

# KHẢ NĂNG CHỐNG OXY HÓA CỦA 1-PHENYL-3-(2-PYRIDYL)-2-THIOUREA: NGHIÊN CỨU THỰC NGHIỆM KẾT HỢP VỚI TÍNH TOÁN HÓA LƯỢNG TỬ

Đinh Quý Hương\*, Trần Đồng Linh Chi

Trường Đại học Sư Phạm, Đại học Huế, 34 Lê Lợi, Huế, Việt Nam

\* Tác giả liên hệ Đinh Quý Hương <dqhuong@hueuni.edu.vn>  
(Ngày nhận bài: 17-03-2021; Ngày chấp nhận đăng: 26-05-2021)

**Tóm tắt.** 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) và 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS•+) đã được sử dụng trong nghiên cứu này. IC<sub>50</sub> của 1-phenyl-3-(2-pyridyl)-2-thiourea (PPTU) đối với DPPH• và ABTS•+ là  $1,3 \times 10^{-3}$  và  $1,1 \times 10^{-3}$  M. Các tính toán hóa lượng tử được thực hiện ở mức lý thuyết M05-2X/6-311++G(d,p) với việc xây dựng bề mặt thế năng phản ứng và tính tốc độ phản ứng theo cơ chuyển nguyên tử hydro (HAT) và cơ chế chuyển một electron (SET). Phản ứng giữa PPTU và gốc tự do HOO• chủ yếu xảy ra theo cơ chế HAT. Lượng sản phẩm tạo ra theo cơ chế này chiếm 99,99% tổng sản phẩm. N2–H17 là vị trí phản ứng chuyển nguyên tử hydro ưu tiên nhất với hằng số tốc độ  $1,44 \times 10^{-1} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ .

**Từ khóa:** PPTU, chống oxy hóa, HAT, hằng số tốc độ, bề mặt thế năng

## Antioxidant ability of 1-phenyl-3-(2-pyridyl)-2-thiourea: combined experimental/computational studies

Đinh Quy Hương\*, Tran Dong Linh Chi

University of Education, Hue University, 34 Le Loi St., Hue, Vietnam

\* Correspondence to Đinh Quy Hương <dqhuong@hueuni.edu.vn>  
(Received: 17 March 2021; Accepted: 26 May 2021)

**Abstract.** 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) and 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS•+) were used in this study. IC<sub>50</sub> values of 1-phenyl-3-(2-pyridyl)-2-thiourea (PPTU) with DPPH• and ABTS•+ are  $1.3 \times 10^{-3}$  and  $1.1 \times 10^{-3}$  M. Quantum chemical calculations were performed at the M05-2X/6-311++G(d,p) level to construct a potential surface of the reaction and calculate the rate constants according to hydrogen atom transfer (HAT) and single electron transfer (SET) mechanisms. The reaction between PPTU and HOO• free radicals mainly occurs with the HAT mechanism. The portion of product under this mechanism accounts for 99.99% of the total products. N2–H17 is the most favored hydrogen transfer position in the PPTU molecule with the rate constant of  $1.44 \times 10^{-1} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ .

**Keywords:** PPTU, antioxidant, HAT, SET, rate constant, potential surface

## 1 Đặt vấn đề

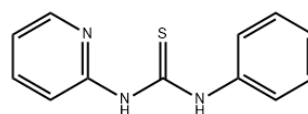
Các dẫn xuất thiourea là các chất có khả năng bắt các gốc tự do rất tốt [1, 2]. Năm 2011, Sudzhaev và cs. đã tổng hợp và nghiên cứu khả năng chống oxy hóa của một số các dẫn xuất thiourea thông qua phản ứng oxi hóa cumen [3]. Kết quả cho thấy các dẫn xuất này có thể ức chế quá trình tự oxy hóa của cumene. Các nghiên cứu về mối quan hệ cấu trúc – hoạt tính cho thấy rằng phân tử thiourea đóng vai trò quan trọng trong nghiên cứu chống oxy hóa của chúng [4]. Khả năng bắt gốc tự do của các dẫn xuất urea, thiourea, selenoure cũng được nghiên cứu bằng các phương pháp lý thuyết với hai cơ chế phản ứng chủ yếu là cơ chế chuyển nguyên tử hydro và cơ chế phản ứng cộng [5]. Nhóm nghiên cứu của Syadza khảo sát về khả năng chống oxy hóa của các dẫn xuất thế ortho-N,N'-bis(benzamidothiocarbonyl)hydrazine [6]. Một số hợp chất bis(thiourea) có khả năng chống oxy hóa cao trong lĩnh vực dược phẩm và môi trường nhờ khả năng tạo phức chất chelat với các anion và ion kim loại khác nhau. Bên cạnh đó, các dẫn xuất chứa flo, clo và nhóm metyl cho thấy khả năng bắt gốc tự do DPPH• cao hơn cả acid ascorbic. Naz và cs. đã tổng hợp và nghiên cứu các tính chất của 1,3-bis(3,4-dichlorophenyl)thiourea, 1,3-bis(2,6-dimethylphenyl)thiourea, diethyl 4,4'-(thiocarbonylbis(azanediyl))dibenzoate, 1,3-bis(4-nitrophenyl)thiourea and 1,3-di-p-tolylthiourea [7]. Các hợp chất này có khả năng chống oxy hóa và diệt khuẩn tiềm năng. Trong đó, 1,3-bis(3,4-dichlorophenyl)thiourea là chất có khả năng bắt gốc tự do 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl và 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) tốt hơn hết.

Rõ ràng, các dẫn xuất thiourea có tiềm năng lớn trong việc bắt gốc tự do và chống oxy hóa. Tuy nhiên, cho đến nay, chưa có nghiên cứu nào liên quan đến khả năng chống oxy hóa của 1-phenyl-3-(2-pyridyl)-2-thiourea (PPTU) được thực hiện. Hợp chất này chứa các liên kết N–H dễ bị cắt

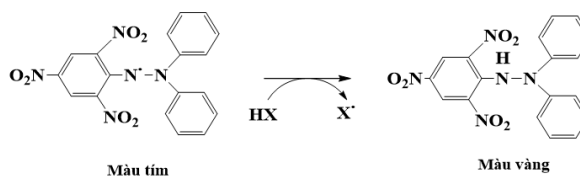
(Hình 1). Vì vậy, đây sẽ là một chất chống oxy hóa tiềm năng.

