

CZU:542.943`78:577.164.2

STUDIUL TEORETIC A MECANISMULUI PROCESULUI DE INHIBARE A RADICALULUI LIBER DPPH[•] SUB ACȚIUNEA VITAMINEI C

ARSENE Ion^{a,b}, GORINCHOY Natalia^b, GORBACHEV Mikhail^b

^aUniversitatea de Stat din Tiraspol, Chișinău, Republica Moldova

^bInstitutul de Chimie, Chișinău, Republica Moldova

Rezumat: Pe baza calculelor DFT B3LYP, s-a studiat etapa inițială a interacțiunii radicalului DPPH[•] cu acidul ascorbic (AscH₂) însoțit de transferul protonului de la grupa hidroxil (OH), care aparține inelului furanic al acidului ascorbic la radicalul DPPH[•]. Deoarece în structura acidului ascorbic sunt două grupări hidroxilice asimetrice atașate la heterociclu, au fost propuse două mecanisme paralele de transfer de protoni. Energia de activare a acestei reacții, în funcție de poziția grupei OH implicat în reacție, este respectiv egală cu 11,07 și 7,47 kcal/mol.

Cuvinte cheie: antioxidanți, acidul ascorbic, radicalul liber DPPH[•], calcule DFT.

THEORETICAL STUDY OF THE MECHANISM OF THE FREE RADICAL DPPH[•] INHIBITION PROCESS UNDER THE ACTION OF VITAMIN C

Abstract: Based on the DFT B3LYP calculations, the initial stage of the interaction of the free radical DPPH[•] with ascorbic acid (AscH₂) accompanied by proton transfer from the hydroxyl group (OH) belonging to the furan ring of ascorbic acid to the radical DPPH[•] was studied. Since the structure of ascorbic acid has two asymmetric hydroxyl groups attached to the heterocycle, two parallel mechanisms of proton transfer were proposed. The activation energy of this reaction, depending on the position of the OH group involved in the reaction, is 11.07 and 7.47 kcal/mol, respectively.

Keywords: antioxidants, ascorbic acid, free radical DPPH[•], DFT calculations.

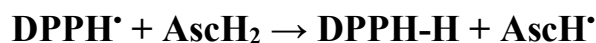
Introducere

În ultimul deceniu, se fac tot mai multe studii ce vizează diferite abordări experimentale și teoretice ale activităților antioxidanților asupra radicalilor liberi pentru anihilarea lor, transformându-i în compuși diamagnetici mai inerti din punct de vedere chimic. Cunoașterea mecanismelor generale a reacțiilor radicale din organismele vii și elaborarea unor modalități posibile de neutralizare a radicalilor liberi cu anumite substanțe ce au activități antioxidante, poate duce la obținerea de noi substanțe chimice (medicamente) cu așa proprietăți.

Acidul ascorbic este un cunoscut antioxidant și eliminator de radicali. Poate fi oxidat prin pierderea a doi protoni și a doi electroni, dar în mod normal pierde un singur electron la un moment dat. Reactivitatea radicalului ascorbat este neobișnuită, deoarece poate fi disproporționată sau poate reacționa cu alți radicali, dar reacționează slab cu speciile non-radicale.

Activitatea de captare a radicalilor liberi DPPH[•] a fost studiată pentru a evalua

activitatea antioxidantă a vitaminei C din compuşii *B-UHMWPE (Biomedical Ultra High Molecular Weight Polyethylene)* [1]. Evaluări calitative ale antioxidantului Vitaminei C, sugerează un potenţial înalt în activitatea sa ca agent antioxidant. Soluţia iniţial prezintă o culoare violetă, care devine gălbuie la sfârşitul experimentului. Acest lucru este în conformitate cu cercetarea [2], care a atribuit această schimbarea culorii la reducerea radicalului DPPH• până la difenil-picril hidrazină. Reacţie între radicalul DPPH• şi vitamina C (acid ascorbic), care cedează un proton la radicalul DPPH•.



(violet) (galben)

Scopul principal al cercetării a fost de a elabora teoretic mecanismul general al reacţiei de neutralizare a radicalului DPPH• sub influenţa acidului ascorbic la prima etapă.

