

УДК 544.433.3 + 544.431.15 + 577.112.34

КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
АКТИВНОСТИ ГЛИЦИНА, ТРЕОНИНА И ИХ ДИПЕПТИДОВ
В ОТНОШЕНИИ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВЕ. Г. РАГОЙЖА^{1), 2)}, Е. М. ОВСЯННИКОВА¹⁾, И. Л. ЮРКОВА^{1), 2)}¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь²⁾Научно-исследовательский институт физико-химических проблем БГУ,
ул. Ленинградская, 14, 220006, г. Минск, Беларусь

Аннотация. Разработана методология проведения квантово-химических исследований антиоксидантной активности соединений различной природы. Выполнена сравнительная оценка реакционной способности глицина, треонина и их дипептидов в отношении активных частиц, рассчитанной методами теории функционала плотности и выявленной в тест-системах с использованием пероксильных радикалов ($\text{ROO}^\bullet$) и катион-радикалов 2,2'-азино-бис-(3-этилбензотиазолино-6-сульфоновой кислоты) ($\text{ABTS}^{+\bullet}$). Путем расчета термодинамических характеристик соответствующих радикалов установлены наиболее вероятные места отрыва атома водорода от молекул аминокислот и дипептидов в газовой фазе и водном растворе. Для оценки склонности соединений проявлять антиоксидантную активность по механизму переноса атома водорода рассчитаны энергии Гиббса реакций с радикалами $\text{HO}_2^\bullet$, $\text{ROO}^\bullet$ и $\text{HO}^\bullet$, а также барьеры активации термодинамически наиболее выгодных процессов отрыва атома водорода радикалом $\text{HO}_2^\bullet$. Способность соединений проявлять антиоксидантную активность по механизму передачи одного электрона оценивалась путем расчета адиабатических ионизационных потенциалов и энергий высшей занятой молекулярной орбитали. Ряды антиоксидантной активности исследованных соединений, построенные на основе рассчитанных дескрипторов, согласуются с экспериментальными данными. Анализ распределения электронной плотности в молекулах и радикалах объясняет экспериментально наблюдаемые различия в антиоксидантной активности глицина, глицил-глицина, треонина и его линейного и циклического дипептидов.

Ключевые слова: глицин; треонин; дипептиды; треонил-треонин; цикло(ди(треонин)); антирадикальная активность; теория функционала плотности; квантово-химический расчет.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования Республики Беларусь в рамках государственной программы научных исследований «Химические процессы и технологии» на 2026–2030 гг. (задание «Координационные и металлоорганические соединения как антибактериальные, антифунгальные, иммуномодулирующие и химиотерапевтические агенты»).

Образец цитирования:

Рагойжа Е.Г., Овсянникова Е.М., Юркова И.Л. Квантово-химическое исследование активности глицина, треонина и их дипептидов в отношении свободных радикалов. *Журнал Белорусского государственного университета. Химия*. 2026;1:45–60. EDN: FHMWLV

For citation:

Ragoyja EG, Ovsyannikova EM, Yurkova IL. Quantum-chemical study of the activity of glycine, threonine and their dipeptides in relation to free radicals. *Journal of the Belarusian State University. Chemistry*. 2026;1:45–60. Russian. EDN: FHMWLV

Авторы:

Екатерина Георгиевна Рагойжа – кандидат химических наук; доцент кафедры аналитической химии химического факультета¹⁾, старший научный сотрудник сектора химии свободнорадикальных процессов²⁾.

Екатерина Максимовна Овсянникова – аспирантка кафедры аналитической химии химического факультета. Научный руководитель – И. Л. Юркова.

Ирина Леонидовна Юркова – доктор химических наук, доцент; профессор кафедры аналитической химии химического факультета¹⁾, главный научный сотрудник сектора химии свободнорадикальных процессов²⁾.

Authors:

Ekaterina G. Ragoyja, PhD (chemistry); associate professor at the department of analytical chemistry, faculty of chemistry^a, and senior researcher at the sector of chemistry of free-radical processes^b.

kateragoyja@yandex.by

<https://orcid.org/0000-0002-8344-8438>

Ekaterina M. Ovsyannikova, postgraduate student at the department of analytical chemistry, faculty of chemistry.

che.ovsyanniemi1@bsu.by

Irina L. Yurkova, doctor of science (chemistry), docent; professor at the department of analytical chemistry, faculty of chemistry^a, and chief researcher at the sector of chemistry of free-radical processes^b.

yurkovail@bsu.by

<https://orcid.org/0000-0003-0790-0792>

QUANTUM-CHEMICAL STUDY OF THE ACTIVITY OF GLYCINE, THREONINE AND THEIR DIPEPTIDES IN RELATION TO FREE RADICALS

E. G. RAGOYJA^{a, b}, E. M. OVSYANNIKOVA^a, I. L. YURKOVA^{a, b}

^aBelarusian State University, 4 Niezaliezhnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

^bResearch Institute for Physical Chemical Problems, Belarusian State University,
14 Leningradskaja Street, Minsk 220006, Belarus

Corresponding author: E. G. Ragoyja (kateragoyja@yandex.by)

Abstract. A methodology for quantum-chemical studies of the antioxidant activity of compounds of various nature has been developed. Reactivity of glycine, threonine and their dipeptides with respect to active species obtained in test systems using peroxy radicals ($\text{ROO}^\bullet$) and cation radicals of 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ($\text{ABTS}^{\bullet+}$) has been compared with the results of calculations. The most probable sites of hydrogen atom abstraction from amino acids and dipeptides molecules in the gas phase and aqueous solution has been determined by calculating the thermodynamic characteristics of the corresponding radicals. To assess the tendency of compounds to exhibit antioxidant activity via the hydrogen atom transfer mechanism, the Gibbs energies of reactions with $\text{HO}_2^\bullet$, $\text{ROO}^\bullet$ and $\text{HO}^\bullet$ radicals, as well as the activation barriers for the thermodynamically most favourable processes of hydrogen atom abstraction by the $\text{HO}_2^\bullet$ radical, has been calculated. The ability of the compounds to exhibit antioxidant activity via the single electron transfer mechanism has been assessed by calculating adiabatic ionisation potentials and the energies of the highest occupied molecular orbital. The antioxidant activity series of the studied compounds, constructed based on the calculated descriptors, are consistent with experimental data. Analysis of the electron density distribution in molecules and radicals has made it possible to explain the experimentally observed differences in the antioxidant activity of glycine, glycyl-glycine, threonine and its linear and cyclic dipeptides.

Keywords: glycine; threonine; dipeptides; threonyl-threonine; cyclo(di(threonine)); antiradical activity; density functional theory; quantum-chemical calculation.

Acknowledgements. This work was carried out with the financial support of the Ministry of Education of the Republic of Belarus within the framework of the state programme of scientific research «Chemical processes and technologies» for 2026–2030 (assignment «Coordination and organometallic compounds as antibacterial, antifungal, immunomodulatory and chemotherapeutic agents»).

Введение

Антиоксиданты (соединения, способные превращать активные радикальные частицы в стабильные неактивные продукты) широко используются в медицине и фармакологии для коррекции окислительного стресса и обусловленных им патологий [1], в пищевой промышленности для усовершенствования технологий производства и хранения пищевых продуктов [2], а также при производстве средств бытовой и косметической химии [3]. В настоящее время большое внимание уделяется изучению антиоксидантных свойств различных производных аминокислот, включая пептиды. Биоактивные пептиды выполняют широкий спектр функций в организме человека, а их синтетические аналоги успешно применяются в качестве лекарственных средств различного действия [4]. Активное использование пептидов требует выявления наиболее важных аминокислотных последовательностей, отвечающих за определенные биохимические свойства соединения. С этой точки зрения особенно востребованными становятся исследования, направленные на сравнительный анализ антиоксидантной активности свободных аминокислот, а также их остатков в различных положениях пептидной цепи (центральные фрагменты, N- и C-концевые аминокислотные остатки).

При изучении антиоксидантной активности соединений, обусловленной их прямым взаимодействием со свободными радикалами, наиболее часто применяют следующие методы:

- метод ORAC (*oxygen radical absorption capacity* – поглощающая способность кислородных радикалов), основанный на конкурентном взаимодействии антиоксиданта и флуоресцентного зонда с пероксильными радикалами ($\text{ROO}^\bullet$) [5; 6];
- метод TEAC (*trolox equivalent antioxidant capacity* – антиоксидантная способность в эквивалентах тролокса), который базируется на использовании колориметрического зонда – устойчивого катион-радикала 2,2'-азино-бис-(3-этилбензотиазолино-6-сульфоновой кислоты) ($\text{ABTS}^{\bullet+}$), способного изменять окраску в результате восстановления добавленным антиоксидантом [7].

В обоих методах в качестве стандартных антиоксидантов применяют тролокс (водорастворимый синтетический аналог витамина E) и аскорбиновую кислоту. Механизм проявления антиоксидантной

активности исследуемого соединения в тест-системах ORAC и TEAC может отличаться [8], что, с одной стороны, позволяет выяснить наиболее предпочтительный механизм действия потенциального антиоксиданта, а с другой стороны, усложняет однозначную интерпретацию результатов.

Для выявления факторов, определяющих изменение антиоксидантных свойств соединения в различных условиях, целесообразно привлекать квантово-химическое моделирование. Анализ результатов квантово-химических расчетов может позволить установить соотношения «структура – свойство» и впоследствии осуществлять рациональный дизайн структур с требуемыми свойствами. В частности, в объяснении нуждаются закономерности изменения антиоксидантной активности в рядах аминокислот и дипептидов, установленные нами ранее в исследованиях *in vitro* с применением методов ORAC и TEAC [9]. Исходя из этого, целью данной работы являлось квантово-химическое моделирование взаимодействия аминокислот, дипептидов и стандартных антиоксидантов с радикальными частицами в условиях экспериментов ORAC и TEAC, а также выявление причин экспериментально установленных закономерностей изменения антиоксидантной активности исследуемых соединений.