Hai phương pháp thực nghiệm được sử dụng nhiều để nghiên cứu khả năng chống oxy hóa của một hợp chất là phương pháp 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) và phương pháp 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS<sup>•+</sup>). Phương pháp DPPH• được Blois xây dựng để xác định hoạt tính chống oxy hóa bằng cách sử dụng gốc tự do DPPH• [8]. Gốc này ổn định nhờ sự định xứ của electron trên toàn bộ phân tử, nên các phân tử không bị dimer hóa như các gốc tự do khác.

Phương pháp ABTS<sup>•+</sup> đầu tiên được Miller và cs. mô tả vào năm 1993 [9]; sau đó phương pháp được phát triển dựa trên sự hấp thụ của cation gốc tự do ABTS<sup>•+</sup> để đánh giá tổng khả năng chống oxy hóa của chất lỏng cơ thể và các dung dịch thuốc. Cation gốc tự do ABTS<sup>•+</sup> được tạo ra bằng cách hoạt hóa metmyoglobin với hydroperoxide khi có mặt acid ABTS [2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)]. Sau đó, chất chống oxy hóa được thêm vào để bắt giữ cation gốc tự do ABTS<sup>•+</sup>, dẫn đến sự giảm độ hấp thụ của dung dịch. Đây là các phương pháp nhanh, đơn giản và được sử dụng rộng rãi để xác định sự có mặt của các chất chống oxy hóa trong một hệ thống xác định.

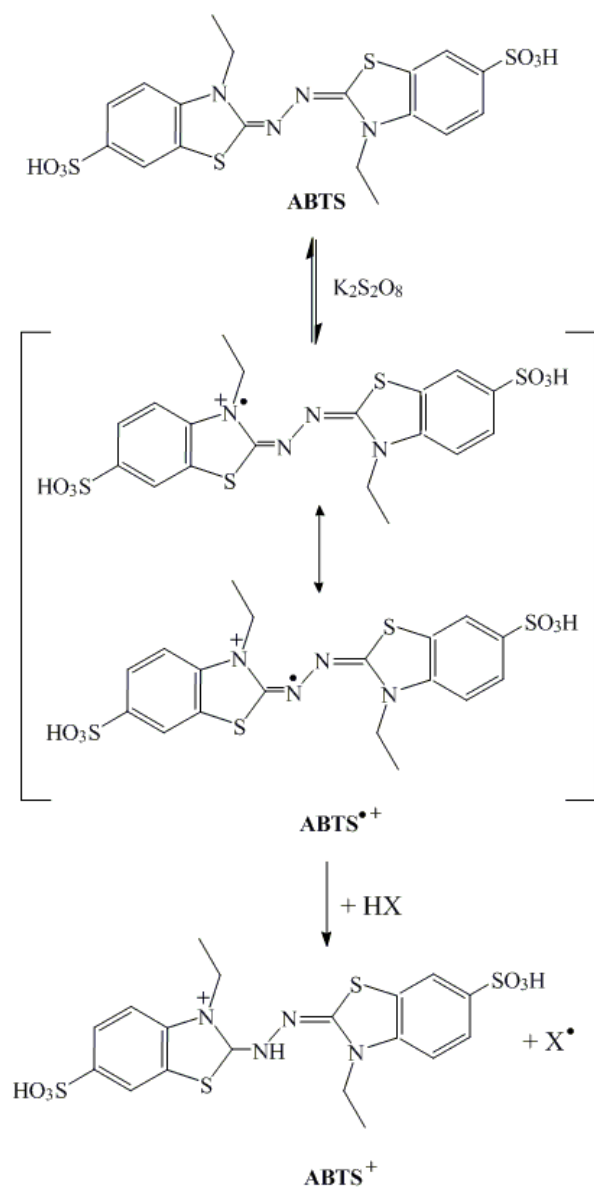


Hình 1. Cấu trúc phân tử PPTU



Hình 2. Cơ chế phản ứng của chất chống oxy hóa và DPPH•

Nhiều nghiên cứu về cơ chế phản ứng của ABTS<sup>•+</sup> và chất chống oxy hóa đã được đề xuất. Một số tác giả cho rằng đó là sự cho nhận nguyên tử hydro [10] (Hình 3), cũng có thể là sự trao đổi electron [11], hoặc thậm chí có thể là sự kết hợp của cả hai cơ chế trên [12]. Tuy còn nhiều tranh cãi về mặt cơ chế phản ứng, nhưng phương pháp ABTS<sup>•+</sup> vẫn được sử dụng rộng rãi vì nó có thể cho biết sự có mặt của chất chống oxy hóa trong một hệ thống nhất định.



**Hình 3.** Cơ chế phản ứng của chất chống oxy hóa và ABTS<sup>•+</sup>

Bên cạnh đó, các tính toán hóa lượng tử được sử dụng để nghiên cứu động học phản ứng của PPTU với các gốc tự do. Phương pháp M05-2X được sử dụng để nghiên cứu động học các phản ứng. Hàm M05-2X cho các kết quả tốt khi tính toán động học phản ứng, tương tác không phải cộng hóa trị (đặc biệt là tương tác yếu, liên kết hydro, năng lượng tương tác của các bazơ nito) và năng lượng phân ly liên kết alkyl [13].

## 2 Thực nghiệm

### 2.1 Hóa chất

Các hóa chất gồm: 1-phenyl-3-(2-pyridyl)-2-thiourea (PPTU), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, ethanol, 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium và K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> được đặt mua ở Sigma-Aldrich.