Metode computaţionale

Calcululele au fost realizate folosind setul de programe moderne GAUSSIAN 09 [3]. Optimizarea structurilor geometrice a reactanţilor, produşilor de reacţie şi a stărilor de tranziţie s-au realizat în baza Teoriei Funcţionalei de Densitate (DFT/TFD) cu funcţionare hibridă de schimb-corelaţie B3LYP (Becke cu corelaţia funcţională a trei parametri: Lee, Yang şi Parr) [4, 5] şi seturile de bază standard 6-31G.

Cu ajutorul calcululelor teoretice se studiază parametrii termodinamici ai reacţiilor chimice. Calculul entalpii de reacţie şi a energiei libere Gibbs se face conform ecuaţiilor de mai jos [6]:

$$\Delta_r H^\circ(298K) = \sum_{products} \Delta_f H_{prod}^\circ(298K) - \sum_{reactants} \Delta_f H_{react}^\circ(298K) \quad (1)$$

$$\Delta_r G^\circ(298K) = \sum_{products} \Delta_f G_{prod}^\circ(298K) - \sum_{reactants} \Delta_f G_{react}^\circ(298K) \quad (2)$$

Ecuaţia cheie pentru calcularea vitezei de reacţie este:

$$k(T) = \frac{k_B T}{hc} e^{-\Delta^\ddagger G^\circ/RT} \quad (3)$$

Rezultate obţinute

Se studiază etapa iniţială de interacţiune a radicalului DPPH• cu acidul ascorbic (AscH₂), cu transferul unui proton de la o grupă hidroxil (OH) legate de inelul furanic al acidului ascorbic la radicalul DPPH•. Pentru aceasta s-a propus de a studia două mecanisme paralele de transfer al protonului, fiindcă avem două grupe hidroroxilice nesimetrice legate de heterociclu, cu estimarea profilului energetic al fiecărei etape (**1a** şi **1b**), conform schemei prezentate în Figura 1. Pentru a construi schema mecanismului

de reacție au fost optimizate toate speciile participante la reacție.

