антиоксидантной активности С1-АОБ по отношению к гидроксильному радикалу  $\text{OH}\cdot$  (рис.1).

Особенности структуры и энергии триплетного состояния С1-АОБ и их влияния на генерацию синглетного кислорода, как это сделано в работе [8], не рассматривалась, однако, проанализировав реакцию взаимодействия молекулярного кислорода  ${}^3\text{O}_2$  ( $X^3\Sigma_g^-$ ) и его активных форм  ${}^1\text{O}_2$  ( $a^1\Delta_g$ ) и  $\text{O}_2$  ( $b^1\Sigma_g^+$ ) с С1-АОБ, и рассчитав активационные барьеры, можно сделать соответствующие выводы. Результаты расчета свидетельствуют, что прямая реакция  ${}^3\text{O}_2$  ( $X^3\Sigma_g^-$ ) + С1-АОБ = С1-АОБ $\cdot$  +  $\text{HO}_2\cdot$ , для которой  $E_a(\text{пр})=2,02$  эВ идет менее эффективно, чем обратная  $E_a(\text{обр})=0,51$  эВ. Аналогичная ситуация наблюдается и для реакции С1-АОБ с синглетным кислородом ( $a^1\Delta_g$ ):  ${}^1\text{O}_2$  ( $a^1\Delta_g$ ) + С1-АОБ = С1-АОБ $\cdot$  +  $\text{HO}_2\cdot$  (рис.2). Отсюда следует, что по отношению к молекулярному кислороду и его активной форме  ${}^1\text{O}_2$  ( $a^1\Delta_g$ ) С1-АОБ не проявляет антиоксидантных свойств и в процессе обратной реакции  ${}^1\text{O}_2$  ( $a^1\Delta_g$ ) + С1-АОБ = С1-АОБ $\cdot$  +  $\text{HO}_2\cdot$  (кривая 2, рис.2) возможна генерация синглетного кислорода  ${}^1\text{O}_2$  ( $a^1\Delta_g$ ).

Следует заметить, что С1-АОБ и его фенокисильный радикал С1-АОБ $\cdot$  образуют устойчивые межмолекулярные комплексы с пероксидом водорода  $\text{H}_2\text{O}_2$  (рис.3), энергии диссоциации равны 0,56 эВ и 1,78 эВ соответственно, таким образом, маловероятно образование продуктов в результате реакции взаимодействия С1-АОБ непосредственно с  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

Известно, что пероксид водорода может продуцировать активные формы кислорода (АФК)  ${}^1\text{O}_2$  и  $\text{OH}\cdot$ , поэтому исследование реакции взаимодействия молекулы С1-АОБ и радикала С1-АОБ $\cdot$  с этими АФК позволяет проанализировать и объяснить анти- и прооксидантные свойства С1-АОБ в экспериментально исследуемых системах.

Резюмируя вышесказанное можно отметить, что квантовохимические расчеты регистрируют антиоксидантные свойства С1-АОБ по отношению к гидроксильному радикалу  $\text{OH}\cdot$  и синглетному кислороду  $b^1\Sigma_g^+$  и прогнозируют прооксидантные свойства по отношению к синглетному кислороду  $a^1\Delta_g$ .

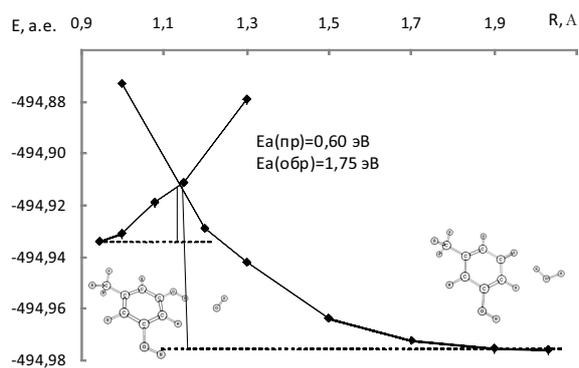


Рисунок 1. Сечение профиля потенциальной энергии реакции  ${}^2[\text{C1-АОБ} + \text{OH}\cdot] = {}^2[\text{C1-АОБ}\cdot + \text{H}_2\text{O}]$ , рассчитанное методом MCSCF