### 2.2 Phương pháp 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH<sup>•</sup>)

DPPH<sup>•</sup> được pha loãng trong ethanol ở nồng độ  $6,7 \times 10^{-5}$  M, sau đó dung dịch được bọc bằng lá nhôm để bảo vệ khỏi tác động của ánh sáng. Các nồng độ khác nhau của chất chống oxy hóa được thêm vào DPPH<sup>•</sup> theo tỉ lệ thể tích 3:1. Hỗn hợp phản ứng được lắc mạnh và giữ trong bóng tối trong 30 phút. Sau đó, mật độ quang của các dung dịch được đo ở bước sóng 517 nm trên máy quét phổ tử ngoại khả kiến TCC-240A SHIMADZU ở nhiệt độ phòng. Hiệu suất bắt gốc tự do DPPH<sup>•</sup> được tính theo phương trình (1) [14]

$$SA_{DPPH^{\bullet}} \% = \frac{A_c - A_s}{A_c} \cdot 100 \quad (1)$$

trong đó  $A_c$  là mật độ quang của mẫu trắng chứa DPPH<sup>•</sup> (mẫu trắng = 1 mL DPPH<sup>•</sup> + 3 mL ethanol) và  $A_s$  là mật độ quang của mẫu khảo sát chứa DPPH<sup>•</sup> (mẫu khảo sát = 1 mL DPPH<sup>•</sup> + 3 mL PPTU).

Khả năng bắt gốc tự do DPPH<sup>•</sup> được đánh giá qua giá trị IC<sub>50</sub>DPPH. Đây là nồng độ của mẫu

mà tại đó nó có thể ức chế 50% nồng độ gốc tự do DPPH $\cdot$ . Giá trị IC<sub>50</sub>DPPH càng nhỏ thì mẫu có hoạt tính càng cao.

Cách xác định giá trị IC<sub>50</sub>DPPH:

- Tiến hành đo mật độ quang của dung dịch DPPH $\cdot$  ở nhiều nồng độ khác nhau của PPTU.
- Xây dựng phương trình hồi quy có dạng  $y = a \times x + b$  (với  $y$  là % khả năng bắt gốc DPPH $\cdot$  và  $x$  là nồng độ của PPTU). Sau đó thay  $y = 50$  và suy ra giá trị  $x$ , chính là giá trị IC<sub>50</sub>DPPH.

### 2.3 Phương pháp cation gốc tự do 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS $\cdot^+$ )

Nghiên cứu về khả năng trung hòa cation gốc tự do ABTS $\cdot^+$  của PPTU được tiến hành theo Re, có điều chỉnh [15]. Đầu tiên, muối 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium được hòa tan trong nước để thu được dung dịch gốc 7 mM. Cation gốc tự do ABTS $\cdot^+$  được tạo ra bằng phản ứng của dung dịch muối nói trên với dung dịch K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 140 mM. Nồng độ của dung dịch K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> sau khi trộn là 2,45 mM. Hỗn hợp được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng. Sau 16 giờ, hỗn hợp này được pha loãng bằng etanol để điều chỉnh độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 734 nm về giá trị  $0,7 \pm 0,05$  trên máy quét phổ tử ngoại khả kiến TCC-240A SHIMADZU ở nhiệt độ phòng. Dung dịch này được sử dụng để nghiên cứu khả năng chống oxy hóa của các hợp chất khảo sát. Các thí nghiệm được tiến hành bằng cách thêm 1 mL PPTU (ở các nồng độ khác nhau) vào 3 mL dung dịch chứa cation gốc tự do ABTS $\cdot^+$  và ủ ở nhiệt độ phòng trong sáu phút. Độ hấp thụ được đo ở 734 nm. Các thí nghiệm được lặp lại ba lần và kết quả được biểu diễn bằng giá trị IC<sub>50</sub>ABTS (M).

$$SA_{ABTS\cdot^+} \% = \frac{A'_c - A'_s}{A'_c} \cdot 100 \quad (2)$$

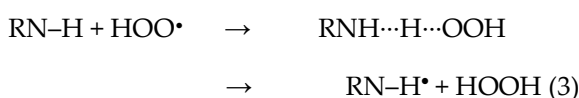
trong đó  $SA_{ABTS\cdot^+}$  là hiệu suất bắt gốc ABTS $\cdot^+$ ,  $A'_c$  là mật độ quang của mẫu trắng chứa ABTS $\cdot^+$  (mẫu trắng = 1 mL etanol + 3 mL ABTS $\cdot^+$ );  $A'_s$  là mật độ quang của mẫu khảo sát chứa ABTS $\cdot^+$  (mẫu khảo sát = 1 mL PPTU + 3 mL ABTS $\cdot^+$ ).

IC<sub>50</sub>ABTS được xác định tương tự như IC<sub>50</sub>DPPH.

### 3 Tính toán hóa lượng tử

Khả năng chống oxy hóa của một hợp chất nhất định có thể được đánh giá theo nhiều cơ chế khác nhau như cơ chế chuyển nguyên tử hydro (HAT), cơ chế chuyển electron (SET), v.v. [16-18].

Phản ứng theo cơ chế HAT xảy ra theo phương trình (3) [19, 20]



trong đó, năng lượng phân ly liên kết được tính theo công thức (4)

$$\text{BDE}(\text{N-H}) = H(\text{RN}\cdot) + H(\text{H}\cdot) - H(\text{RN-H}) \quad (4)$$

Trong phản ứng theo cơ chế SET [21], quá trình cho (5) hoặc nhận electron (6) có thể xảy ra như sau:



Biến thiên entalpy phản ứng ( $\Delta H^\circ$ ) và năng lượng tự do Gibbs ( $\Delta G^\circ$ ) được tính theo các công thức (7)

$$\begin{aligned} \Delta H_{(1)}^0 &= H_{\text{RNH}\cdot^+} + H_{\text{HOO}^-} - H_{\text{RNH}} + H_{\text{HOO}\cdot} \\ \Delta G_{(1)}^0 &= G_{\text{RNH}\cdot^+} + G_{\text{HOO}^-} - G_{\text{RNH}} + G_{\text{HOO}\cdot} \\ \Delta H_{(2)}^0 &= H_{\text{RNH}^+} + H_{\text{HOO}^+} - H_{\text{RNH}} + H_{\text{HOO}\cdot} \\ \Delta G_{(2)}^0 &= G_{\text{RNH}^+} + G_{\text{HOO}^+} - G_{\text{RNH}} + G_{\text{HOO}\cdot} \end{aligned} \quad (7)$$