Методика расчетов

Для проведения расчетов была выбрана теория функционала плотности (*density functional theory*, DFT). Данный уровень теории является наиболее широко представленным в современных квантово-химических исследованиях и позволяет получать разнообразные расчетные данные при относительно небольших затратах компьютерного времени (по сравнению, например, с теорией связанных кластеров). Все расчеты выполнялись с использованием гибридного функционала TPSSh [10], который продемонстрировал способность с высокой точностью предсказывать геометрические и энергетические характеристики органических соединений различной структуры и металлокомплексов [10–12]. Учитывая наличие в изучаемых соединениях только легких атомов, для расчетов был выбран трехкратно расщепленный базисный набор Попла с добавлением поляризационных и диффузных функций (6-311+G*) [13; 14]. В литературе упоминается, что эффективное исследование антиоксидантной активности возможно с применением и меньших базисных наборов [15]. Склонность аминокислот и дипептидов отдавать атом водорода и электрон оценивалась в газовой фазе и водном растворе. Расчеты в газовой фазе не имеют большого значения с точки зрения моделирования физиологических условий, однако они позволяют выявить важные для понимания механизма антиоксидантного действия закономерности влияния полярной среды и наличия заряженных групп у молекулы аминокислоты на распределение электронной плотности и относительную стабильность образующихся радикалов. Для учета сольватационных эффектов в растворе использовалась континуумная модель растворителя SMD [16]. Для всех исследуемых структур проводился конформационный анализ, природа стационарных точек доказывалась путем расчета колебательных частот. Термодинамические характеристики рассчитывались для температуры 298 К.

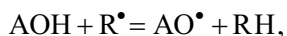
Квантово-химическое моделирование экспериментов по изучению антиоксидантной активности

В литературе отсутствует единый подход к проведению квантово-химических исследований антиоксидантной активности соединений. Многие работы такого типа базируются на применении метода QSAR (*quantitative structure – activity relationship* – поиск количественных соотношений «структура – свойство»), который основан на использовании большого массива соединений с изученными антиоксидантными свойствами и расчете для них различных дескрипторов антиоксидантных свойств [17]. В качестве подобных дескрипторов часто выбираются наиболее доступные характеристики: длины связей, валентные углы, малликовские заряды на атомах и др. [18]. Данный подход оправдан при наличии ряда родственных соединений с близкой структурой, одинаковым механизмом антирадикального действия и единым реакционным центром (например, ряд замещенных фенолов). В случае же моделирования аминокислот и пептидов природа боковых групп аминокислоты оказывает значительное влияние на антиоксидантные свойства, кроме того, в молекулах разных аминокислот отличаются наиболее предпочтительные сайты радикальной атаки. Следовательно, такой обобщающий подход не применим к объектам на основе аминокислотных остатков. Более рациональным подходом является сопоставление «универсальных» характеристик антирадикальной активности, таких как термодинамические (изменение энергии Гиббса) и кинетические (барьеры активации) характеристики конкретных элементарных реакций взаимодействия исследуемого соединения с радикальной частицей. Естественно, что сопоставление с экспериментальными данными по антирадикальной активности возможно при рассмотрении указанных характеристик и для выбранного стандартного вещества (тролокс или аскорбиновая кислота).

Механизм антиоксидантного действия аминокислот в экспериментах ORAC и TEAC наиболее часто сводится к одному из двух вариантов – переносу атома водорода (*hydrogen atom transfer*, HAT) или передаче одного электрона (*single electron transfer*, SET). В экспериментах ORAC с помощью азоинициатора генерируются пероксильные радикалы, которые чаще взаимодействуют с антиоксидантами по механизму HAT. Взаимодействие же антиоксидантов с катион-радикалами АБТС^{•+} (эксперимент TEAC) характеризуется смешанным механизмом, который, кроме преобладающего механизма SET, может включать механизм HAT, а также механизмы, предполагающие стадии переноса протона [8]. Учитывая ионизированное состояние аминокислот в водных растворах, механизмы, которые включают перенос протона и являются более характерными для фенольных антиоксидантов, в данной работе не рассматривались.

Для оценки способности антиоксиданта действовать по механизму HAT первоначально необходимо установить наиболее предпочтительные сайты радикальной атаки молекулы. В целях сравнения стабильности образующихся радикалов рассчитывалась их относительная энергия Гиббса как разность рассчитанных энергий Гиббса оптимизированной структуры данного радикала и наиболее стабильного из образующихся радикалов. Далее для наиболее предпочтительных сайтов радикальной атаки рассчитывались энергии Гиббса переноса атома водорода с данной молекулы антиоксиданта на активную радикальную частицу. С учетом характера проведенных экспериментальных исследований в качестве атакующих активных радикалов были рассмотрены гидропероксидный (HO₂[•]), пероксильный (ROO[•], где R – остаток азоинициатора 2,2'-азо-*bis*-(2-амидинопропан)дигидрохлорида) и наиболее активный гидроксильный (HO[•]) радикалы.

В работе изучены реакции следующего типа:



где AOH – антиоксидант (аминокислота или стандартное соединение); R[•] – активный радикал (HO₂[•], ROO[•] или HO[•]).

Изменение энергии Гиббса рассчитывалось для температуры 298 К по формуле

$$\Delta G_r^{\circ} = G^{\circ}(\text{RH}) + G^{\circ}(\text{AO}^{\bullet}) - G^{\circ}(\text{R}^{\bullet}) - G^{\circ}(\text{AOH}).$$

Для оценки относительной скорости переноса атома водорода (механизм HAT) проводилась оптимизация переходных состояний (ПС) элементарных реакций отрыва атома водорода с участием радикала HO₂[•]. Барьер активации соответствующего процесса отрыва атома водорода рассчитывался по формуле

$$\Delta G^{\ddagger} = G^{\circ}(\text{ПС}) - G^{\circ}(\text{HO}_2^{\bullet}) - G^{\circ}(\text{AOH}).$$

В целях учета различий в стандартных состояниях (идеальный газ и водный раствор) при расчетах энергетических барьеров в растворе вводилась поправка $RT \ln V_m$, которая для идеального газа при температуре 298 К составляет 7,93 кДж/моль.

Оценка способности изучаемых соединений отдавать электрон (механизм SET) проводилась путем расчета адиабатических ионизационных потенциалов при температуре 298 К. Ионизационный потенциал (IP) рассчитывался как разность энтальпий катион-радикала и исходной молекулы:

$$\text{IP} = H^{\circ}(\text{AOH}^{\bullet+}) - H^{\circ}(\text{AOH}),$$



Поскольку рассчитывались адиабатические, а не вертикальные величины ионизационного потенциала, проводилась оптимизация геометрии всех катион-радикалов. Кроме ионизационных потенциалов, хорошим дескриптором восстановительной способности соединений является энергия высшей занятой молекулярной орбитали (ВЗМО). С ростом энергии ВЗМО склонность соединения отдавать электрон в реакциях увеличивается. В случае с ионизационным потенциалом наблюдается обратная закономерность: соединения с меньшим ионизационным потенциалом легче отдают электрон.

Результаты и их обсуждение

Квантово-химическое моделирование антиоксидантной активности требует наличия расчетных данных для стандартных веществ – тролокса и аскорбиновой кислоты, которые традиционно используются в экспериментах ORAC и TEAC вне зависимости от структуры исследуемых соединений. При проведении расчетов в водном растворе как для тролокса, так и для аскорбиновой кислоты рассматривалась моноанионная форма соединений, поскольку согласно экспериментальным величинам показателя константы кислотности карбоксильная группа тролокса ($pK_a \sim 3,9$) [19] и OH-группа аскорбиновой кислоты ($pK_a \sim 4,2$) [20] ионизированы при физиологических значениях pH (7,4).

Для обоих соединений были рассчитаны относительные энергии Гиббса всех радикальных частиц, образующихся при отрыве атома водорода в газовой фазе и водном растворе (рис. 1).

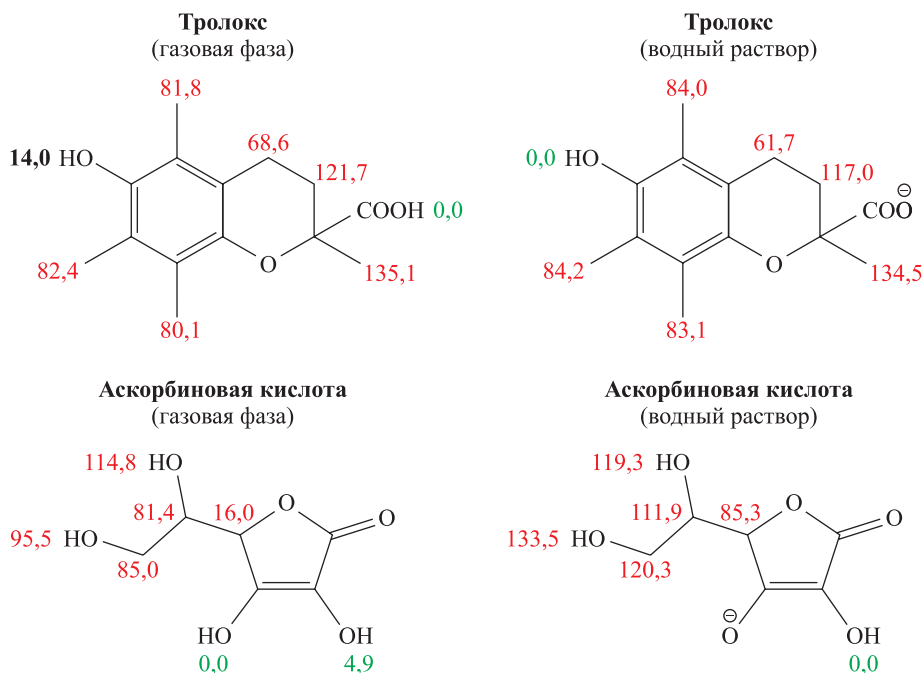


Рис. 1. Относительные энергии Гиббса радикальных частиц, полученных при отрыве атома водорода от тролокса и аскорбиновой кислоты в газовой фазе и водном растворе, кДж/моль

Fig. 1. Relative Gibbs energies of radical species obtained by hydrogen atom abstraction from trolox and ascorbic acid in the gas phase and aqueous solution, kJ/mol

Для наиболее предпочтительных сайтов радикальной атаки рассчитаны величины изменения энергии Гиббса при взаимодействии с активными радикалами, а также барьеры активации отрыва атома водорода радикалом $\text{HO}_2^\bullet$ (табл. 1). Как и следовало ожидать, отрыв атома водорода от стандартных соединений является термодинамически выгодным как в водном растворе, так и в газовой фазе, а соответствующие элементарные реакции характеризуются крайне низкими барьерами активации (20–30 кДж/моль).