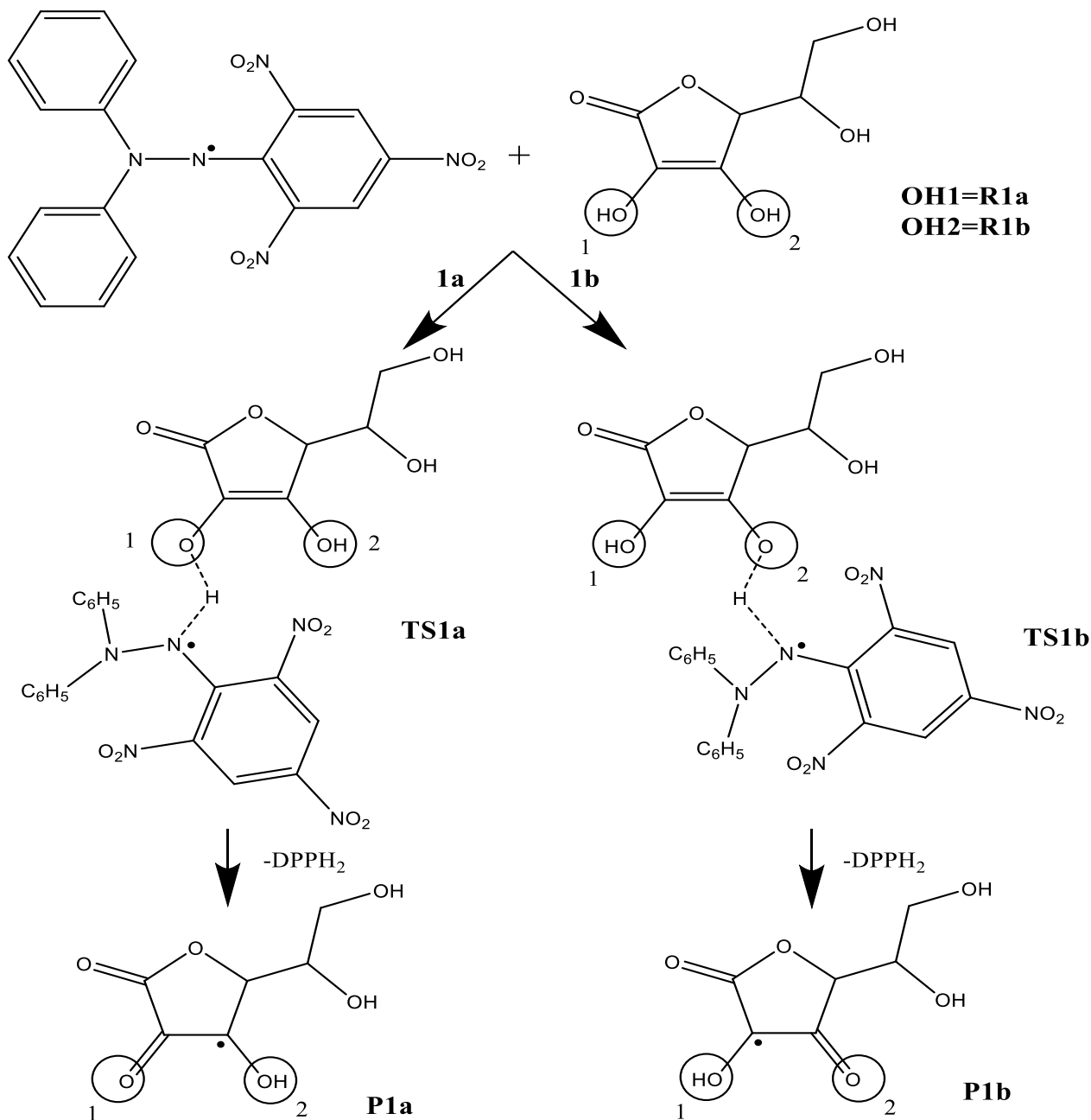
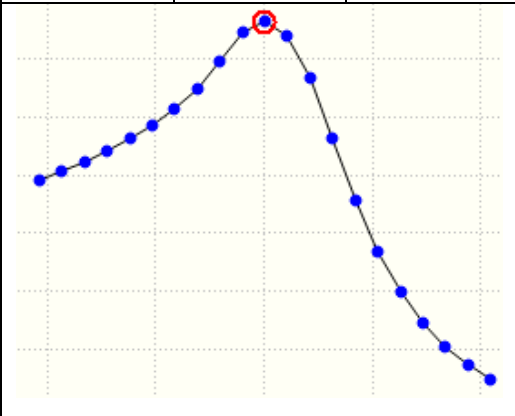
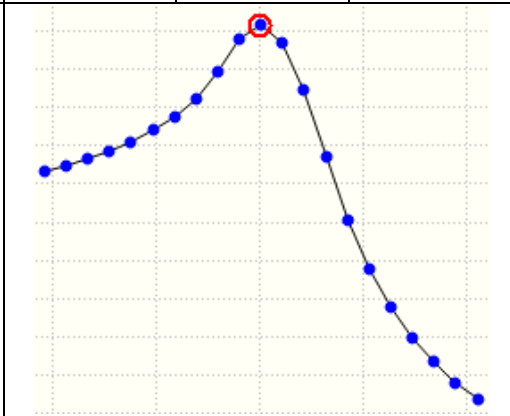


Fig. 1. Schema mecanismului inițial de reacție

Se presupune că la sfârșitul fiecărei etape (**1a** și **1b**) se obține radicalul ascorbat (**AscH[•]**), în dependență de hidrogenul transferat, de la grupa hidroxilică **1** sau **2** (**P1a** și **P1b**). Structura geometrică a reactanților și produșilor de reacție, cât și intermediarii au fost studiați cuanto-chimic pentru a determina unii parametri geometrici, cât și energetici. Valorile termodinamice obținute în rezultatul cercetării sunt prezentate în Tabelul 1.