Các đại lượng nhiệt động đặc trưng cho các cơ chế chống oxy hóa được tính ở 298 K và 1 atm. Trong đó  $H(\text{RN-H})$  là entalpy của hợp chất chống oxy hóa;  $H(\text{RN}\cdot)$  là entalpy của gốc tự do chất chống oxy hóa;  $H(\text{H}\cdot)$  là entalpy của gốc tự do hydro;

$H(\text{RNH}^{\bullet+})$  là entalpy của ion dương gốc tự do chất chống oxy hóa;  $H(\text{HOO}^-)$  là entalpy của ion âm  $\text{HOO}^-$ ;  $H(\text{RNH}^{\bullet-})$  là entalpy của ion âm gốc tự do chất chống oxy hóa;  $H(\text{HOO}^{\bullet})$  là entalpy của gốc tự do  $\text{HOO}^{\bullet}$ ;  $H(\text{HOO}^+)$  là entalpy của ion dương  $\text{HOO}^+$ .  $G(\text{RN-H})$  là thế đẳng áp của hợp chất chống oxy hóa;  $G(\text{RNH}^{\bullet+})$  là thế đẳng áp của ion dương gốc tự do chất chống oxy hóa;  $G(\text{HOO}^-)$  là thế đẳng áp của ion âm  $\text{HOO}^-$ ;  $G(\text{RNH}^{\bullet-})$  là thế đẳng áp của ion âm gốc tự do chất chống oxy hóa;  $G(\text{HOO}^{\bullet})$  là thế đẳng áp của gốc tự do  $\text{HOO}^{\bullet}$ ;  $G(\text{HOO}^+)$  là thế đẳng áp của ion dương  $\text{HOO}^+$  [22, 23].

Tổng entalpy  $H$  ở nhiệt độ  $T$  được tính theo biểu thức (8)

$$H = E_{\text{elec}} + \text{ZPE} + \Delta H_{\text{trans}} + \Delta H_{\text{rot}} + \Delta H_{\text{vib}} + RT \quad (8)$$

trong đó  $\Delta H_{\text{trans}}$ ,  $\Delta H_{\text{rot}}$  và  $\Delta H_{\text{vib}}$  lần lượt là biến thiên entalpy tịnh tiến, quay và dao động;  $E_{\text{elec}}$  là tổng năng lượng electron của hệ ở 0 K và ZPE là năng lượng dao động điểm không. Entalpy của  $e^-$  trong pha khí được tham khảo từ công trình của Rimarčík và cs. [23].

Các hằng số tốc độ phản ứng và năng lượng tự do Gibbs hoạt hóa theo cơ chế HAT được tính bằng phần mềm Eyringpy [24]. Theo lý thuyết của Marcus [25, 26], phản ứng chuyển electron dựa trên sự chuyển đổi của trạng thái chuyển tiếp để xác định hàng rào hoạt hóa chuyển electron ( $\Delta G_{\text{ET}}^{\ddagger}$ ) dựa trên hai thông số nhiệt động học là biến thiên năng lượng tự do của phản ứng ( $\Delta G_{\text{ET}}^0$ ) và năng lượng tái cấu trúc hạt nhân ( $\lambda$ )

$$\Delta G_{\text{ET}}^{\ddagger} = \frac{\lambda}{4} \left( 1 + \frac{\Delta G_{\text{ET}}^0}{\lambda} \right)^2 \quad (9)$$

Một cách gần đúng,  $\lambda$  được xác định theo công thức (10)

$$\lambda \approx \Delta E_{\text{ET}} - \Delta G_{\text{ET}}^0 \quad (10)$$

trong đó  $\Delta E_{\text{ET}}$  là hiệu năng lượng không đo nhiệt giữa các chất tham gia phản ứng và sản phẩm. Cách tiếp cận này, cũng tương tự với các nghiên cứu của Nelsen và cs., đã được sử dụng cho một số lượng lớn các phản ứng tự trao đổi [27].

Các hằng số tốc độ ( $k$ ) được tính trong pha khí bằng cách sử dụng lý thuyết trạng thái chuyển tiếp và trạng thái tiêu chuẩn 1 M [28, 29].

$$k = \sigma \cdot \kappa \cdot \frac{k_{\text{B}} \cdot T}{h} e^{\frac{-\Delta G^{\ddagger}}{RT}} \quad (11)$$

trong đó  $k_{\text{B}}$  là hằng số Boltzmann;  $T$  là nhiệt độ (K);  $h$  là hằng số Planck;  $R$  là hằng số khí;  $\Delta G^{\ddagger}$  là năng lượng tự do Gibbs hoạt hóa;  $\sigma$  là số đối xứng phản ứng, đại diện cho số lượng đường phản ứng khác nhau nhưng tương đương có thể xảy ra và  $\kappa$  là hệ số liên quan đến sự hiệu chỉnh đường ngầm được tính theo phương pháp của Wigner [29] và Eckart [30].

Nếu phản ứng xảy ra theo nhiều cơ chế khác nhau như HAT và SET thì tốc độ phản ứng tổng sẽ được tính theo công thức (12) [28]

$$k_{\text{tot}} = k_{\text{HAT}} + k_{\text{SET}} \quad (12)$$

trong đó  $k_{\text{HAT}}$  và  $k_{\text{SET}}$  lần lượt là tốc độ phản ứng xảy ra theo cơ chế HAT và cơ chế SET.

$$k_{\text{HAT}} = k_{\text{HAT}(1)} + k_{\text{HAT}(2)} \quad (13)$$

$$k_{\text{SET}} = k_{\text{SET}(1)} + k_{\text{SET}(2)} \quad (14)$$

trong đó (1) và (2) là các hướng phản ứng khác nhau có thể xảy ra trong mỗi cơ chế.

Phần trăm lượng tương đối của sản phẩm ( $\Gamma_i$ ) được tạo ra theo các cơ chế phản ứng khác nhau được xác định theo công thức (15)

$$\Gamma_i = \frac{k_i}{k_{\text{tot}}} \cdot 100 \quad (15)$$

trong đó  $i$  đại diện cho mỗi cơ chế phản ứng.

