

2. Karamad E. The Impact of Online Reviews on Consumer Decision-Making: A Survey in the Ukrainian Market. 2023. URL: <https://discovery.researcher.life/article/the-impact-of-onlinereviewsonconsumerdecisionmakingasurveyinthe-ukrainianmarket/02a1e7bd628c38c996206bbbf171850e>

3. Splytska L. Consumer psychology and the effectiveness of marketing campaigns: The influence of psychological factors on consumer preferences and purchases. *Economics of Development*. 2024. Vol. 23, № 4. P. 48–59. URL: <https://repository.hneu.edu.ua/jspui/handle/123456789/35755>

4. Мороз О., Куц А., Бунак А. Інформаційно-комунікаційні технології у цифровій рекламі. *Herald of Khmelnytskyi National University. Economic Sciences*. Vol. 342(3(2)). P. 134–139. DOI: [https://doi.org/10.31891/2307-5740-2025-342-3\(2\)-21](https://doi.org/10.31891/2307-5740-2025-342-3(2)-21)

5. Опитування PwC «Голос споживача» в Україні, 2025 рік. Аналіз уподобань споживачів. URL: <https://www.pwc.com/ua/en/survey/2025/voice-of-the-consumer-survey-ukraine.html>

6. Приходько О., Семенова Л. Роль штучного інтелекту у вивченні поведінки сучасних споживачів. DOI: 10.32702/2306-6814.2024.22.149.

УДК 547.972:577.152.1

АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ СИНТЕТИЧНИХ ПОХІДНИХ КУМАРИНУ В РЕАКЦІЇ З ДИФЕНІЛПІКРИЛГІДРАЗІЛОМ

Т. П. Бахнівська, А. Д. Шуригіна, О. П. Щіпіна, Ю. О. Лесишина

Анотація. У статті досліджено антиоксидантні властивості трьох синтетичних орто-дигідроксипохідних-4-метилкумарину: 6,7-дигідрокси-4-гідроксиметилкумарину, 6,7-дигідрокси-4-метилкумарину, 7,8-дигідрокси-4-гідроксиметилкумарину. Визначення антиоксидантної активності кумаринів проводили *in vitro* за методикою, що базується на реакції відновлення стабільного вільного радикала 1,1-дифеніл-2-пікрилгідрозилу фенольними антиоксидантами. Встановлено, що досліджувані сполуки є ефективними антиоксидантами.

Ключові слова: 4-метилкумарини, антиоксидантна активність, DPPH*.

Вступ. Кумарини становлять великий клас природних низькомолекулярних поліфенольних сполук, які розповсюджені у рослинному світі і характеризуються численними фармакологічними ефектами: спазмолітичним, коронаророзширювальним, фотосенсибілізуючим; проти-запальним; протиалергічним та ін. Ці властивості кумаринів широко досліджені як *in vitro*, так і *in vivo*, а деякі природні або синтетичні похідні кумаринів знайшли застосування у фармацевтичній промисловості.

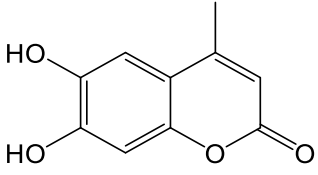
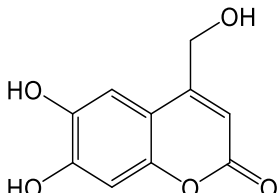
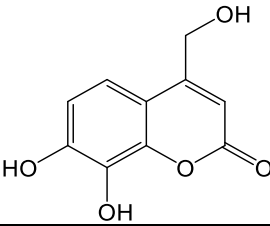
У багатьох біологічних системах була виявлена антиоксидантна дія кумаринів і їх похідних; доведено, що антиоксидантні властивості кумаринів у значному ступені залежать від їх хімічної структури.

Встановлено, що незаміщені кумарини в процесі метаболізму в організмі людини можуть утворювати епоксиди 3,4-метилкумарину, які вважаються мутагенними. Водночас синтетичні 4-метилкумарини не є субстратами монооксигенази печінки P450, яка каталізує реакцію утворення епоксидів, і відповідно можуть бути кращими кандидатами для застосування на практиці як компоненти фармацевтичних препаратів або антиоксиданти [1].