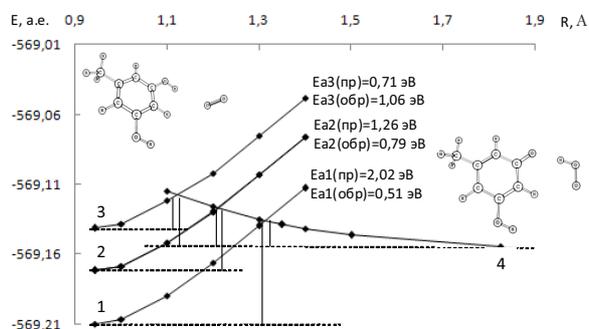


Рисунок 2. Сечение профиля потенциальной энергии реакции  ${}^{1,3}[\text{C1-АОБ} + \text{O}_2] = {}^{1,3}[\text{C1-АОБ}\cdot + \text{HO}_2\cdot]$ ; рассчитанное методом MCSCF, где 1:  ${}^3[\text{C1-АОБ} + \text{O}_2$  ( $X^3\Sigma_g^-$ )], 2:  ${}^1[\text{C1-АОБ} + \text{O}_2$  ( $a^1\Delta_g$ )], 3:  ${}^1[\text{C1-АОБ} + \text{O}_2$  ( $b^1\Sigma_g^+$ )], 4:  ${}^{1,3}[\text{C1-АОБ}\cdot + \text{HO}_2\cdot]$

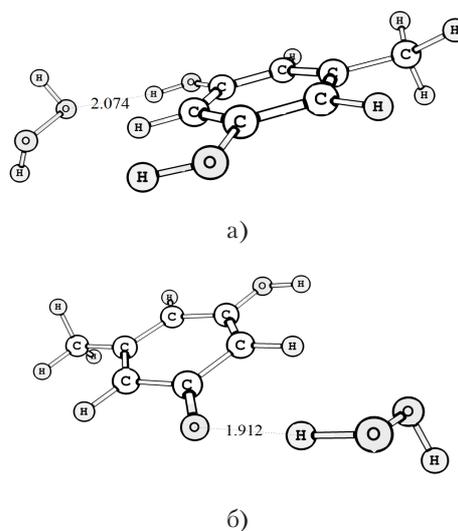


Рисунок 3. Структура межмолекулярных комплексов пероксида водорода  $\text{H}_2\text{O}_2$  с С1-АОБ (а) и его фенокисильным радикалом С1-АОБ $\cdot$  (б)

Наличие антиоксидантной активности у С1-акилоксибензола было экспериментально подтверждено в модельной системе «пероксидаза -  $H_2O_2$  - люминол». Так, при регистрации изменений свечения проб в модельной ферментной системе «пероксидаза -  $H_2O_2$  - люминол», содержащих С1-АОБ свидетельствовала, что использованные С1-АОБ в концентрации  $10^{-5}$  моль/л и выше, обуславливали значимое снижение регистрируемых значений ИХЛ до уровня  $0,96 \pm 0,06 - 0,60 \pm 0,03$  ( $P \leq 0,01$ ), что соответствовало представлениям о возможности связывании ауторегулятором появляющихся в экспериментальной сме-

си АФК и объясняло наличие у этой группы биологически активных веществ свойств антиоксидантов.

Таким образом, полученные данные раскрывают некоторые механизмы взаимодействия С1-АОБ с активными формами кислорода, объясняют проявление подобным гомологом эффектов разной степени выраженности и направленности в экспериментальных системах, а так же оставляют перспективу дальнейших исследований, направленных на выявление зависимости про- и антиоксидантных эффектов АОБ от особенностей их химической структуры и, в частности, размера углеводородного радикала.