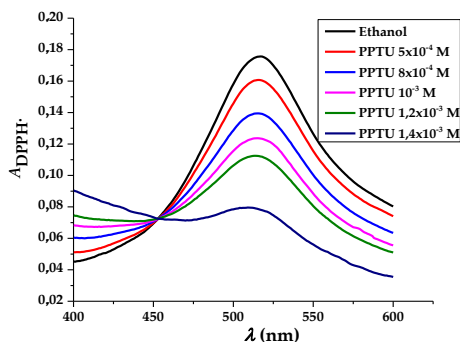
## 4 Kết quả và thảo luận

### 4.1 Phương pháp thực nghiệm

#### Phương pháp 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

Đầu tiên, khả năng chống oxy hóa của PPTU được đánh giá bằng phương pháp DPPH $\cdot$ . Mật độ quang của dung dịch giảm khi nồng độ của PPTU tăng lên (Hình 4). Khi PPTU có nồng độ  $5 \times 10^{-4}$  M

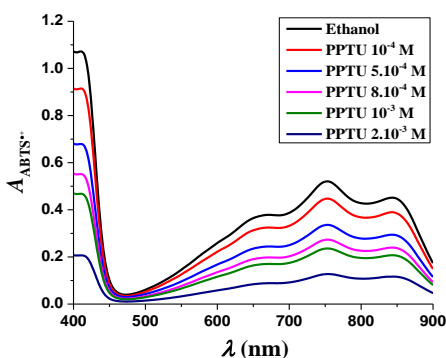
thì hiệu suất bắt gốc chỉ là 6,31%, nhưng khi nồng độ của chất này tăng lên  $1,4 \times 10^{-3}$  M thì hiệu suất bắt gốc tự do DPPH• là 54,72%. Điều này chứng tỏ lượng DPPH• trong dung dịch giảm khi nồng độ PPTU tăng lên.



**Hình 4.** Phổ UV-Vis của DPPH• ở các nồng độ khác nhau của PPTU

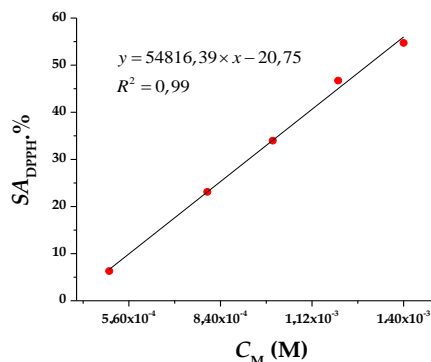
Tiếp theo, khả năng chống oxy hóa của PPTU còn được nghiên cứu thông qua phương pháp ABTS<sup>•+</sup>. ABTS<sup>•+</sup> là một cation gốc tự do ổn định, thường được sử dụng làm chất nền để đánh giá hoạt tính chống oxy hóa trong ống nghiệm.

Phổ tử ngoại khả kiến của ABTS<sup>•+</sup> ở các nồng độ khác nhau của PPTU (Hình 6) cho thấy độ hấp



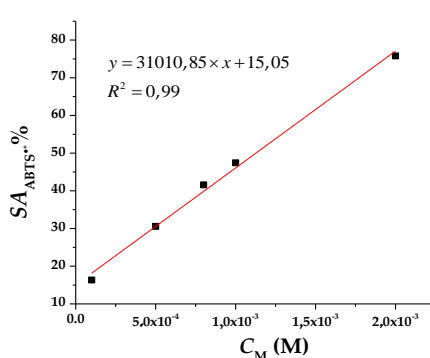
**Hình 6.** Phổ UV-Vis của ABTS<sup>•+</sup> ở các nồng độ khác nhau của PPTU

Hình 5 biểu diễn mối quan hệ giữa hiệu suất bắt gốc DPPH• và nồng độ của PPTU; IC<sub>50</sub>DPPH của PPTU là  $1,3 \times 10^{-3}$  M.



**Hình 5.** Mối quan hệ giữa hiệu suất bắt gốc DPPH• và nồng độ của PPTU Phương pháp cation gốc tự do 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)

thụ của dung dịch giảm khi nồng độ của PPTU tăng lên, chứng tỏ lượng cation gốc tự do ABTS<sup>•+</sup> giảm đáng kể. Cụ thể, khi nồng độ của PPTU tăng từ  $1 \times 10^{-4}$  M lên  $2 \times 10^{-3}$  M, hiệu suất tăng lên từ 16,34 đến 75,79%. Giá trị IC<sub>50</sub>ABTS của PPTU (tính từ Hình 7) là  $1,1 \times 10^{-3}$  M.



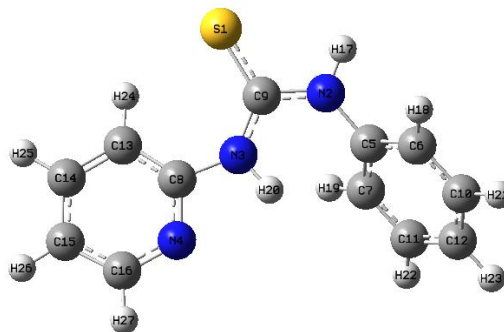
**Hình 7.** Mối quan hệ giữa hiệu suất bắt gốc ABTS<sup>•+</sup> và nồng độ của PPTU

## 4.2 Tính toán hóa lượng tử cho 1-phenyl-3-(2-pyridyl)-2-thiourea

Phương pháp M05-2X [13] đã được nhiều nhà khoa học sử dụng thành công khi tính toán động học phản ứng [28, 31, 32]. Chính vì vậy, M05-2X/6-311++G(d,p) được áp dụng để tính toán động học trong phản ứng giữa PPTU và HOO•. Tất cả các tính toán được thực hiện trên phần mềm Gaussian 09 [33].

HOO• là gốc peroxy đơn giản nhất và cho kết quả tính các hằng số tốc độ của quá trình bắt gốc tự do khá chính xác [28]. Vì vậy, trong nghiên cứu này, HOO• được lựa chọn làm gốc tự do đại

diện để nghiên cứu khả năng chống oxy hóa của PPTU thông qua cơ chế HAT và SET. Hình 8 biểu diễn hình dạng cấu trúc của PPTU đã được tối ưu hóa ở mức lý thuyết M05-2X/6-311++G(d,p).