Tabelul 1. Valorile termodinamice calculate pentru speciile ce participă în mecanismul **1a** și **1b**

	R1a	TS1a	P1a	R1b	TS1b	P1b
ϵ_0	-2101,9801	-2101,9627	-2101,9906	-2101,9648	-2101,9529	-2101,9716
ϵ_{ZPE}	0,441819	0,435899	0,442409	0,439595	0,435092	0,440284
E_{tot}	0,477411	0,471449	0,477974	0,476384	0,471227	0,477301
H_{corr}	0,478355	0,472393	0,478918	0,477329	0,472171	0,478245
G_{corr}	0,371029	0,364711	0,369526	0,365541	0,362544	0,363463
$\epsilon_0 + \epsilon_{ZPE}$	-2101,5383	-2101,5268	-2101,5482	-2101,5253	-2101,5178	-2101,5313
$\epsilon_0 + E_{tot}$	-2101,5027	-2101,4913	-2101,5126	-2101,4885	-2101,4816	-2101,4943
$\epsilon_0 + H_{corr}$	-2101,5017	-2101,4903	-2101,5117	-2101,4875	-2101,4807	-2101,4933
$\epsilon_0 + G_{corr}$	-2101,6091	-2101,5980	-2101,6211	-2101,5993	-2101,5903	-2101,6081
E (termal)	299,58	295,839	299,933	298,936	295,7	299,511
Cv	135,014	134,496	134,061	137,016	135,773	136,885
S	225,887	226,635	230,236	235,278	230,73	241,579
Imag. Fq.	-	-1525,97i	-	-	-1436,64i	-
IRC						

*note: ϵ_0 , ϵ_{ZPE} , E_{tot} , H_{corr} , G_{corr} : Hartree; E (termal), Heat Capacity (Cv), Entropy (S): cal/molK;

Un lucru foarte important este că toate structurile cercetate energia să fie minimă, cu prima derivată egală cu zero și stările de tranziție să aibă un punct de șa de ordin superior, cu o singură frecvență imaginară. De asemenea pentru aceste reacții s-a calculat și IRC.

Odată ce avem datele pentru toate speciile studiate se poate calcula parametrii termodinamici ce ne interesează (Tabelul 2).

Tabelul 2. Entalpia, Energia Gibbs și constanta de reacție pentru reacțiile studiate

	E_a kcal/mol	Entalpia ($\Delta_r H^\circ$) kcal/mol	Energia Gibbs ($\Delta_r G^\circ$) kcal/mol	Constanta de reacție (k) s ⁻¹
1a	11,07	-6,28	-7,53	$4,8 \times 10^7$
1b	7,47	-3,64	-5,52	$44,7 \times 10^7$

În primul rând s-a studiat profilul energetic al acestor două reacții de inițiere. În

Figura 2 este prezentat schematic profilul energetic al acestor reacții (**1a** și **1b**).