Мета цієї роботи полягає у визначенні антиоксидантної активності трьох новосинтезованих похідних орто-дигідрокси-4-метилкумарину: 6,7-дигідрокси-4-метилкумарину, 6,7-дигідрокси-4-гідроксиметилкумарину, 7,8-дигідрокси-4-гідроксиметилкумарину за методикою, що базується на реакції відновлення стабільного вільного радикала 1,1-дифеніл-2-пікрилгідрозилу (DPPH*).

Експериментальна частина

Фенольні антиоксиданти: орто-дигідроксипохідні 4-метилкумарину були синтезовані науковою групою Михайла Фрасинюка (Інститут органічної хімії НАН України, м. Київ). Як розчинник кумаринів використовували 96 %-вий етанол; погано розчинні в етанолі похідні 4-гідроксиметилкумаринів попередньо розчиняли у невеликій кількості диметилсульфоксиду.

		
6,7-дигідрокси-4-метилкумарин	6,7-дигідрокси-4-гідроксиметилкумарин	7,8-дигідрокси-4-гідроксиметилкумарин

Реагенти: стабільний вільний радикал DPPH•.

DPPH•-метод [2]. Здатність досліджуваних кумаринів поглинати вільні радикали визначали за знебарвленням розчину стабільного радикала DPPH•. Вихідний розчин концентрованого DPPH• в етанолі розводили так, щоб значення оптичної густини за 518 нм становило 1.00 ± 0.05 , що відповідало концентрації $8.7 \cdot 10^{-5}$ моль/л з урахуванням коефіцієнта екстинкції DPPH• $(1.15 \pm 0.05) \times 10^4$ л/(моль·см). У кювету з товщиною поглинаючого шару 1 см додавали 2.8 мл етанольного розчину DPPH• і 0.2 мл етанольного розчину відповідного кумарину в діапазоні концентрацій 10^{-5} – 10^{-6} моль/л. Реакційну суміш ретельно перемішували і залишали на 30 хв у темному місці. Після закінчення часу змінення інтенсивності забарвлення DPPH• визначали спектрофотометричним методом за довжини хвилі 518 нм.

Антирадикальну активність (АРА %) розраховували за формулою:

$$ARA \% = \frac{A_0 - A_{coum}}{A_0} \times 100 \%,$$

де A_0 – оптична густина вихідного розчину DPPH•;

A_{coum} – оптична густина суміші розчинів кумарину і DPPH• через 30 хв.

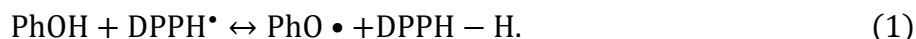
Антиоксидантну активність кумаринів виражали за допомогою параметра EC_{50} .

EC_{50} (Effective Concentration 50 %) – це концентрація антиоксиданту, яка є необхідною для зниження концентрації вільних радикалів на 50 %. Чим нижче значення EC_{50} , тим вища антиоксидантна активність сполуки. Для визначення параметра EC_{50} будували графіки залежності антирадикальної активності кумаринів (АРА %) від їх концентрації для знаходження точки, що відповідає 50 % активності.

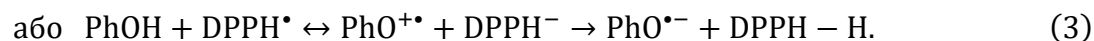
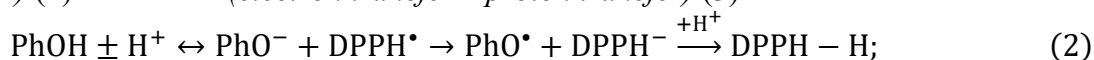
Обговорення результатів. DPPH•-метод найбільш часто застосовується як непрямий метод визначення антиоксидантної активності кумаринів, оскільки ці сполуки нерозчинні у водному середовищі.