Далее была проведена оптимизация геометрии исследуемых аминокислот – глицина и L-треонина – в газовой фазе и водном растворе. В водном растворе также учитывалась возможность существования аминокислот в двух таутомерных формах – «нейтральной» и цвиттер-ионной. Согласно проведенным расчетам (рис. 2) как для глицина, так и для треонина доминирующей является цвиттер-ионная форма (термодинамически стабильнее примерно на 40 кДж/моль), что согласуется с экспериментальными данными [21]. Важной особенностью, которую необходимо учитывать при проведении расчетов для аминокислот и их производных, выступает возможность образования водородных связей, способных стабилизировать структуры (в том числе и свободнорадикальные). Сравнение относительных энергий Гиббса конформеров аминокислот с водородной связью и без нее в газовой фазе (конформеры 1 и 2 глицина; конформеры 1 и 3 и конформеры 2 и 4 треонина) и водном растворе (цвиттер-ионы 1 и 2 треонина) подтверждает необходимость учета данной особенности. Для дальнейших расчетов были выбраны наиболее стабильные конформеры в каждом случае.

На рис. 3 представлены относительные энергии Гиббса радикальных частиц, образующихся в результате отрыва различных атомов водорода от молекулы аминокислоты в газовой фазе и водном растворе. В газовой фазе как для глицина, так и для треонина термодинамически наиболее предпочтительным сайтом радикальной атаки является карбоксильная группа, отрыв атома водорода от которой приводит к образованию промежуточного O-центрированного радикала с последующим отщеплением молекулы углекислого газа (CO_2). Изменение энтальпии данного процесса является положительным, выигрыш в энергии Гиббса обеспечивается энтропийным фактором. Следует отметить, что, как и в случае с карбоксилат-ионом, стабильность подобного радикала достигается за счет делокализации электронной плотности с участием обоих атомов кислорода. Склонность аминокислот к декарбоксилированию в условиях, способствующих образованию радикальных частиц, подтверждается экспериментально и используется в синтетических целях [22]. Радикал, образующийся в результате отрыва атома водорода от α -атома углерода, отличается меньшей термодинамической стабильностью (доля таких радикальных частиц составляет около 0,1 % при наличии равновесия между радикалами). Отрыв атома водорода от аминогруппы с образованием N-центрированного радикала и отрыв атома водорода от спиртовой группы треонина являются крайне невыгодными по причине высокой электроотрицательности данных гетероатомов и отсутствия путей делокализации спиновой плотности.

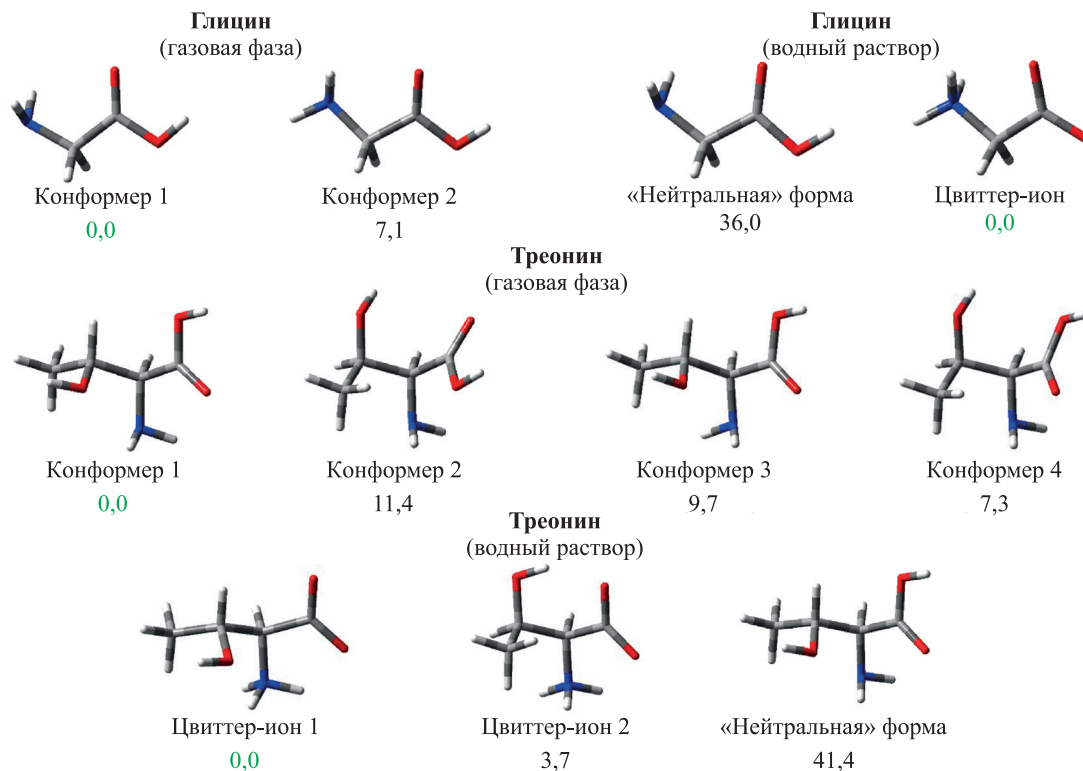


Рис. 2. Оптимизированные структуры различных конформеров глицина и треонина в газовой фазе и водном растворе и соответствующие им относительные энергии Гиббса, кДж/моль

Fig. 2. Optimised structures of different conformers of glycine and threonine in the gas phase and aqueous solution and their corresponding relative Gibbs energies, kJ/mol

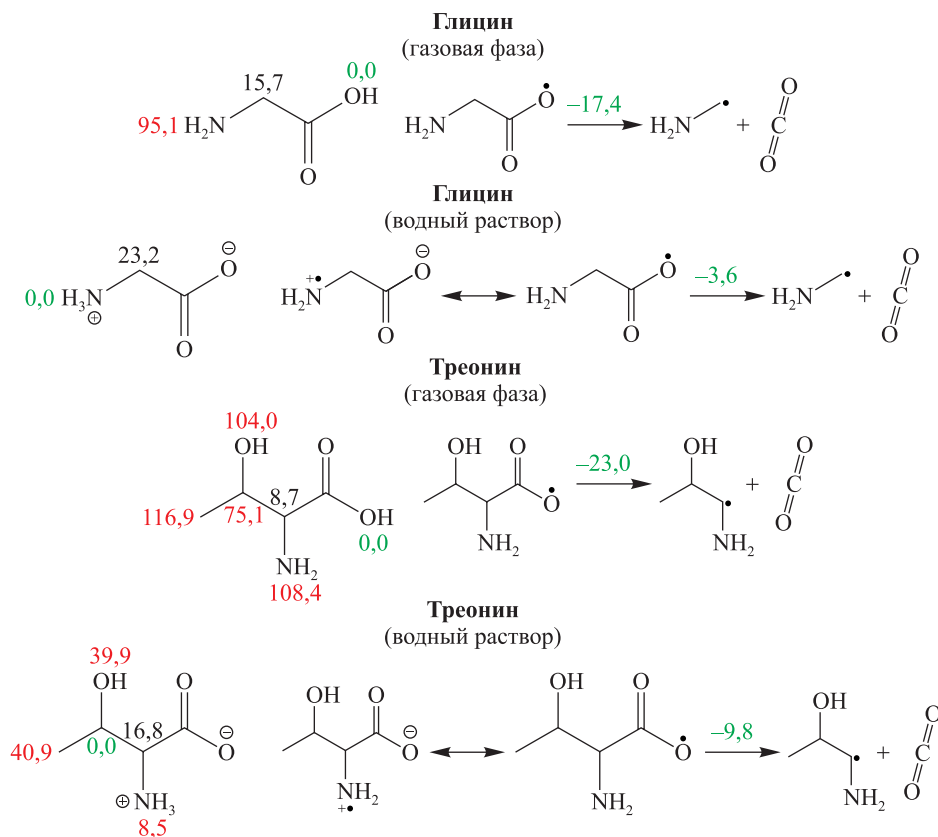


Рис. 3. Относительные энергии Гиббса радикальных частиц, полученных при отрыве атома водорода от глицина и треонина в газовой фазе и водном растворе, кДж/моль

Fig. 3. Relative Gibbs energies of radical species obtained by hydrogen atom abstraction from glycine and threonine in the gas phase and aqueous solution, kJ/mol

В случае с водным раствором различия в распределении электронной плотности в «нейтральной» (аналогичной газовой фазе) и цвиттер-ионной формах аминокислот приводят к изменениям в ряду стабильности радикалов. Так, в целом отрыв атома водорода от α -атома углерода становится менее выгодным ввиду наличия электрондефицитной NH_3^+ -группы с отрицательным индуктивным эффектом. Отрыв атома водорода от протонированной аминогруппы цвиттер-иона приводит к образованию радикала, стабилизированного за счет эффекта гомоконъюгации (гомосопряжения) с участием CH_2 -группы. В общем случае под гомосопряжением понимают взаимное влияние (перекрывание) π -орбиталей не напрямую, а через мостик. Данный эффект отражают резонансные структуры соответствующих радикалов (см. рис. 3) и подтверждают изображения поверхности ВЗМО этих радикалов (рис. 4). Анализ поверхностей ВЗМО показывает, что образуется единая π -система, эффективно делокализующая неспаренный электрон. Данный вывод подтверждается изменением величин частичных малликовских зарядов на атомах и дипольного момента в радикале по сравнению с таковыми в цвиттер-ионе (для цвиттер-иона дипольный момент составляет 15,0 Д, а для радикала – 7,8 Д). В случае с «нейтральной» формой аминокислоты гомосопряжение в соответствующих радикальных частицах является менее эффективным из-за невозможности делокализации спиновой плотности с участием протонированного атома кислорода карбоксильной группы, а также отсутствия еще одного атома водорода у атома азота.