Hình 8. Cấu trúc tối ưu của PPTU

**Bảng 1.** Giá trị năng lượng phân ly liên kết, năng lượng tự do Gibbs hoạt hóa ( $\Delta G^\ddagger$ ), hằng số tốc độ ( $k$ ) của phản ứng giữa PPTU và HOO• theo cơ chế HAT

Vị trí	BDE (kcal·mol <sup>-1</sup> )	$\Delta G^\ddagger$ (kcal·mol <sup>-1</sup> )	$k$ (M <sup>-1</sup> ·s <sup>-1</sup> )	$k_{\text{HAT}}$ (M <sup>-1</sup> ·s <sup>-1</sup> )
N2–H17	92,61	19,9	$1,44 \times 10^{-1}$	$2,00 \times 10^{-1}$
N3–H20	85,77	25,3	$5,54 \times 10^{-2}$	

### Cơ chế chuyển nguyên tử hydro

Khi xét theo cơ chế chuyển nguyên tử hydro, các giá trị năng lượng phân ly liên kết (BDE) là thông số nhiệt động học quan trọng cần được tính [34]. PPTU có hai liên kết N–H (N2–H17 và N3–H20) dễ bị cắt đứt ứng với năng lượng phân ly liên kết là 92,61 và 85,77 kcal·mol<sup>-1</sup> (Bảng 1). Nghiên cứu lý thuyết về cơ chế HAT được thực hiện với mục tiêu làm sáng tỏ bản chất của các phức chất phản ứng, trạng thái chuyển tiếp, chất trung gian và các sản phẩm [35].

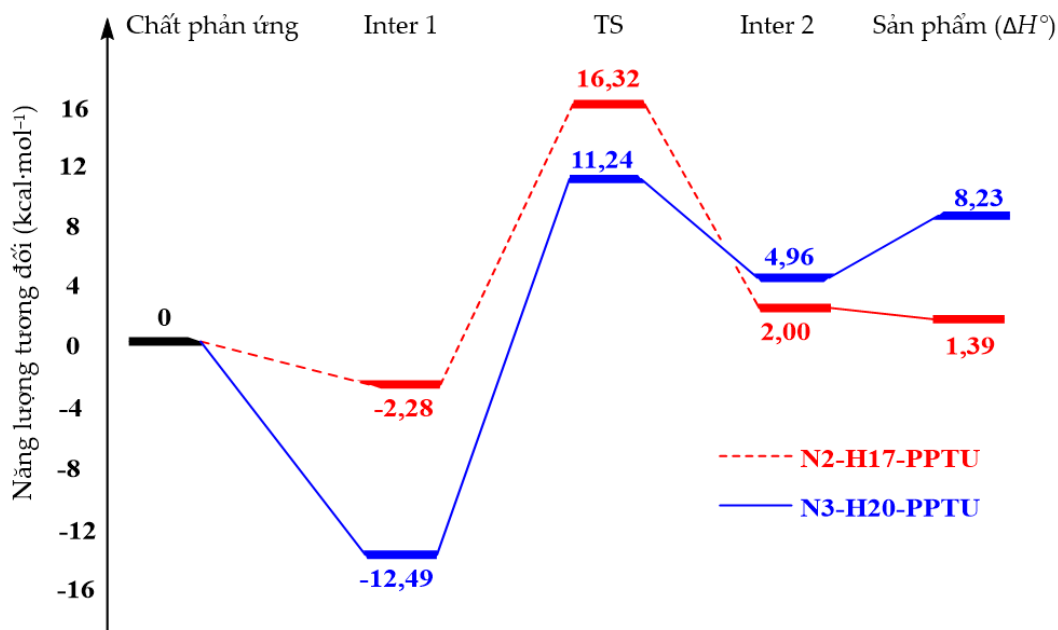
Theo Ingold và cs., một chất có khả năng cho nguyên tử hydro hoàn hảo thì chất đó phải có năng lượng phân ly liên kết thấp và tốc độ phản ứng phải lớn [36]. Vì vậy, chúng tôi tiến hành xây dựng bề mặt thế năng và tính hằng số tốc độ cho phản ứng giữa PPTU và gốc tự do HOO• ở mức lý thuyết M05-2X/6-311++G(d,p) (Hình 9). Cả hai vị trí N2–H17 và N3–H20 của phân tử PPTU đều được khảo sát.

Hình 9 cho thấy các phản ứng bắt đầu với sự hình thành của trạng thái trung gian 1 (Inter 1) với

mức năng lượng là  $-2,28$  và  $-12,49$  kcal·mol<sup>-1</sup> (so với các chất phản ứng) ở các vị trí N2–H17 và N3–H20. Tiếp đến, các phản ứng vượt qua các trạng thái chuyển tiếp (TS) với các hàng rào năng lượng có giá trị lần lượt là 16,32 và 11,24 kcal·mol<sup>-1</sup>. Các phức sản phẩm (Inter 2) có năng lượng  $-2,00$  và  $4,96$  kcal·mol<sup>-1</sup>, tương ứng với các vị trí N2–H17 và N3–H20. Hiệu ứng nhiệt ( $\Delta H^\circ$ ) của các phản ứng giữa PPTU và gốc HOO• là 1,39 và 8,23 kcal·mol<sup>-1</sup> ở vị trí N2–H17 và N3–H20 (Hình 9). Điều này chứng tỏ các phản ứng này đều thu nhiệt.

Tiếp theo, để đánh giá tốc độ phản ứng của các chất chống oxy hóa khảo sát, năng lượng tự do Gibbs hoạt hóa ( $\Delta G^\ddagger$ ), hệ số hiệu chỉnh đường ngầm  $\kappa$  và hằng số tốc độ ( $k$ ) của các phản ứng bắt gốc tự do HOO• đã được tính ở mức lý thuyết M05-2X/6-311++G(d,p) ở 298,15 K trong pha khí (Bảng 2). Hằng số tốc độ của PPTU ở các vị trí N2–H17 và N3–H20 là  $1,44 \times 10^{-1}$  và  $5,54 \times 10^{-2}$  M<sup>-1</sup>·s<sup>-1</sup>. Như vậy, hằng số tốc độ tổng cộng theo cơ chế HAT của PPTU khi phản ứng với gốc tự do HOO• là  $2,00 \times 10^{-1}$  M<sup>-1</sup>·s<sup>-1</sup>.