Під час взаємодії фенольних антиоксидантів з DPPH• перенесення атома Гідрогену на радикал може перебігати за двома незалежними конкуруючими механізмами: радикальним (HAT) та йонним (SPLET).

Радикальний механізм HAT (hydrogen atom transfer) базується на безпосередньому відриві атома Гідрогену від молекули фенольного антиоксиданту і перенесенні його на радикал. Із найбільшою швидкістю реакція за цим механізмом перебігає зазвичай у неполярних розчинниках за схемою:



Інший механізм базується на перенесенні електрона молекулою йонізованого фенольного антиоксиданту на DPPH•; вважається, що саме цей механізм переважає у полярних розчинниках і перебігає за наведеними нижче схемами під назвами SPLET (sequential proton loss – electron transfer) (2) або ET-PT (electron transfer – proton transfer) (3):



Під час взаємодії спостерігається знебарвлення розчину DPPH•, пов'язаного з перетворенням радикала у молекулярну форму, що легко контролюється за зменшенням інтенсивності абсорбції за 518 нм.

Кінетичні криві витрачання DPPH^{*} в реакції з досліджуваними похідними 4-метилкумарину наведені на рис. 1.

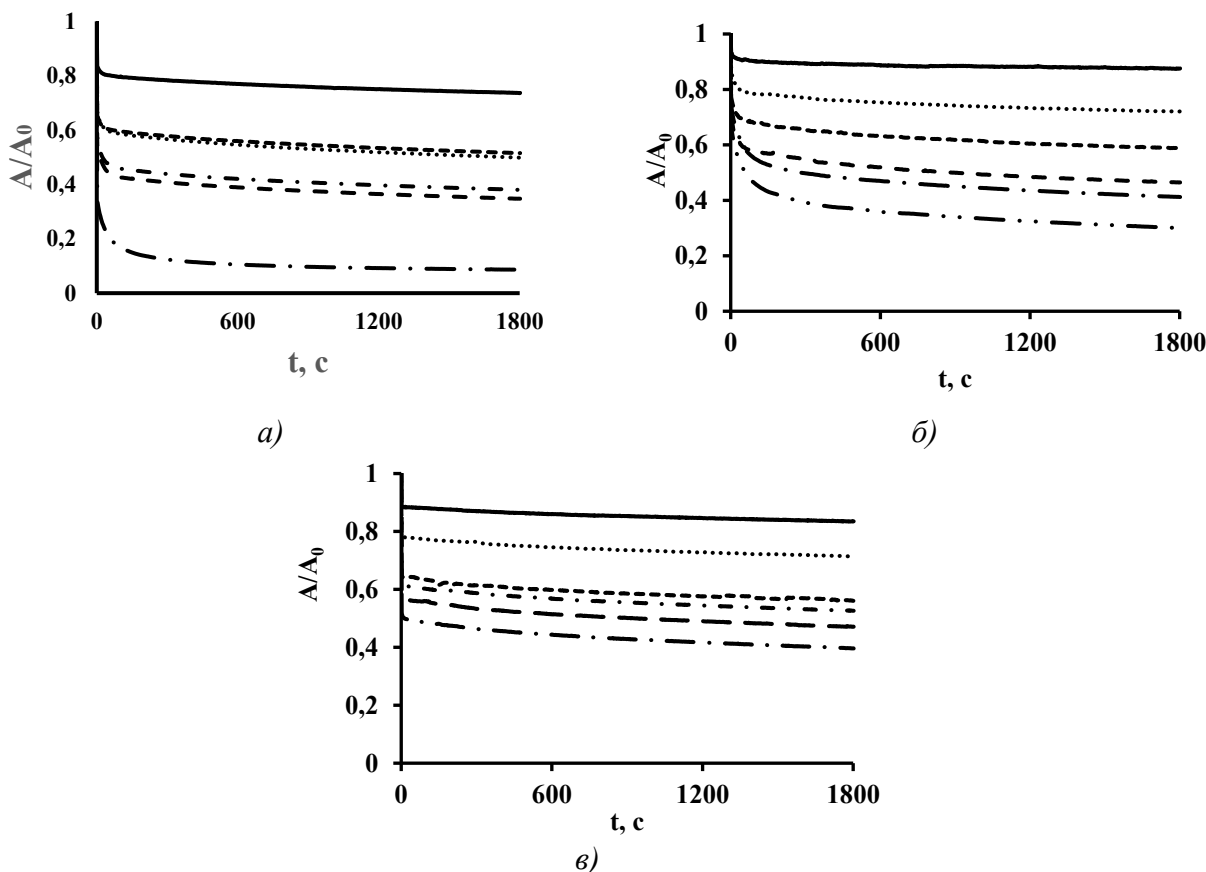


Рис. 1. Кінетичні криві витрачання DPPH^{*} в реакції з похідними 4-метилкумарину, де *a* – 6,7-дигідрокси-4-метилкумарин, *б* – 6,7-дигідрокси-4-гідроксиметилкумарин, *в* – 7,8-дигідрокси-4-гідроксиметилкумарин
