

УДК 544.42:543.9

О.М. Дикун ^а, А.М. Редько ^а, В.М. Аніщенко ^а, В.І. Рибаченко ^а, О.І. Дзюба ^б**РЕАКЦІЙНА ЗДАТНІСТЬ ОСНОВ ШИФФА ГОСИПОЛУ В РЕАКЦІЯХ З 2,2'-ДИФЕНІЛ-1-ПІКРИЛГІДРАЗІЛОМ У ПРИСУТНОСТІ ХЛОРИДНОЇ КИСЛОТИ**^а Інститут фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л.М. Литвиненка НАН України, Київ^б Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України, Київ

Синтезовано і методом ¹H ЯМР встановлено будову 5 основ Шиффа госиполу з 4-фтораніліном, 4-метоксіаніліном, 3-аміно-5-метилізоксазолом, 4-аміноантипірином і аніліном. Виконано реакцію одержаних сполук з 2,2'-дифеніл-1-пікрілгідразилом (DPPH) у присутності хлоридної кислоти, що дозволило визначити відповідні константи швидкості. Вплив добавки хлоридної кислоти полягає в протонуванні атома Нітрогену азометинової групи основ Шиффа госиполу, при цьому таутомерна рівновага зсувається в бік діімінної форми (в структурі молекули з'являються додаткові О–Н групи, що здатні реагувати з DPPH). Показано існування кореляції між величинами хімічних зсувів протонів N–H груп азометинової групи основ Шиффа госиполу і константами швидкості реакції з DPPH в присутності хлоридної кислоти. Більші значення хімічних зсувів протонів N–H груп азометинової групи вказують на більшу реакційну здатність відповідних основ Шиффа. Різниця в реакційній здатності досліджуваних основ Шиффа може бути пояснена зміною основності атома Нітрогену азометинової групи. Визначено біологічну активність досліджуваних основ Шиффа госиполу за допомогою біотестів на кореневій системі огірків (*Cucumis sativus L.*).

Ключові слова: госипол, основа Шиффа, 2,2'-дифеніл-1-пікрілгідразил, реакційна здатність, біологічна активність.

DOI: 10.32434/0321-4095-2019-125-4-35-40

Вступ

Дослідження антирадикальних властивостей імінопохідних природного поліфенолу, госиполу, є актуальною і важливою задачею, адже біологічні властивості поліфенолів багато в чому визначаються здатністю інгібувати вільнорадикальні процеси окиснення [1–3]. Один із розповсюджених методів оцінювання антирадикальних властивостей поліфенолів полягає у знебарвленні стабільного азотцентрованого радикала 2,2'-дифеніл-1-пікрілгідразилу (DPPH) [2–5]. Але у випадку імінопохідних госиполу (як і багатьох інших поліфенолів) початкові стадії процесу перебігають настільки швидко, що навіть при нестачі антиоксиданту за відношенням до радикала, кінетичні криві вдається зареєструвати тільки при значних ступенях перетворення [5,6]. Це не дозволяє оцінити реакційну здатність імінопохідних госиполу стосовно DPPH без застосування обладнання для дослідження кінетики швидких реакцій.

Відомо, що реакції фенолів з DPPH у полярних розчинниках відбуваються за двома конкуруючими процесами: НАТ (hydrogen atom transfer) і SPLET (sequential proton loss electron transfer) [7]. Внесок кожного з механізмів визначається кислотно-лужними властивостями самого фенолу і розчинника, а ефективна константа швидкості реакції є сумою констант двох процесів. В присутності кислоти швидкість реакції фенольних антиоксидантів з DPPH в полярних розчинниках суттєво знижується за рахунок пригнічення механізму SPLET [8]. В присутності кислоти рівновага кислотно-основної дисоціації фенольних антиоксидантів зміщується в бік недисоційованих молекул, внаслідок чого, реакція з DPPH відбувається за повільнішим механізмом НАТ.