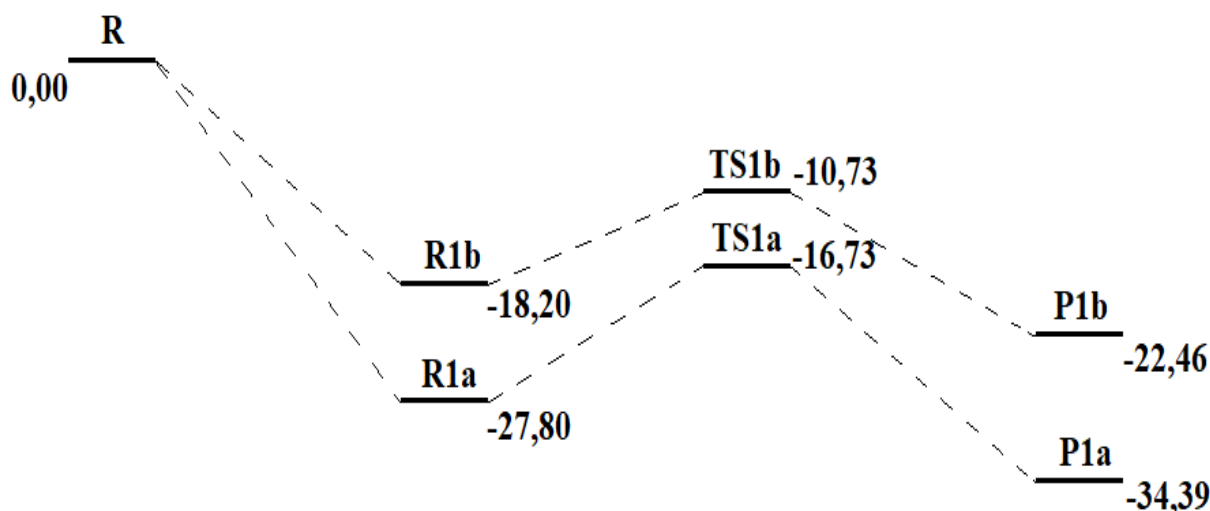


Fig. 2. Profilul energetic al primei etape (kcal/mol)

Calcululele arată că complexii pre-reacție (**R1a** și **R1b**) au respectiv o energie de legătură de -27,80 kcal/mol și -18,20 kcal/mol, energia stării de tranziție (**TS1a** și **TS1b**) fiind respectiv egale cu 11,07 kcal/mol și 7,47 kcal/mol. Au fost localizate stările de tranziție care corespunde transferului intermolecular al atomului de hidrogen de la acidul ascorbic pe radicalul DPPH[•]. Rezultatele au fost confirmate prin prezența unei frecvențe imaginare în starea de tranziție atât pentru (**1a**) cât și pentru (**1b**). Frecvențele imaginare au următoarele valori: -1525,97i cm⁻¹ pentru (**1a**) și -1436,64i cm⁻¹ pentru (**1b**).

Analizând profilul energetic al primei etape (Figura 2), indiferent ce grupă hidroxilică este implicată în reacție, s-a determinat că aceasta este una exotermă, cu un câștig de energie de 34,39 kcal/mol pentru prima reacție și respectiv pentru a doua de 22,46 kcal/mol.

Concluzii

Cercetarea se bazează pe abordarea teoretică complexă descrisă mai sus, aplicată studiului de neutralizare a radicalilor liberi sub influența unor antioxidanți. De asemenea, a fost stabilit mecanismul etapei inițiale a reacției de inhibare a radicalului liberi DPPH[•] sub acțiunea acidului ascorbic cu determinarea energiei de activare a acestei reacții cu două posibilități (**1a** și **1b**) de interacțiune a acidului ascorbic cu radicalul cercetat. Valorile corespunzătoare ale energiilor de activare sunt de 11,07 kcal/mol și 7,47 kcal/mol, la rândul său, confirmă facilitarea reacției (**1b**). din punct de vedere termodinamic aceste modalități de interacțiune sunt exoterme, cu un câștig de

energie de 34,39 kcal/mol pentru prima reacție și respectiv pentru a doua de 22,46 kcal/mol.

Această lucrare a fost realizată în cadrul proiectului de cercetare (20.80009.5007.27) „Mecanisme fizico-chimice ale proceselor redox cu transfer de electroni implicate în sistemele vitale, tehnologice și de mediu”.

Bibliografie

1. VANESSA C. SOUZA, FABIANA C. FIM, MARIA EDVANIA A. LIMA, AND LUCINEIDE B. SILVA. Antioxidant Effects of Vitamin C on Biomedical UHMWPE Compounds. *Macromol. Symp.* 2019, 383, 1800002.
2. OLIVEIRA, G.L.S. Determination in vitro of the antioxidant capacity of natural products by the DPPH* method: review study. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, 2015, v.17, n.1, p.36-44.
3. FRISCH V. F. et al. Gaussian 09, revision B.01. Gaussian, Inc., Wallingford, CT. 2009.
4. BECKE A. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J. Chem. Phys.* 1993, Vol. 98, pg. 5648-5652.
5. STEPHENS P. et al. Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields. *J. Phys. Chem.* 1994, Vol. 98, pg. 11623-11627.
6. JOSEPH W. Ochterski Thermochemistry in Gaussian, Gaussian, Inc. 2000.