Следует отметить, что эффект гомоконъюгации был описан для других классов соединений [23] и потенциально рассматривался как возможный для объяснения относительной реакционной способности аминокислотных остатков [24], однако это предположение не было подтверждено путем квантово-химического исследования электронного строения подобных частиц.

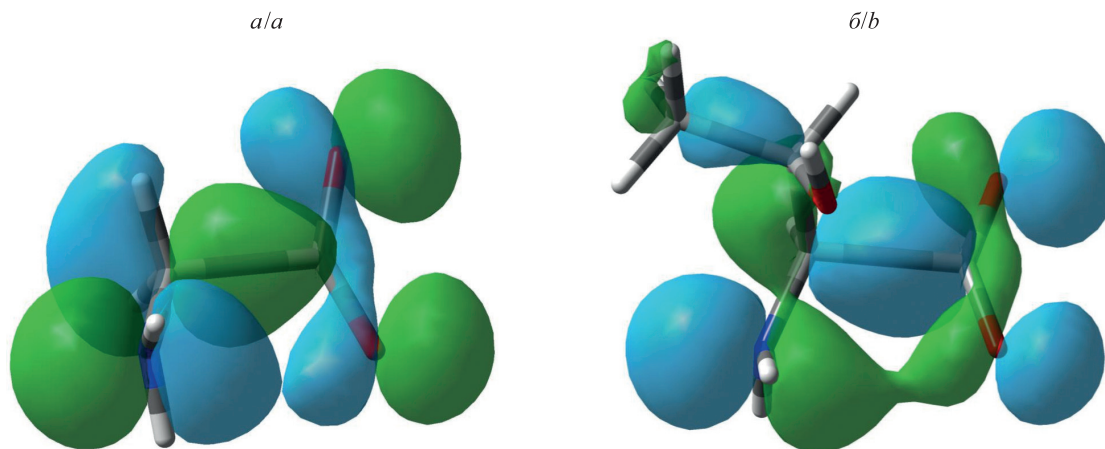


Рис. 4. Изоповерхности однократно занятых молекулярных орбиталей радикалов глицина (а) и треонина (б), полученных при отрыве атома водорода от аминогруппы цвиттер-иона в водном растворе

Fig. 4. Isosurfaces of the singly occupied molecular orbitals of glycine (a) and threonine (b) radicals obtained by hydrogen atom abstraction from the amino group of a zwitterion in aqueous solution

Таким образом, в водном растворе для глицина остаются лишь два возможных сайта радикальной атаки, при этом термодинамически более выгодным является отрыв атома водорода от протонированной аминогруппы с последующим отщеплением CO_2 . В случае с треонином наиболее предпочтительно образование радикала у атома углерода, связанного с гидроксильной группой. Повышенная устойчивость данного радикала объясняется как стабилизацией за счет неподеленной электронной пары атома кислорода ОН-группы, так и гиперконъюгацией с соседними связями $\text{C}—\text{H}$.

Далее для каждой аминокислоты рассматривались наиболее предпочтительные сайты атаки активной радикальной частицей, для которых по аналогии со стандартными соединениями были рассчитаны изменения энергии Гиббса соответствующих реакций и барьеры активации взаимодействия с радикалом $\text{HO}_2^\bullet$ (см. табл. 1). Как видно из представленных в табл. 1 данных, для аминокислот в газовой фазе термодинамически наиболее выгоден отрыв атома водорода от COOH -групп с последующим отщеплением CO_2 , протекающий также с наибольшей скоростью (с наименьшим барьером активации). Эти процессы характеризуются отрицательным значением ΔG_r° для всех рассмотренных активных радикалов. При переходе к водному раствору термодинамически выгодными остаются лишь реакции

с участием наиболее активного радикала $\text{HO}^\bullet$, при этом для глицина наиболее предпочтительной как с точки зрения термодинамики, так и с точки зрения кинетики является атака по протонированной аминогруппе с отщеплением CO_2 , а для треонина – атака по атому углерода боковой цепи. Сравнение с тролоксом и аскорбиновой кислотой позволяет заключить, что исследованные аминокислоты обладают меньшей склонностью к отрыву атома водорода, чем стандартные соединения в газовой фазе, и значительно меньшей, чем стандартные соединения в водном растворе. Данные закономерности можно отразить в следующих рядах: тролокс $\geq$ аскорбиновая кислота (AscH_2) > треонин > глицин в газовой фазе; аскорбат (AscH^-) $\approx$ тролокс $\gg$ треонин > глицин в водном растворе.

Таблица 1

Термодинамические и кинетические характеристики
процессов взаимодействия аминокислот и стандартных соединений
с некоторыми активными радикальными частицами

Table 1

Thermodynamic and kinetic characteristics
of the interactions of amino acids and standard compounds
with certain active radical species

АОН	Процесс	ΔG_r° , кДж/моль			$\Delta G^\ddagger$, кДж/моль
		$\text{АОН} + \text{HO}_2^\bullet$	$\text{АОН} + \text{ROO}^\bullet$	$\text{АОН} + \text{HO}^\bullet$	$\text{АОН} + \text{HO}_2^\bullet$
Газовая фаза					
Глицин	Отрыв от α -атома углерода	–7,8	–5,1	–143,3	77,8
	Отрыв от карбоксильной группы	–23,5 (–40,8)	–20,7 (–38,1)	–159,0 (–176,3)	71,0
Треонин	Отрыв от α -атома углерода	–22,7	–20,0	–158,2	72,5
	Отрыв от карбоксильной группы	–31,4 (–54,3)	–28,6 (–51,6)	–166,9 (–189,9)	65,8
	Отрыв от атома углерода, связанного с ОН-группой	+43,7	+46,4	–91,8	97,3
Тролокс	Отрыв от фенольной группы	–31,3	–28,6	–166,8	30,3
	Отрыв от карбоксильной группы	–45,3 (–65,0)	–42,6 (–62,2)	–180,8 (–200,5)	46,9
Аскорбиновая кислота	Отрыв от 2-ОН-группы	–17,9	–15,1	–153,4	42,1
	Отрыв от 3-ОН-группы	–22,8	–20,0	–158,3	35,6
	Отрыв от третичного атома углерода цикла	–6,8	–4,0	–142,3	111,3
Водный раствор					
Глицин	Отрыв от α -атома углерода	+70,6	+75,7	–69,7	126,1
	Отрыв от протонированной аминогруппы	+47,3 (+43,7)	+52,5 (+48,9)	–93,0 (–96,6)	103,3
Треонин	Отрыв от α -атома углерода	+53,0	+58,1	–87,3	123,7
	Отрыв от протонированной аминогруппы	+44,7 (+26,4)	+49,8 (+31,5)	–95,6 (–113,9)	111,0
	Отрыв от атома углерода, связанного с ОН-группой	+36,1	+41,3	–104,1	92,3
Тролокс	Отрыв от фенольной группы	–58,3	–53,1	–198,6	26,0
Аскорбиновая кислота	Отрыв от 2-ОН-группы	–76,1	–71,0	–216,4	20,5

Примечание. В скобках указаны величины изменения энергии Гиббса для суммарной реакции с отщеплением CO_2 .

С учетом закономерностей, выявленных для индивидуальных аминокислот, были проведены расчеты аналогичных величин для дипептидов, исследованных нами ранее в химических тест-системах [9]. Оптимизированные структуры различных конформеров дипептидов и соответствующие им относительные энергии Гиббса представлены на рис. 5. В ходе расчетов рассматривались дипептиды треонина с сохранением L-конфигурации. Как и в случае с аминокислотами, в водном растворе учитывалась возможность существования дипептидов в «нейтральной» и цвиттер-ионной формах. Цвиттер-ионы также оказались термодинамически более стабильными и, как следствие, преобладающими в водном растворе.