У даній роботі досліджено реакційну здатність ряду основ Шиффа госиполу (рис. 1)

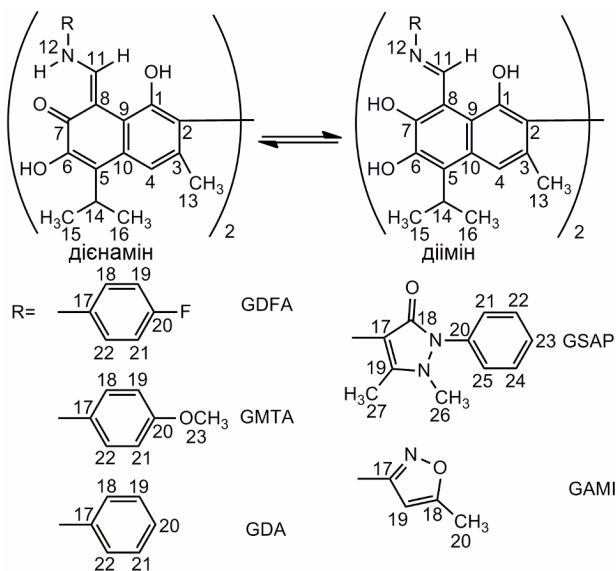


Рис. 1. Будова таутомерів і нумерація атомів основ Шиффа госиполу

за відношенням до DPPH у присутності хлоридної кислоти.

Експериментальна частина

Прилади і матеріали

У роботі використовували DPPH фірми Aldrich. Госипол виділяли з насіння бавовни і очищували за методикою Адамса [9]. ^1H ЯМР спектри реєстрували у CDCl_3 на спектрометрі Bruker Avance II 400 МГц при $T=293$ К. Як внутрішній стандарт використовували залишкові сигнали протонів розчинника. Чистоту синтезованих сполук контролювали за допомогою методу обернено-фазової високоефективної рідинної хроматографії (ОФ ВЕРХ) з використанням системи Agilent 1100 з діодно-матричним детектором. Використовували колонку Zorbax Eclipse PLUS C-18 $2,1 \times 150,0$ мм з діаметром частинок 3,5 мкм у поєднанні з ізократичним елюванням $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}(0,05 \text{ M H}_3\text{PO}_4)=10\%:90\%$ зі швидкістю 0,5 мл/хв. Кінетичні вимірювання виконували в кюветах з довжиною оптичного шляху 1 см на спектрометрі Perkin-Elmer Lambda 20 при $T=283$ К. Реєстрували зниження інтенсивності смуги поглинання при $\lambda=518$ нм впродовж 1200 с.

Синтез імінопохідних госиполу

Усі досліджувані основи Шиффа госиполу синтезували як описано в [6,10]: у колбі на 100 мл, що обладнана зворотним холодильником, змішували 50 мл розчину $5 \cdot 10^{-4}$ моль «ацетату госиполу» в етанолі з 10 мл розчину $1 \cdot 10^{-3}$ моль відповідного аміну в етанолі. Реакційну суміш

кип'ятили протягом 3 год, після чого осад, що випав, відфільтровували і послідовно промивали невеликими порціями петролейного та діетилового етерів. Отримані речовини перекристалізовували із етанолу (або ацетонітрилу або хлороформу).

Чистота одержаних сполук за результатами ОФ ВЕРХ складала $>95\%$.

Будову синтезованих основ Шиффа підтверджували методом ^1H ЯМР спектроскопії.

^1H ЯМР GDFA (CDCl_3), $\delta(\text{H})$, м.ч.: C(1)OH (2H, 5,79, c); C(6)OH (2H, 7,85, c); C(4)H (2H, 7,63, c); C(11)H (2H, 10,09, д, $^3\text{J}(\text{HC}, \text{NH})=10,3$ Гц); N(12)H (2H, 15,01, д, $^3\text{J}(\text{HC}, \text{NH})=10,3$ Гц); C(13)H (6H, 2,15, c); C(14)H (2H, 3,72, м); C(15)H і C(16)H (12H, 1,53 і 1,55, д, $^3\text{J}(\text{HC}, \text{CH})=6,5$ Гц); C(18, 22)H (4H, 7,06, м); C(19, 21)H (4H, 7,24, м); діенамінна таутомерна форма.