 $C_{\text{сум}} = 5.5 \times 10^{-6} \div 2.8 \times 10^{-5}$ моль/л; $T = 293\text{K}$; $\lambda = 518 \text{ nm}$

На швидкість і форму кінетичних кривих реакції впливають два фактори: механізми *HAT* або *SPLET (ET-PT)* та стеричний доступ до радикала. Антиоксиданти, що діють шляхом *SPLET (ET-PT)* і мають повний доступ до радикального сайту, реагують протягом мілісекунд. Реакції сповільнюються наявністю у молекулі фенолу декількох *HO*-груп і кілець, об'ємних циклічних аддуктів, високими концентраціями антиоксидантів і перенесенням атомів Гідрогену. Вид кінетичних кривих для 6,7-дигідрокси-4-метилкумарину і 6,7-дигідрокси-4-гідроксиметилкумарину: швидкий початковий спад із подальшим продовженням реакції, особливо за збільшення концентрації кумарину, може свідчити про механізм перенесення електрона та наявності стеричних перешкод, які заважають дифузії та орієнтації кумарину до радикала. Також ці сполуки можуть частково діяти шляхом повільного перенесення атомів Гідрогену. Миттєва початкова реакція, як у випадку з 7,8-дигідрокси-4-гідроксиметилкумарином, виникає внаслідок перенесення електронів.

Залежності глибини перетворення DPPH^{*} (АРА %) у перші 30 хв від початкової концентрації відповідного 4-метилкумарину наведена на рис. 2–4.