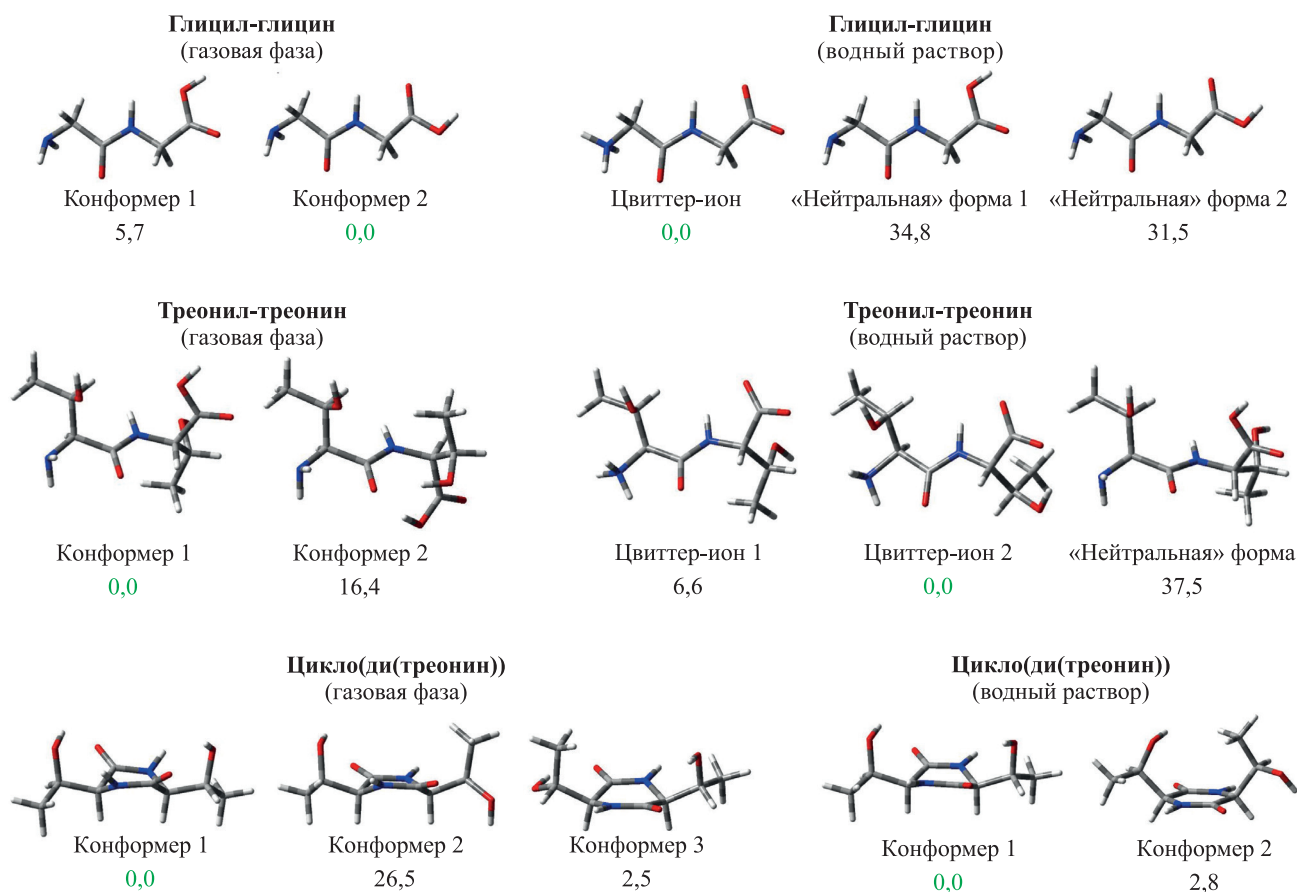


Рис. 5. Оптимизированные структуры различных конформеров дипептидов в газовой фазе и водном растворе и соответствующие им относительные энергии Гиббса, кДж/моль

Fig. 5. Optimised structures of different dipeptide conformers in the gas phase and aqueous solution and their corresponding relative Gibbs energies, kJ/mol

Образование водородных связей оказывает стабилизирующее действие на соответствующие структуры. Для треонил-треонина наиболее устойчивым является конформер цвиттер-ионной формы, в котором атомы кислорода карбоксильной группы одновременно образуют водородные связи с ОН-группой боковой цепи и с NH-группой пептидной связи. Однако в газовой фазе образованию водородной связи с карбоксильной группой пептидной связи в «нейтральной» форме треонил-треонина препятствуют стерические затруднения. Для циклического дипептида треонина в газовой фазе характерно образование двух водородных связей боковых ОН-групп с атомами кислорода пептидных связей. Цикл дипептида неплоский, минимум на поверхности потенциальной энергии, соответствующий планарной геометрии (как в водном растворе у конформера 2), отсутствует.

Далее, как и в случае с аминокислотами, были проведены оптимизация геометрии дипептидов и расчет термодинамических функций всех радикальных частиц, которые могут быть получены путем отрыва атома водорода от молекулы. Относительные энергии Гиббса соответствующих радикалов представлены на рис. 6. Для всех изученных дипептидов наиболее предпочтительным является отрыв атома водорода от α -атома углерода аминокислотного остатка, так как образующийся радикал стабилизируется за счет делокализации с участием π -системы молекулы, а также гомоконъюгации (рис. 7, а и б). В случае с линейными дипептидами интерес представляет смена наиболее стабильного радикала при переходе из

газовой фазы в среду водного раствора. В газовой фазе радикал, полученный при отрыве атома водорода от α -атома углерода N-концевого остатка аминокислоты, термодинамически стабильнее радикала, полученного при отрыве от α -атома углерода C-концевого остатка. В водном растворе наблюдается строго противоположная закономерность ввиду существования дипептида в цвиттер-ионной форме. Наличие электроноакцепторной NH_3^+ -группы по соседству с радикальным центром дестабилизирует структуру. Данный вывод подтверждается рассчитанными величинами спиновой плотности по Малликену на атомах соответствующих радикалов в газовой фазе и водном растворе. Как видно из рис. 7, *в-е*, при отрыве атома водорода от α -атома углерода N-концевого остатка аминокислоты спиновая плотность в гораздо большей степени локализована на соответствующем атоме углерода в случае с водным раствором.

Кроме того, интерес представляет склонность некоторых образующихся радикальных частиц к дальнейшей деструкции. Так, радикалы, полученные в результате отрыва атома водорода от NH-группы пептидной связи линейных дипептидов, склонны отщеплять CO_2 (изменение энергии Гиббса составляет $-24,4$ кДж/моль для глицил-глицина и $-47,3$ кДж/моль для треонил-треонина). Следует отметить, что даже с учетом деструкции данных радикалов соответствующие места отрыва атома водорода остаются термодинамически менее выгодными, чем атака по α -атому углерода.

В табл. 2 приведены рассчитанные термодинамические и кинетические характеристики процессов отрыва атома водорода от дипептидов с участием активных радикальных частиц. Анализ величин барьеров активации и энергий Гиббса отрыва атома водорода позволяет построить следующие ряды относительной активности дипептидов: тролокс > треонил-треонин > глицил-глицин > цикло(ди(треонин)) в газовой фазе; тролокс > треонил-треонин > цикло(ди(треонин)) > глицил-глицин в водном растворе.

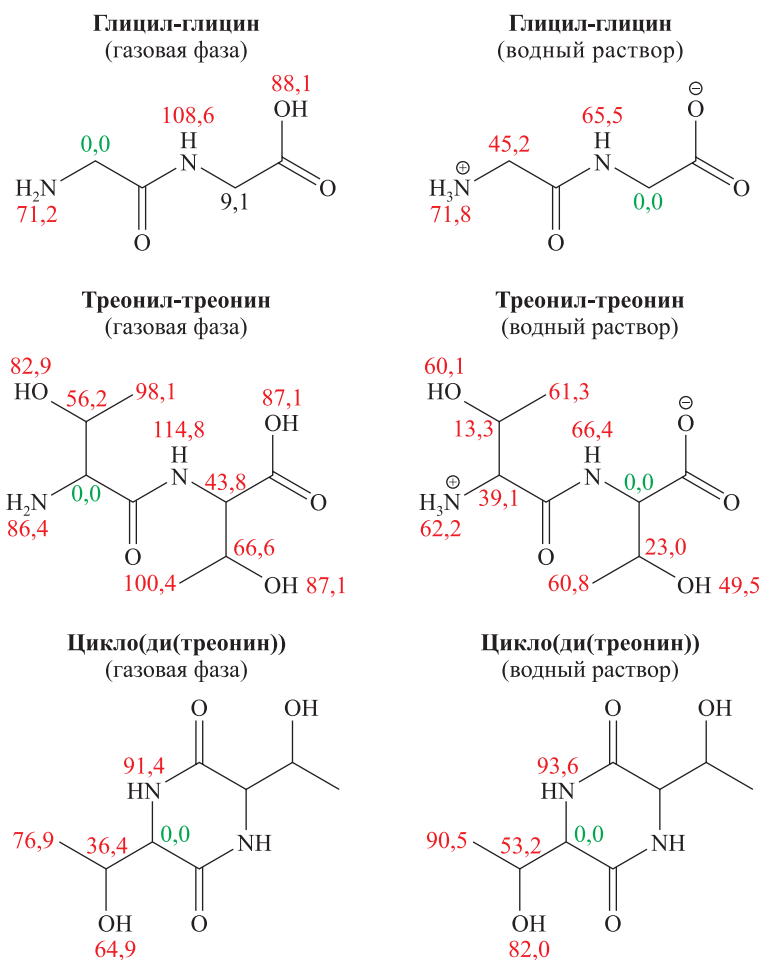


Рис. 6. Относительные энергии Гиббса радикальных частиц, полученных при отрыве атома водорода от дипептидов в газовой фазе и водном растворе, кДж/моль

Fig. 6. Relative Gibbs energies of radical species obtained by hydrogen atom abstraction from dipeptides in the gas phase and aqueous solution, kJ/mol