^1H ЯМР GMTA (CDCl_3), $\delta(\text{H})$, м.ч.: C(1)OH (2H, 5,77, c); C(6)OH (2H, 7,91, c); C(4)H (2H, 7,63, c); C(11)H (2H, 10,09, д, $^3\text{J}(\text{HC}, \text{NH})=10,5$ Гц); N(12)H (2H, 15,09, д, $^3\text{J}(\text{HC}, \text{NH})=10,5$ Гц); C(13)H (6H, 2,15, c); C(14)H (2H, 3,74, м); C(15)H і C(16)H (12H, 1,54 і 1,56, д, $^3\text{J}(\text{HC}, \text{CH})=6,4$ Гц); C(18, 22)H (4H, 6,89, д, $^3\text{J}(\text{HC}, \text{CH})=8,9$ Гц); C(19, 21)H (4H, 7,24, д, $^3\text{J}(\text{HC}, \text{CH})=8,9$ Гц); C(23)H (6H, 3,79, c); діенамінна таутомерна форма.

^1H ЯМР GAMI (CDCl_3), $\delta(\text{H})$, м.ч.: C(1)OH (2H, 5,79, c); C(6)OH (2H, 7,66, c); C(4)H (2H, 7,56, c); C(11)H (2H, 10,02, д, $^3\text{J}(\text{HC}, \text{NH})=11,3$ Гц); N(12)H (2H, 14,27, д, $^3\text{J}(\text{HC}, \text{NH})=11,3$ Гц); C(13)H (6H, 2,12, c); C(14)H (2H, 3,68, м); C(15)H і C(16)H (12H, 1,52 і 1,54, д, $^3\text{J}(\text{HC}, \text{CH})=6,9$ Гц); C(19)H (2H, 5,99, c); C(20)H (6H, 2,39, c); діенамінна таутомерна форма.

^1H ЯМР GSAP (CDCl_3), $\delta(\text{H})$, м.ч.: C(1)OH (2H, 5,74, c); C(6)OH (2H, 7,92, c); C(4)H (2H, 7,55, c); C(11)H (2H, 11,01, c); N(12)H (2H, 16,14, c); C(13)H (6H, 2,08, c); C(14)H (2H, 3,71, м); C(15)H і C(16)H (12H, 1,53 і 1,55, д, $^3\text{J}(\text{HC}, \text{CH})=7,2$ Гц); C(21, 25)H (4H, 7,33, д, $^3\text{J}(\text{HC}, \text{CH})=7,7$ Гц); C(22, 24)H (4H, 7,40, м); C(23)H (2H, 7,28, м); C(26)H (6H, 3,09, c); C(27)H (6H, 2,43, c); діенамінна таутомерна форма.

^1H ЯМР GDA (CDCl_3), $\delta(\text{H})$, м.ч.: C(1)OH (2H, 5,80, c); C(6)OH (2H, 7,90, c); C(4)H (2H, 7,64, c); C(11)H (2H, 10,18, c); N(12)H (2H, 14,86, c); C(13)H (6H, 2,16, c); C(14)H (2H, 3,73, м); C(15)H і C(16)H (12H, 1,53 і 1,55, д, $^3\text{J}(\text{HC}, \text{CH})=5,9$ Гц); C(18, 22)H (4H, 7,30, д, $^3\text{J}(\text{HC}, \text{CH})=7,4$ Гц); C(19, 21)H (4H, 7,36, м); C(20)H (2H, 7,18, м); діенамінна таутомерна форма.

Виконання кінетичних вимірювань

Для виконання реакції з DPPH, розчини основ Шиффа госиполу, що містили хлоридну кислоту, змішували з розчином DPPH в етанолі. Початкові концентрації основ Шиффа госиполу (АО), DPPH і хлоридної кислоти в реакційній суміші склали: $C_0AO = (1,25 \pm 0,05) \cdot 10^{-5}$ М; $C_0DPPH = (1,0 \pm 0,04) \cdot 10^{-4}$ М; $C_0HCl = 0,03$ М, відповідно. $T = 283$ К.