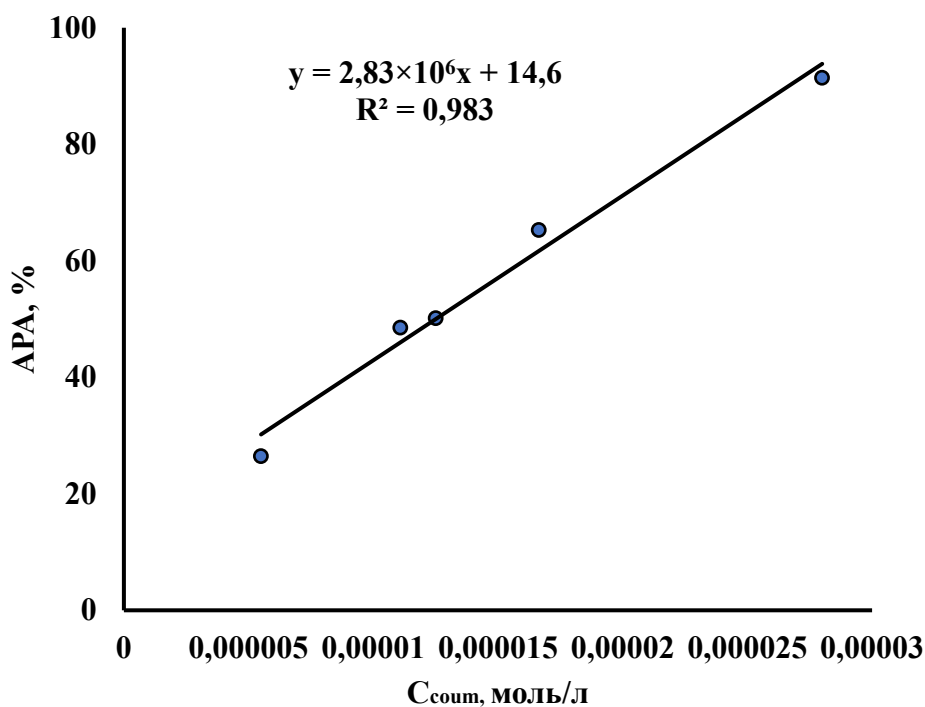


Рис. 2. Залежність глибини перетворення DPPH• (APA %) у перші 30 хв від початкової концентрації 6,7-дигідрокси-4-метилкумарину $C_{soum} = 5,5 \times 10^{-6} \div 2,8 \times 10^{-5}$ моль/л; $T = 293K$; $\lambda = 518$ нм

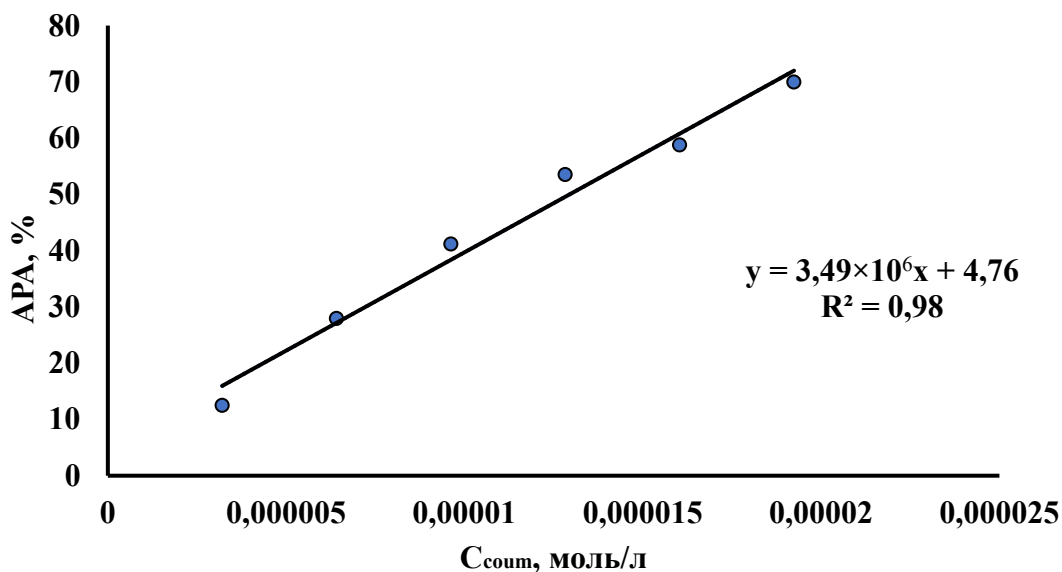


Рис. 3. Залежність глибини перетворення DPPH• (APA%) у перші 30 хв від початкової концентрації 6,7-дигідрокси-4-гідроксиметилкумарину $C_{soum} = 3,2 \times 10^{-6} \div 2,0 \times 10^{-5}$ моль/л; $T = 293K$; $\lambda = 518$ нм