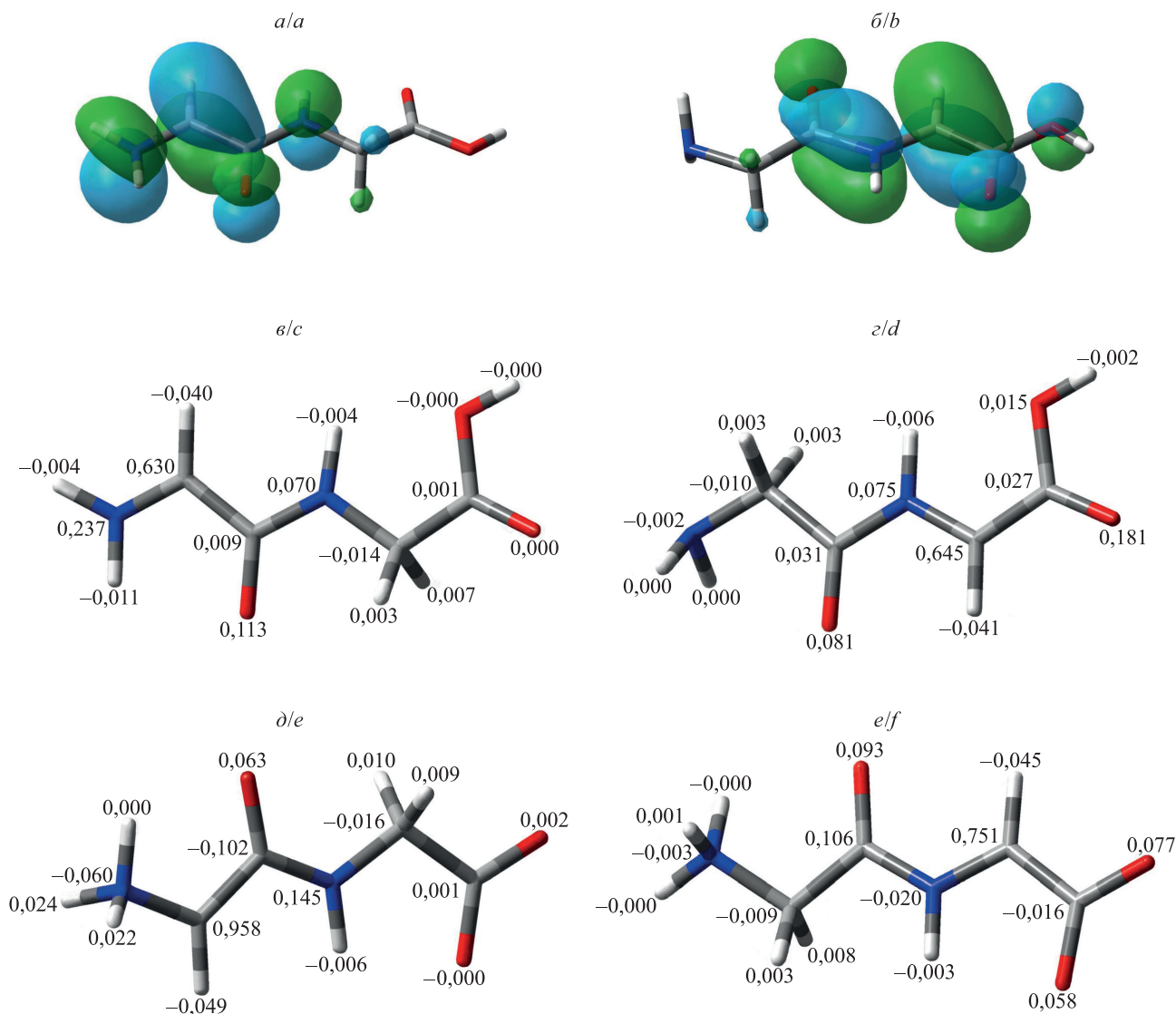


Рис. 7. Изоповерхности однократно занятых молекулярных орбиталей радикалов глицил-глицина, полученных при отрыве атома водорода от α -атома углерода N-концевого (а) и С-концевого (б) аминокислотных остатков. Расчетные значения спиновой плотности по Малликену в радикалах глицил-глицина, полученных при отрыве атома водорода от α -атома углерода N-концевого (в, д) и С-концевого (е, ф) аминокислотных остатков в газовой фазе (в, е) и водном растворе (д, ф)

Fig. 7. Isosurfaces of the singly occupied molecular orbitals of glycyl-glycine radicals obtained by hydrogen atom abstraction from the α -carbon atom of the N-terminal (a) and C-terminal (b) amino acid residues. Calculated values of the Mulliken spin density in glycyl-glycine radicals obtained by hydrogen atom abstraction from the α -carbon atom of the N-terminal (c, d) and C-terminal (e, f) amino acid residues in the gas phase (c, e) and aqueous solution (d, f)

Таблица 2

Термодинамические и кинетические характеристики
процессов взаимодействия дипептидов
с некоторыми активными радикальными частицами

Table 2

Thermodynamic and kinetic characteristics
of the interactions of dipeptides with certain active radical species

АОН	Процесс	ΔG_r° , кДж/моль			$\Delta G^\ddagger$, кДж/моль
		АОН + $\text{HO}_2^\bullet$	АОН + $\text{ROO}^\bullet$	АОН + $\text{HO}^\bullet$	АОН + $\text{HO}_2^\bullet$
Газовая фаза					
Глицил-глицин	Отрыв от α -атома углерода N-концевого остатка	−1,70	+1,06	−137,2	63,3
	Отрыв от α -атома углерода C-концевого остатка	+7,5	+10,2	−128,1	79,6
Треонил-треонин	Отрыв от α -атома углерода N-концевого остатка	−12,8	−10,0	−148,3	63,4
	Отрыв от α -атома углерода C-концевого остатка	+31,1	+33,8	−104,4	114,2
	Отрыв от атома углерода, связанного с ОН-группой N-концевого остатка	+43,4	+46,2	−92,1	87,8
Цикло(ди(треонин))	Отрыв от α -атома углерода	+9,9	+12,7	−125,6	76,9
	Отрыв от атома углерода, связанного с ОН-группой	+46,3	+49,0	+89,2	97,2
Водный раствор					
Глицил-глицин	Отрыв от α -атома углерода N-концевого остатка	+63,6	+68,7	−76,7	127,9
	Отрыв от α -атома углерода C-концевого остатка	+18,4	+23,5	−121,9	82,7
Треонил-треонин	Отрыв от α -атома углерода N-концевого остатка	+8,20	+13,4	−132,1	129,5
	Отрыв от α -атома углерода C-концевого остатка	−30,9	−25,7	−171,2	87,4
	Отрыв от атома углерода, связанного с ОН-группой N-концевого остатка	−17,6	−12,5	−157,9	78,6
Цикло(ди(треонин))	Отрыв от α -атома углерода	−15,2	−10,1	−155,5	74,1
	Отрыв от атома углерода, связанного с ОН-группой	+37,9	+43,1	−102,4	76,5

Исходя из данных, представленных в табл. 1 и 2, изученные соединения по их относительной активности в реакциях отрыва атома водорода (механизм НАТ) в водном растворе можно расположить в виде следующего ряда: тролокс > треонил-треонин > цикло(ди(треонин)) > глицил-глицин > треонин > глицин.

Для оценки склонности аминокислот и дипептидов к передаче электрона (механизм SET) анализировались расчетные значения энергии ВЗМО ($E_{\text{ВЗМО}}$) и адиабатического потенциала ионизации (табл. 3).

В случае с водным раствором анализ энергии ВЗМО и адиабатического ионизационного потенциала дает идентичный ряд активности соединений: тролокс $\approx$ аскорбат (AscH^-) $\geq$ треонил-треонин > глицил-глицин > глицин > треонин > цикло(ди(треонин)). Наименьшие различия (сопоставимые с погрешностью расчета) в значениях энергии ВЗМО и адиабатического ионизационного потенциала характерны для пар глицин – треонин и глицил-глицин – треонил-треонин. В соответствии с этим более корректным будет отражать их склонность отдавать электрон как почти равную: тролокс > треонил-треонин $\geq$ глицил-глицин > глицин $\geq$ треонин > цикло(ди(треонин)).

Таблица 3

Расчетные значения дескрипторов восстановительной способности
исследованных аминокислот, дипептидов и стандартных соединений

Table 3

Calculated values of the reducing capacity descriptors
of the studied amino acids, dipeptides and standard compounds

Соединение	$E_{\text{ВЗМО}}$, эВ		IP, эВ	
	Газовая фаза	Водный раствор	Газовая фаза	Водный раствор
Глицин	–6,58	–6,62	8,71	6,41
Треонин	–6,41	–6,63	8,27	6,45
Глицил-глицин	–6,30	–6,43	8,23	6,14
Треонил-треонин	–6,12	–6,30	7,57	5,40
Цикло(ди(треонин))	–6,73	–6,74	8,53	6,52
Тролокс	–5,37	–5,01	7,05	4,82
Аскорбиновая кислота	–6,10	–4,99	8,17	4,77

Полученные результаты квантово-химического моделирования антиоксидантной активности сопоставлены с рядами активности, построенными на основе экспериментальных данных (табл. 4). Учитывая, что радикал-акцепторная активность цикло(ди(треонина)), треонина и глицил-глицина в отношении радикалов $\text{ROO}^\bullet$ меняется в зависимости от концентрации, однозначно сравнить их антиоксидантную активность между собой на основании результатов эксперимента нельзя.