1.09.2013

**Список литературы:**

1. Stasiuk M., Kozubek A. Biological activity of phenolic lipids // Cell. Mol. Life Sci. – 2010. – V. 67. – P. 841-860.
2. Грязева И.В., Давыдова О.К., Дерябин Д.Г., Свиридова Т.Г., Свиридов А.П. Прогнозируемая и экспериментально выявляемая антиоксидантная активность алкилоксибензолов // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2013. – №8. – С. 41-46.
3. Давыдова О.К., Дерябин Д.Г., Эль-Регистан Г.И. Влияние химических аналогов микробных ауторегуляторов на чувствительность ДНК к УФ-облучению // Микробиология. – 2006. – Т. 75. – №5. – С. 654-661.
4. Kobzev G. I., Sagida M. O., Kazaeva A. N. Quantum-Chemical Study of Alkyloxybenzenes Hydrophobicity // Russian Journal of General Chemistry. – 2013. – Vol. 83. – №7. – P. 1318–1323.
5. Hohenberg P, Kohn W. Inhomogeneous Electron Gas // Phys. Rev. B – 1964. – Vol. 136. – P. 864.
6. Kohn W., Sham L.J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects // Phys. Rev. A – 1965. – Vol. 140. – P. 1133.
7. Plakhutin B.N., Gorelik E.V., Breslavskaya N.N. Koopmans' theorem in the ROHF method: Canonical form for the Hartree-Fock Hamiltonian // J. Chem. Phys. – 2006. – Vol. 125. – P. 204110-204119.
8. Lobanov A.V., Kobzev G.I., Davydov K.S., Koumaneikina L.V., Komissarov G.G. Special features of singlet oxygen generation photosensitized by magnesium complexes of tetrapyrrolic macrocycles // Macroheterocycles. – 2011. – Vol. 4. – №2. – P. 106-110.

## Сведения об авторах:

**Казаева Анна Николаевна**, аспирант кафедры химии Оренбургского государственного университета, e-mail: kazaevaan@mail.ru

**Кобзев Геннадий Игоревич**, профессор кафедры химии Оренбургского государственного университета, доктор химических наук, доцент, e-mail: kobzevgi@mail.ru

**Свиридова Татьяна Геннадьевна**, ведущий инженер кафедры микробиологии Оренбургского государственного университета, e-mail: kobtg@yandex.ru

**Грязева Ирина Владимировна**, ведущий инженер кафедры микробиологии Оренбургского государственного университета, e-mail: gryazevai@mail.ru

**Свиридов Алексей Петрович**, студент магистратуры кафедры микробиологии Оренбургского государственного университета, e-mail: svirlex@yandex.ru

460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13, тел. (3532) 692814

**UDC 544.165; 544.147; 544.51**

**Kazaeva A.N., Kobzev G.I., Sviridova T.G., Gryazeva I.V., Sviridov A.P.**

Orenburg state university, e-mail: kazaevaan@mail.ru

**STUDY OF THE MECHANISM OF PRO- AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF 1,3-DIHYDROXY-5-METHYLBENZENE**

Method MCSCF (multiconfiguration self-consistent field method) simulated the interaction of 1,3-dihydroxy-5-methylbenzene (C1-AHB) and its phenoxyl radical (C1-AHB $\cdot$ ) with some reactive forms of oxygen. According to the results of quantum chemical calculations of activation barriers of direct and inverse reactions shown antioxidant activity of C1-AHB towards hydroxyl (OH $\cdot$ ), hydroperoxide (HO $_2\cdot$ ) radicals and singlet oxygen  $^1O_2$  and the predicted antioxidant phenoxyl radical C1-AHB $\cdot$  against hydroperoxide radical HO $_2\cdot$ . At the same time the opportunity of pro-oxidant effect of C1-AHB against singlet oxygen  $^1O_2$  (a  $^1\Delta_g$ ) to generate a response in the last  $^1C1-AHB\cdot + ^1HO_2\cdot = ^1C1-AHB + ^1O_2$ . The calculated data are experimentally confirmed in a model system «Peroxidase –  $H_2O_2$  – Lumifol».

Key words: 1,3-dihydroxy-5-methylbenzene, the activation barrier of the reaction, reactive oxygen species, antioxidant activity, prooxidant activity.