Для визначення біологічної активності основ Шиффа госиполу виконували біотести на кореневій системі огірків (*Cucumis sativus L.*) [11]. Статистичну обробку даних виконували з використанням t-критерія Стьюдента ($P = 0,95$).

Результати і обговорення

Раніше нами показано, що імінопохідні госиполу є ефективними антирадикальними агентами стосовно DPPH [3,5,6]. Для характеристики реакції цих сполук з DPPH використано низку параметрів: EC_{50} (концентрація антиоксиданту, що необхідна для зменшення концентрації радикала на 50%), стехіометричні коефіцієнти, VCEAC (еквівалент антиоксидантної ємності в перерахунку на аскорбінову кислоту), TEAC (еквівалент антиоксидантної ємності в перерахунку на тролокс). Недоліком цих параметрів є відсутність зв'язку з тривалістю реакції. Жоден з них не надає уяви про реакційну здатність імінопохідних госиполу щодо DPPH.

Для дослідження реакційної здатності ряду основ Шиффа госиполу стосовно DPPH нами виконано реакцію в присутності хлоридної кислоти. Окрім того, вимірювання виконувались при зниженій температурі ($T = 283$ К). Такий підхід призвів до суттєвого зменшення швидкості процесу і дозволив визначити константи швидкості реакції.

На рис. 2 наведено кінетичні криві витрачання DPPH в присутності основ Шиффа госиполу з 4-фтораніліном (GDFA) і аніліном (GDA) при додаванні хлоридної кислоти.

За цих умов кінетичні криві зменшення оптичної густини розчину DPPH при взаємодії з основами Шиффа госиполу спрямляються в координатах інтегрального рівняння реакції другого порядку [12]:

$$\ln \frac{1 - A_k / A}{1 - A_k / A_0} = - \frac{k \cdot C_0 AO}{A_0 / A_k - 1} t,$$

де A_0 – початкова оптична густина; A – оптична густина в момент часу t ; A_k – оптична густина по завершенні реакції; C_0AO – початкова концентрація антиоксиданту.

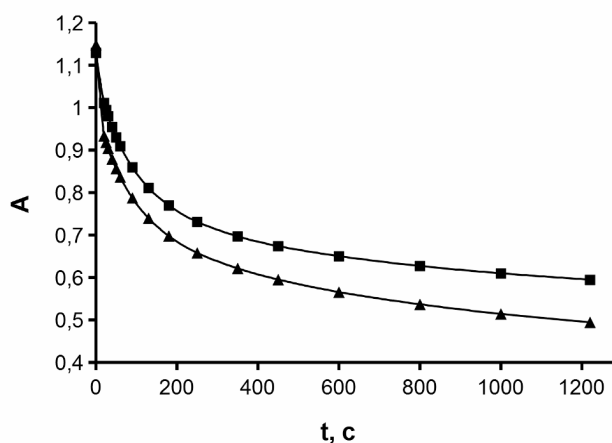


Рис. 2. Зниження оптичної густини в часі $(1,0 \pm 0,04) \cdot 10^{-4}$ М розчину DPPH при $\lambda = 518$ нм в етанолі після додавання $(1,25 \pm 0,05) \cdot 10^{-5}$ М основ Шиффа госиполу в присутності хлоридної кислоти при $T = 283$ К (▲ – GDFA, ■ – GDA)

Таким чином, залежність $\ln((1 - A_k/A)/(1 - A_k/A_0))$ від часу лінійна з певним відхиленням від прямої, якщо A наближається до A_k . Нахил прямої дозволяє визначити константу швидкості (k) (табл. 1). В табл. 1 наведено константи швидкості реакції основ Шиффа госиполу GDFA, GMTA, GAMI, GSAP та GDA з DPPH у присутності хлоридної кислоти.