Таблица 4

Сопоставление экспериментальных и расчетных рядов активности

Table 4

Comparison of experimental and calculated activity series

Вид активности	Эксперимент	Расчет
Радикал-акцепторная активность в отношении $\text{ROO}^\bullet$	Треонил-треонин > цикло(ди(треонин)) ≥ треонин ≥ глицил-глицин	Треонил-треонин > цикло(ди(треонин)) > глицил-глицин > треонин
Радикал-акцепторная активность в отношении АБТС ^{•+}	Треонил-треонин > треонин > глицил-глицин > цикло(ди(треонин))	Треонил-треонин ≥ глицил-глицин > треонин > цикло(ди(треонин))

Квантово-химический расчет энергетических характеристик процесса отрыва атома водорода предсказывает, что наибольшей активностью из всех проанализированных соединений (кроме стандартных веществ) обладает треонил-треонин. В целом закономерность, построенная на основе рассчитанных характеристик процесса отрыва атома водорода, хорошо согласуется с экспериментальной закономерностью, что позволяет предположить преобладание механизма НАТ в проведенных экспериментах ORAC (это подтверждается и другими исследованиями [8; 25]). Для эксперимента TEAC расчет характеристик процесса передачи электрона также предсказывает наибольшую активность линейного дипептида треонина и наименьшую активность его циклической формы. Однако сравнительная активность глицил-глицина и треонина в расчете и эксперименте отличается. Это обстоятельство может быть обусловлено характером механизма взаимодействия с радикальными частицами в рамках экспериментов TEAC, заключающегося в том, что, помимо передачи электрона, на антиоксидантную активность может влиять передача протона, дескрипторы которой нами не изучались. Кроме того, расчетная активность может несколько измениться в случае учета молекулы растворителя в явном виде.

Большая радикал-акцепторная активность по механизму НАТ треонил-треонина по сравнению с таковой треонина объясняется значительно большей (на 67 кДж/моль) стабильностью радикала, образующегося в результате отрыва атома водорода. Кроме того, при переходе от треонина к его дипептидам отрыв атома водорода от α -атома углерода становится более выгодным, чем отрыв атома водорода от боковой группы аминокислоты. Данная закономерность объясняется стабилизацией образующегося радикала дипептида за счет делокализации спиновой плотности с участием пептидной связи и донорной COO^- -группы, что следует из анализа поверхностей ВЗМО соответствующих радикалов (рис. 8). В циклическом дипептиде также возможна делокализация спиновой плотности (см. рис. 8, в), однако в отличие от

цвиттер-ионной формы линейного дипептида в нем не происходит стабилизация радикала за счет донорной COO^- -группы (по причине отсутствия свободной карбоксильной группы в структуре), что и обуславливает меньшую радикал-акцепторную активность по механизму НАТ циклического дипептида по сравнению с таковой линейного дипептида. Сам треонин обладает еще меньшей радикал-акцепторной активностью ввиду меньшей области делокализации спиновой плотности в радикале по сравнению с таковой в радикалах дипептидов (см. рис. 8).

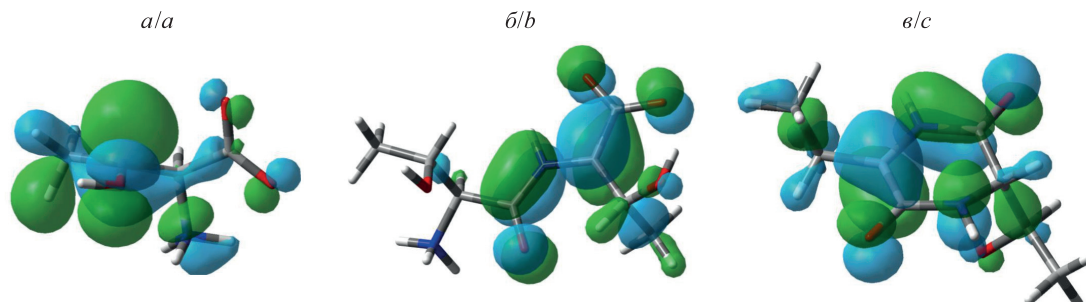


Рис. 8. Изоповерхности однократно занятых молекулярных орбиталей наиболее стабильных радикалов треонина (а), а также его линейного (б) и циклического (в) дипептидов в водном растворе

Fig. 8. Isosurfaces of the singly occupied molecular orbitals of the most stable radicals of threonine (a), as well as its linear (b) and cyclic (c) dipeptides in aqueous solution

Изменение сравнительной активности треонина и его дипептидов при переходе от экспериментов ORAC к экспериментам TEAC (т. е. при смене наиболее вероятного механизма взаимодействия с радикальными частицами с НАТ на SET) можно объяснить природой получаемых катион-радикалов. При анализе оптимизированных геометрий катион-радикалов исследованных соединений в газовой фазе и водном растворе была обнаружена интересная закономерность: при отрыве электрона от молекулы аминокислоты или дипептида в «нейтральной» форме (газовая фаза) наблюдалось существенное удлинение связи между атомом углерода карбоксильной группы и α -атомом углерода (табл. 5). В случае же с водным раствором и соответствующими ему цвиттер-ионными формами удлинения связи при отрыве электрона не наблюдалось, наоборот, она несколько укорачивалась. Упомянутые различия обусловлены протонированной или депротонированной формой существования аминогруппы (рис. 9), и это подтверждается тем фактом, что для дипептидов удлинение связи наблюдается именно в N-концевом остатке аминокислоты. Соответствующее удлинение связи делает невозможной дополнительную делокализацию неспаренного электрона в катион-радикале, что повышает его энергию и приводит к росту потенциала ионизации исходной молекулы. В случае же с циклическим дипептидом треонина существование остатка аминогруппы в протонированной форме невозможно, что приводит к менее эффективной делокализации и меньшей стабильности соответствующего катион-радикала в водном растворе по сравнению с аналогичными параметрами линейного дипептида (см. рис. 9). Данный вывод объясняет предсказанное в расчете и наблюдавшееся в эксперименте уменьшение радикал-акцепторной активности цикло(ди(треонина)) в отношении катион-радикалов АБТС $^{\bullet+}$ по сравнению с радикал-акцепторной активностью в отношении радикалов $\text{ROO}^\bullet$.

Таблица 5

Некоторые оптимизированные геометрические параметры исследованных аминокислот и дипептидов

Table 5

Some optimised geometric parameters of the studied amino acids and dipeptides

Соединение	Длина связи между атомом углерода карбоксильной группы и α -атомом углерода, Å			
	«Нейтральная» форма (газовая фаза)		Цвиттер-ионная форма (водный раствор)	
	Исходная молекула	Катион-радикал	Исходная молекула	Катион-радикал
Глицин	1,524	1,608	1,535	1,495
Треонин	1,534	1,611	1,551	1,507
Глицил-глицин	1,538	1,671	1,522	1,518
Треонил-треонин	1,548	1,652	1,542	1,531
Цикло(ди(треонин))	1,540	1,656	1,528	1,623

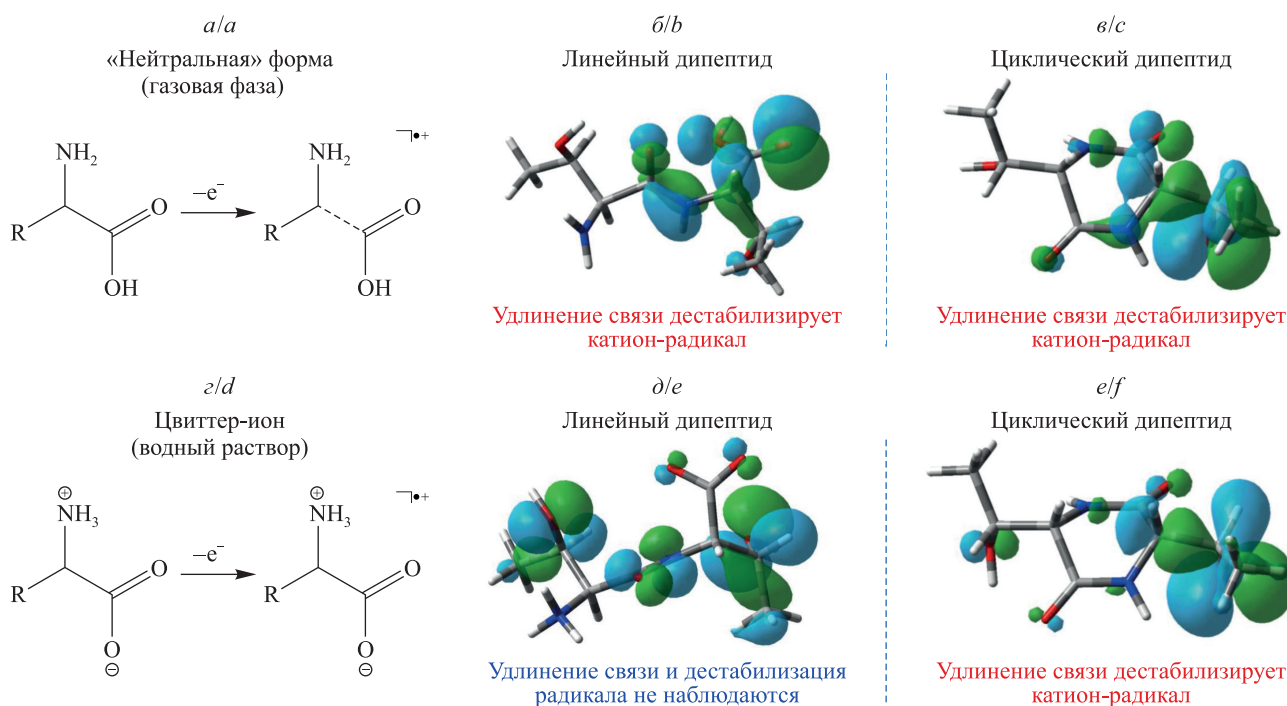


Рис. 9. Схема, иллюстрирующая влияние формы существования аминокислоты или дипептида на геометрию и делокализацию неспаренного электрона в катион-радикале (*a, г*).