Hình 9. Bề mặt thế năng của phản ứng giữa PPTU và gốc HOO• theo cơ chế HAT

Bảng 2. Giá trị entalpy, năng lượng tự do Gibbs và hằng số tốc độ của các phản ứng cho và nhận electron giữa PPTU và HOO•

Phản ứng	$\Delta H^\circ$ (kcal.mol <sup>-1</sup> )	$\Delta G^\circ$ (kcal.mol <sup>-1</sup> )	$k_{SET}$ (M <sup>-1</sup> .s <sup>-1</sup> )
Cho electron (16)	141,82	141,08	$6,65 \times 10^{-148}$
Nhận electron (17)	277,50	276,31	0

### Cơ chế chuyển electron

Cơ chế chuyển electron là cơ chế tiếp theo được áp dụng để đánh giá khả năng chống oxy hóa của PPTU trong pha khí. Các phản ứng cho (16) và nhận (17) electron giữa PPTU và HOO• có thể xảy ra như sau



Biến thiên entalpy ( $\Delta H^\circ$ ) và năng lượng tự do Gibbs ( $\Delta G^\circ$ ) ở 298 K của phản ứng cho electron (16) là 141,82 và 141,08 kcal.mol<sup>-1</sup> và của phản ứng nhận electron (17) là 277,50 và 276,31 kcal.mol<sup>-1</sup> (Bảng 2). Điều này chứng tỏ phản ứng (16) thuận lợi về mặt nhiệt động học hơn phản ứng (17). PPTU có khuynh hướng dễ nhận electron hơn là nhường electron cho gốc tự do HOO•. Tốc độ phản ứng cho electron và nhận electron được tính theo lý thuyết của Marcus [26]. Trong đó  $\Delta E_{ET}$  là hiệu năng lượng

đoạn nhiệt giữa các chất tham gia phản ứng và sản phẩm;  $\Delta E_{ET}$  được tính theo công thức (18)

$$\Delta E_{ET(1)} = E_{\text{PPTU}^{\bullet+}} + E_{\text{HOO}^-} - E_{\text{PPTU}} + E_{\text{HOO}\cdot} \quad (18)$$

$$\Delta E_{ET(2)} = E_{\text{PPTU}^{\bullet-}} + E_{\text{HOO}^+} - E_{\text{PPTU}} + E_{\text{HOO}\cdot}$$

Với cách tiếp cận này,  $k_{SET}$  có giá trị  $6,65 \times 10^{-148} \text{ M}^{-1}.\text{s}^{-1}$  cho phản ứng cho electron (16) và xấp xỉ bằng 0 cho phản ứng nhận electron (17). Mặc dù phản ứng (16) ưu thế hơn phản ứng (17), nhưng giá trị hằng số tốc độ phản ứng  $k_{SET}$  là rất nhỏ so với  $k_{HAT}$ . Điều này có nghĩa là phản ứng chuyển electron khi PPTU phản ứng với HOO• hầu như không xảy ra.

Dựa trên công thức (15), lượng sản phẩm của phản ứng giữa PPTU và HOO• theo cơ chế HAT chiếm 99,99%. Như vậy, lượng sản phẩm thu được theo cơ chế SET là không đáng kể.



Như vậy, các kết quả thực nghiệm và tính toán hóa lý thuyết cho thấy PPTU là hợp chất có hoạt tính chống oxy hóa tốt thông qua khả năng bắt các gốc tự do.

## 5 Kết luận

Khả năng chống oxy hóa của PPTU đã được khảo sát bằng phương pháp thực nghiệm và tính toán hóa lượng tử. PPTU có khả năng bắt các gốc tự do DPPH• và ABTS•+ với các giá trị IC<sub>50</sub><sup>DPPH</sup> và IC<sub>50</sub><sup>ABTS</sup> bằng  $1,3 \times 10^{-3}$  và  $1,1 \times 10^{-3}$  M. Bên cạnh đó, các hằng số tốc độ phản ứng tính theo mức lý thuyết M05-2X/6-311++G(d,p) đã được nghiên cứu theo cả hai cơ chế HAT và SET khi PPTU phản ứng với gốc tự do HOO•. Cơ chế HAT có tốc độ phản ứng  $2,00 \times 10^{-1} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ , lớn hơn rất nhiều lần với cơ chế SET. Hàm lượng sản phẩm hình thành theo cơ chế HAT chiếm 99,99%.

### Thông tin tài trợ

Nghiên cứu này do Đại học Huế tài trợ trong đề tài mã số DHH2020-03-135.

### Mâu thuẫn lợi ích

Không có mâu thuẫn nào liên quan đến việc xuất bản bài báo này.

### Tài liệu tham khảo

1. Wang W, Schuchmann MN, Schuchmann HP, Knolle W, von Sonntag J, von Sonntag C. Radical Cations in the OH-Radical-Induced Oxidation of Thiourea and Tetramethylthiourea in Aqueous Solution. *Journal of the American Chemical Society*. 1999;121(1):238-45.
2. Georgiou CD, Tairis N, Sotiropoulou A. Hydroxyl radical scavengers inhibit lateral-type sclerotial differentiation and growth in phytopathogenic fungi. *Mycologia*. 2019;92(5):825-34.
3. Sudzhaev AR, Rzaeva IA, Nadzhafova RA, Safarov YS, Allakhverdiev MA. Antioxidant properties of some thiourea derivatives. *Russian Journal of Applied Chemistry*. 2011;84(8):1394-7.
4. Ariffin A, Rahman NA, Yehye WA, Alhadi AA, Kadir FA. PASS-assisted design, synthesis and antioxidant evaluation of new butylated hydroxytoluene derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2014;87:564-77.
5. Prasad AK, Mishra PC. Scavenging of superoxide radical anion and hydroxyl radical by urea, thiourea, selenourea and their derivatives without any catalyst: A theoretical study. *Chemical Physics Letters*. 2017;684:197-204.
6. Firdausiah S, Hasbullah SA, Yamin BM. Synthesis, structural elucidation and antioxidant study of Ortho-substituted N,N'-bis(benzamidothiocarbonyl)hydrazine derivatives. *Journal of Physics: Conference Series*. 2018;979:012010.
7. Naz S, Zahoor M, Umar MN, Alghamdi S, Sahibzada MUK, UlBari W. Synthesis, characterization, and pharmacological evaluation of thiourea derivatives. *Open Chemistry*. 2020;18(1):764-77.
8. Blois MS. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*. 1958;181(4617):1199-1200.
9. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*. 1993;84(4):407-412.
10. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*. 1996;20(7):933-956.
11. Pannala AS, Chan TS, O'Brien PJ, Rice-Evans CA. Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2001;282(5):1161-1168.
12. Tyrakowska B, Soffers AEMF, Szymusiak H, Boeren S, Boersma MG, Lemańska K, et al. TEAC antioxidant activity of 4-hydroxybenzoates. *Free Radical Biology and Medicine*. 1999;27(11-12):1427-1436.