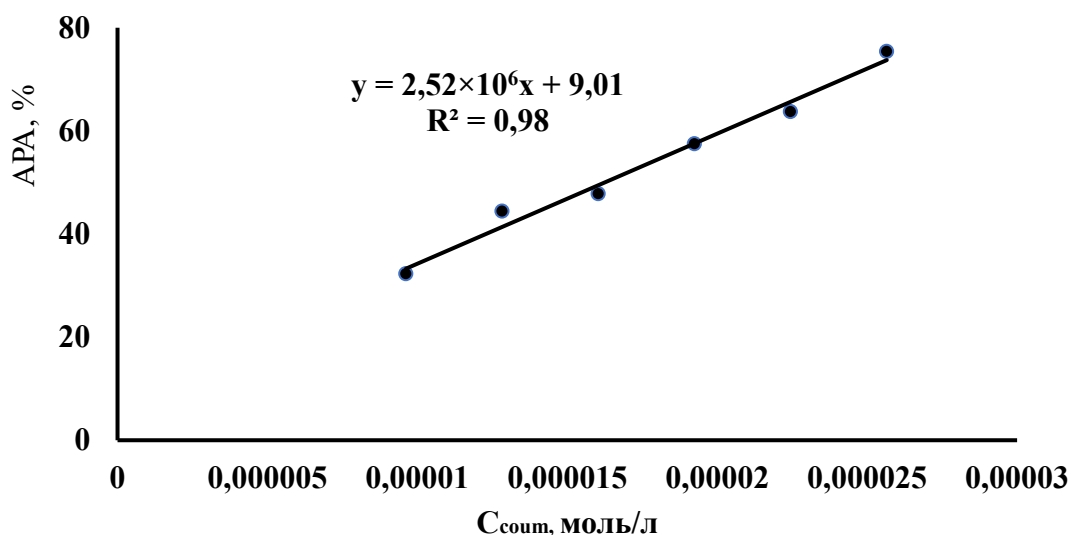


Рис. 4. Залежність глибини перетворення DPPH• (APA%) у перші 30 хв від початкової концентрації 7,8-дигідрокси-4-гідроксиметилкумарину $C_{soum} = 9.6 \times 10^{-6} \div 1.3 \times 10^{-5}$ моль/л; T – 293K; $\lambda = 518$ нм

Результати визначення параметру EC_{50} для досліджуваних кумаринів наведені у табл. 1. Таблиця 1

Значення EC_{50} досліджуваних кумаринів, визначених за допомогою DPPH•-методу

Сполука	EC_{50} , мкмоль/л
6,7-дигідрокси-4-метилкумарин	12.51
6,7-дигідрокси-4-гідроксиметилкумарин	12.95
7,8-дигідрокси-4-гідроксиметилкумарин	16.2
Кверцетин [3]	30.9

Результати свідчать, що похідні 4-метилкумарину мають співрозмірні значення EC_{50} за DPPH• і перевищують цей показник для флавоноїду кверцетину.

Висновки. Отже, *in vitro* була визначена антиоксидантна активність трьох синтетичних дигідрокси-похідних похідних 4-метилкумарину в реакції їх взаємодії з вільним радикалом дифенілпікрилгідразилом. Показано, що 6,7-дигідрокси-4-метилкумарин, 6,7-дигідрокси-4-гідроксиметилкумарин і 7,8-дигідрокси-4-гідроксиметилкумарин є ефективними антиоксидантами, а величина EC_{50} за DPPH• досліджуваних кумаринів перевищує цей параметр антиоксидантної активності для флавоноїду кверцетину.

Abstract. The article investigated the antioxidant properties of three synthetic *ortho*-dihydroxy derivatives of 4-methylcoumarin: 6,7-dihydroxy-4-hydroxymethylcoumarin, 6,7-dihydroxy-4-methylcoumarin, 7,8-dihydroxy-4-hydroxymethylcoumarin. The determination of the antioxidant activity of coumarins was carried out *in vitro* using method based on the reduction reaction of the stable free radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. It was established that the investigated compounds are effective antioxidants.

Keywords: 4-methylcoumarins, antioxidant activity, DPPH•.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Antioxidant properties of 4-methylcoumarins in *in vitro* cell-free systems / G. Morabito et al. *Biochimie*. 2010. Vol. 92, № 9. P. 1101–1107. URL: <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2010.04.017>
2. Schaich K. M., Tian X., Xie J. Reprint of «Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays». *Journal of Functional Foods*. 2015. Vol. 18. P. 782–796. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.05.024>
3. Synthesis of hydroxylated azomethine compounds and the antioxidant activity / Nova Rifqi Rahmawati et al. *Cite as: AIP Conference Proceedings 2237, 020023* (2020). Published Online: 02 June 2020. URL: <https://doi.org/10.1063/5.0005806>