Изоповерхности однократно занятых молекулярных орбиталей катион-радикалов линейного и циклического дипептидов треонина в газовой фазе (*б, в*) и водном растворе (*д, е*)

Fig. 9. Schematic illustrating the influence of the form of existence of an amino acid or dipeptide on the geometry and delocalisation of the unpaired electron in a radical cation (*a, d*).

Isosurfaces of the singly occupied molecular orbitals of radical cations of linear and cyclic threonine dipeptides in the gas phase (*b, c*) and aqueous solution (*e, f*)

Заключение

Предложенный подход к проведению квантово-химического исследования антиоксидантной активности соединений в газовой фазе и водном растворе позволяет количественно сравнивать способность соединений дезактивировать свободные радикалы путем переноса атома водорода (механизм HAT) либо через передачу одного электрона (механизм SET). Проведенные расчеты для известных стандартных антиоксидантов (тролокс и аскорбиновая кислота) создают основу для дальнейших квантово-химических исследований антиоксидантной активности соединений различной природы, а использование универсальных дескрипторов (термодинамических и кинетических характеристик элементарных реакций) позволяет осуществлять прямое сопоставление результатов расчета с экспериментальными данными.

Сравнительный анализ термодинамической стабильности радикалов, полученных при отрыве атома водорода от различных участков молекул глицина, треонина и их дипептидов, выявил наибольшую активность С-концевых аминокислотных остатков линейных дипептидов в реакциях с активными радикальными частицами в водном растворе и N-концевых аминокислотных остатков в реакциях с активными радикальными частицами в газовой фазе. Отмеченная закономерность объяснена протонированием свободной аминогруппы в водном растворе при физиологических значениях pH, что приводит к смене электронного эффекта данной группы (с +M на -I) и, как следствие, менее эффективной делокализации неспаренного электрона в радикале.

Анализ рассчитанных характеристик механизмов HAT и SET позволил выявить причины наблюдавшихся в эксперименте закономерностей изменения антиоксидантной активности треонина, глицина и их дипептидов. Большая антиоксидантная активность дипептидов треонина по сравнению с антиоксидантной активностью самого треонина объяснена сменой предпочтительного сайта радикальной атаки с третичного атома углерода боковой группы в аминокислоте на α-атом углерода в дипептидах. Установлено, что наблюдаемое *in vitro* изменение радикал-акцепторной активности циклического и линейного дипептидов треонина в отношении катион-радикалов АБТС^{•+} по сравнению с радикал-акцепторной активностью в отношении радикалов ROO[•] вызвано сменой преобладающего механизма взаимодействия с радикальными частицами. Меньшая активность циклического дипептида в механизме SET, чем в механизме HAT, обусловлена невозможностью его существования в цвиттер-ионной форме, что при одноэлектронном окислении приводит к образованию дестабилизированного катион-радикала с удлиненной связью.

Выявленная в работе взаимосвязь структуры и антирадикальной активности различных аминокислот и дипептидов необходима для рационального поиска перспективных аминокислотных последовательностей, обладающих выраженными антиоксидантными свойствами, и последующего создания на их основе эффективных антиоксидантов для пищевой и косметической промышленности, а также новых фармацевтических препаратов и биологически активных добавок.

Библиографические ссылки

1. Sen S, Chakraborty R. The role of antioxidants in human health. In: Andreescu S, Hepel M, editors. *Oxidative stress: diagnostics, prevention, and therapy*. Washington: American Chemical Society; 2011. p. 1–37 (ACS symposium series; volume 1083). DOI: 10.1021/bk-2011-1083.ch001.
2. Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M, editors. *Antioxidants in food: practical applications*. Boca Raton: CRC Press; 2001. XV, 380 p. Co-published by the Woodhead Publishing Limited.
3. de Lima Cherubim DJ, Buzanello Martins CV, Oliveira Fariña L, da Silva de Lucca RA. Polyphenols as natural antioxidants in cosmetics applications. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2020;19(1):33–37. DOI: 10.1111/jocd.13093.
4. Craik DJ, Fairlie DP, Liras S, Price D. The future of peptide-based drugs. *Chemical Biology & Drug Design*. 2013;81(1):136–147. DOI: 10.1111/cbdd.12055.
5. Cao G, Alessio HM, Cutler RG. Oxygen radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*. 1993;14(3):303–311. DOI: 10.1016/0891-5849(93)90027-R.
6. Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001;49(10):4619–4626. DOI: 10.1021/jf010586o.
7. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 1999;26(9–10):1231–1237. DOI: 10.1016/S0891-5849(98)00315-3.
8. Esfandi R, Walters ME, Tsopmo A. Antioxidant properties and potential mechanisms of hydrolyzed proteins and peptides from cereals. *Heliyon*. 2019;5(4):e01538. DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e01538.
9. Пипко АО, Кулеш АВ, Овсянникова ЕМ, Ермак АД, Каранкевич ЕГ, Юркова ИЛ. *In vitro* активность дипептидов в отношении свободных радикалов, генерируемых 2,2'-азо-бис-(2-амидинопропаном) и 2,2'-азино-бис-(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислотой). В: Ивашкевич ОА, Воробьева ТН, Артемьев МВ, Аршанский ЕЯ, Василевская ЕИ, Кунцевич ЗС и др., редакторы. *Свиридовские чтения. Выпуск 21*. Минск: СтройМедиаПроект; 2025. с. 129–145.
10. Staroverov VN, Scuseria GE, Tao J, Perdew JP. Comparative assessment of a new nonempirical density functional: molecules and hydrogen-bonded complexes. *The Journal of Chemical Physics*. 2003;119(23):12129–12137. DOI: 10.1063/1.1626543.
11. Jensen KP. Bioinorganic chemistry modeled with the TPSSH density functional. *Inorganic Chemistry*. 2008;47(22):10357–10365. DOI: 10.1021/ic800841t.
12. Gera E, Vignesh KR. A systematic comparison of density functional methods for determining spin-state energy gaps and spin transition temperature of spin crossover complexes. *RSC Advances*. 2026;16(3):2241–2254. DOI: 10.1039/D5RA09636G.
13. Franci MM, Pietro WJ, Hehre WJ, Binkley JS, Gordon MS, DeFrees DJ, et al. Self-consistent molecular orbital methods. XXIII. A polarization-type basis set for second-row elements. *The Journal of Chemical Physics*. 1982;77(7):3654–3665. DOI: 10.1063/1.444267.
14. Spitznagel GW, Clark T, von Ragué Schleyer P, Hehre WJ. An evaluation of the performance of diffuse function-augmented basis sets for second row elements, Na – Cl. *Journal of Computational Chemistry*. 1987;8(8):1109–1116. DOI: 10.1002/jcc.540080807.
15. Spiegel M. Current trends in computational quantum chemistry studies on antioxidant radical scavenging activity. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2022;62(11):2639–2658. DOI: 10.1021/acs.jcim.2c00104.
16. Marenich AV, Cramer CJ, Truhlar DG. Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2009;113(18):6378–6396. DOI: 10.1021/jp810292n.
17. Alov P, Tsakovska I, Pajeva I. Computational studies of free radical-scavenging properties of phenolic compounds. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2015;15(2):85–104. DOI: 10.2174/1568026615666141209143702.
18. Оганесян ЭТ, Шатохин СС, Глушко АА. Использование квантово-химических параметров для прогнозирования антирадикальной (НО•) активности родственных структур, содержащих циннамоильный фрагмент. I. Производные коричной кислоты, халкона и флаванона. *Фармация и фармакология*. 2019;7(1):53–66. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-1-53-66.
19. Hoa NT. The hydroperoxyl antiradical activity of Trolox in water: the effects of pH values on rate constants. *The EuroBiotech Journal*. 2022;6(2):44–48. DOI: 10.2478/ebtj-2022-0006.
20. Doseděl M, Jirkovský E, Macáková K, Kujovská Krčmová L, Javorská L, Pourová J, et al. Vitamin C – sources, physiological role, kinetics, deficiency, use, toxicity, and determination. *Nutrients*. 2021;13(2):615. DOI: 10.3390/nu13020615.
21. Cohn EJ, Edsall JT, Kirkwood JG, Mueller H, Oncley JL, Scatchard G. *Proteins, amino acids and peptides as ions and dipolar ions*. New York: Reinhold Publishing Corporation; 1943. XVIII, 686 p. (American Chemical Society monograph series; number 90).
22. Zuo Z, MacMillan DWC. Decarboxylative arylation of α -amino acids via photoredox catalysis: a one-step conversion of biomass to drug pharmacophore. *Journal of the American Chemical Society*. 2014;136(14):5257–5260. DOI: 10.1021/ja501621q.
23. Shi C, Gao L, Baumgarten M, Wei D, Xu Z, Wang W, et al. Homoconjugation mediated spin-spin coupling in triptycene nitronyl nitroxide diradicals. *Magnetochemistry*. 2023;9(7):178. DOI: 10.3390/magnetochemistry9070178.
24. Kovacic P. Protein electron transfer (mechanism and reproductive toxicity): iminium, hydrogen bonding, homoconjugation, amino acid side chains (redox and charged), and cell signaling. *Birth Defects Research. Part C, Embryo Today: Reviews*. 2007;81(1):51–64. DOI: 10.1002/bdrc.20086.
25. Torkova A, Koroleva O, Khrameeva E, Fedorova T, Tsentelovich M. Structure-functional study of tyrosine and methionine dipeptides: an approach to antioxidant activity prediction. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015;16(10):25353–25376. DOI: 10.3390/ijms161025353.

Получена 19.01.2026 / исправлена 31.01.2026 / принята 02.02.2026.
Received 19.01.2026 / revised 31.01.2026 / accepted 02.02.2026.