13. Zhao Y, Schultz NE, Truhlar DG. Design of Density Functionals by Combining the Method of Constraint Satisfaction with Parametrization for Thermochemistry, Thermochemical Kinetics, and Noncovalent Interactions. *Journal of Chemical Theory and Computation*. 2006;2(2):364-382.
14. Masek A, Chrzescijanska E, Latos M, Zaborski M, Podsedek A. Antioxidant and Antiradical Properties of Green Tea Extract Compounds. *International Journal of Electrochemical Science*. 2017;12:6600-6610.
15. 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.
16. Mayer JM, Hrovat DA, Thomas JL, Borden WT. Proton-Coupled Electron Transfer versus Hydrogen Atom Transfer in Benzyl/Toluene, Methoxyl/Metanol, and Phenoxyl/Phenol Self-Exchange Reactions. *Journal of the American Chemical Society*. 2002;124(37):11142-11147.
17. Urbaniak A, Szeląg M, Molski M. Theoretical investigation of stereochemistry and solvent influence on antioxidant activity of ferulic acid. *Computational and Theoretical Chemistry*. 2013;1012:33-40.
18. Musialik M, Litwinienko G. Scavenging of dpph• Radicals by Vitamin E Is Accelerated by Its Partial Ionization: The Role of Sequential Proton Loss Electron Transfer. *Organic Letters*. 2005 09 24;7(22):4951-4954.
19. Thong NM, Quang DT, Bui TNH, Dao DQ, Nam PC. Antioxidant properties of xanthenes extracted from the pericarp of *Garcinia mangostana* (Mangosteen): A theoretical study. *Chemical Physics Letters*. 2015 04;625:30-35.
20. Tabrizi L, Dao DQ, Vu TA. Experimental and theoretical evaluation on the antioxidant activity of a copper(ii) complex based on lidocaine and ibuprofen amide-phenanthroline agents. *RSC Advances*. 2019;9(6):3320-3335.
21. Thong NM, Vo VQ, Huyen TL, Bay MV, Tuan D, Nam PC. Theoretical Study for Exploring the Diglycoside Substituent Effect on the Antioxidative Capability of Isorhamnetin Extracted from *Anoectochilus roxburghii*. *ACS Omega*. 2019;4(12):14996-15003.
22. Klein E, Lukeš V, Ilčin M. DFT/B3LYP study of tocopherols and chromans antioxidant action energetics. *Chemical Physics*. 2007;336(1):51-57.
23. Rimarčík J, Lukeš V, Klein E, Ilčin M. Study of the solvent effect on the enthalpies of homolytic and heterolytic N-H bond cleavage in p-phenylenediamine and tetracyano-p-phenylenediamine. *Journal of Molecular Structure: Theochem*. 2010;952(1-3):25-30.
24. Dzib E, Cabellos JL, Ortíz-Chi F, Pan S, Galano A, Merino G. Eyringpy: A program for computing rate constants in the gas phase and in solution. *International Journal of Quantum Chemistry*. 2018;119(2):e25686.
25. Marcus RA. Chemical and Electrochemical Electron-Transfer Theory. *Annual Review of Physical Chemistry*. 1964;15(1):155-196.
26. Marcus RA. Electron transfer reactions in chemistry. Theory and experiment. *Reviews of Modern Physics*. 1993;65(3):599-610.
27. Nelsen SF, Weaver MN, Luo Y, Pladziewicz JR, Ausman LK, Jentzsch TL, et al. Estimation of electronic coupling for intermolecular electron transfer from cross-reaction data. *The Journal of Physical Chemistry A*. 2006;110(41):11665-11676.
28. Galano A, Alvarez-Idaboy JR. A computational methodology for accurate predictions of rate constants in solution: application to the assessment of primary antioxidant activity. *Journal of Computational Chemistry*. 2013;34(28):2430-2445.
29. Wigner E. On the Quantum Correction For Thermodynamic Equilibrium. *Physical Review*. 1932;40(5):749-759.
30. Eckart C. The Penetration of a Potential Barrier by Electrons. *Physical Review*. 1930;35(11):1303-1309.
31. Alberto ME, Russo N, Grand A, Galano A. A physicochemical examination of the free radical scavenging activity of Trolox: mechanism, kinetics and influence of the environment. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2013;15(13):4642.
32. Vélez E, Quijano J, Notario R, Pabón E, Murillo J, Leal J, et al. A computational study of stereospecificity in the thermal elimination reaction of menthyl

- benzoate in the gas phase. *Journal of Physical Organic Chemistry*. 2009;22(10):971-977.
33. Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, et al. *Gaussian 09*. 2009; Gaussian, Inc., Wallingford CT, USA.
34. Wright JS, Johnson ER, DiLabio GA. Predicting the Activity of Phenolic Antioxidants: Theoretical Method, Analysis of Substituent Effects, and Application to Major Families of Antioxidants. *Journal of the American Chemical Society*. 2001;123(6):1173-1183.
35. Serobatse KRN, Kabanda MM. An appraisal of the hydrogen atom transfer mechanism for the reaction between thiourea derivatives and  $\bullet\text{OH}$  radical: A case-study of dimethylthiourea and diethylthiourea. *Computational and Theoretical Chemistry*. 2017;1101:83-95.
36. Ingold KU, Pratt DA. Advances in radical-trapping antioxidant chemistry in the 21st century: a kinetics and mechanisms perspective. *Chemical Reviews*. 2014;114(18):9022-9046.