Таблиця 1
Константи швидкості реакції основ Шиффа госиполу $((1,25 \pm 0,05) \cdot 10^{-5}$ М) з DPPH $((1,0 \pm 0,04) \cdot 10^{-4}$ М) в етанолі при $T = 283$ К у присутності хлоридної кислоти

Сполука	$k, \text{л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$
GDFA	307 ± 25
GMTA	384 ± 26
GAMI	181 ± 20
GSAP	532 ± 32
GDA	231 ± 23

За зростанням реакційної здатності за відношенням до DPPH у присутності хлоридної кислоти досліджувані сполуки утворюють послідовність: GSAP > GMTA > GDFA > GDA > GAMI.

Відомо, що під впливом сильних кислот відбувається протонування атома Нітрогену азометинової групи основ Шиффа госиполу [13]. Це приводить до зміщення таутомерної рівноваги від діенамінної до діімінної таутомерної форми [13]. При цьому в структурі молекули з'являються додаткові О–Н групи, що здатні реагувати з DPPH. Чим більшу основність має

атом Нітрогену азометинової групи, тим легше відбувається зсув таутомерної рівноваги в бік діїмінної таутомерної форми. Тоді різниця в реакційній здатності досліджуваних основ Шиффа може бути пояснена здатністю до протонування атома Нітрогену азометинової групи. Слід відзначити, що існує кореляція хімічних зсувів протонів N(12)–H груп від констант швидкості реакції імінопохідних госиполу з DPPH у присутності хлоридної кислоти (відповідна залежність наведена на рис. 3). Більші значення хімічних зсувів протонів N(12)–H груп вказують на більшу реакційну здатність відповідних основ Шиффа в реакції з DPPH в присутності хлоридної кислоти.

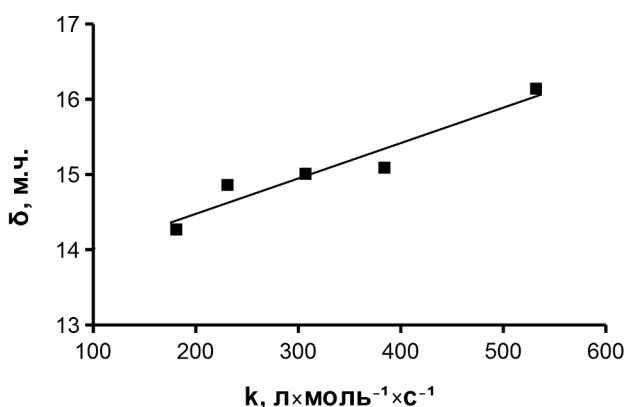


Рис. 3. Кореляція між хімічним зсувом протонів N(12)–H груп і константою швидкості реакції імінопохідних госиполу з DPPH у присутності хлоридної кислоти

Таким чином, додавання хлоридної кислоти дозволяє знизити швидкість реакції і визначити константи швидкості без застосування обладнання для дослідження кінетики швидких реакцій. Наявність кореляції хімічних зсувів протонів N(12)–H груп і констант швидкості дозволяє прогнозувати реакційну здатність основ Шиффа госиполу стосовно DPPH в присутності хлоридної кислоти.

Для отриманих основ Шиффа була досліджена біологічна активність. Як тест-об'єкт було використано насіння огірка *Cucumis sativus L.*, що обумовлено особливостями формування його кореневої системи: бічні корені утворюються внаслідок мітозу (ділення клітин), після того як головний корінь досягає певного розміру (подальше збільшення довжини головного кореня відбувається внаслідок розтягування клітин) [11]. Тому, огірки як тест-об'єкт зручно використовувати для визначення цитостатичної активності сполук.

В табл. 2 наведено дані, що відображають вплив імінопохідних госиполу на формування кореневої системи огірків (*Cucumis sativus L.*).

Отримані дані свідчать, що всі досліджувані сполуки стимулюють збільшення довжини головного кореня. Крім того, усі сполуки пригнічують появу бічних коренів (деякі майже на 50%) у порівнянні з контрольним дослідом. Це свідчить про те, що всі досліджувані сполуки пригнічують проліферацію клітин і мають високу цитостатичну активність.

Таблиця 2

Вплив імінопохідних госиполу на формування кореневої системи огірків (*Cucumis sativus L.*)

Сполука	Концентрація, М·10 ⁴	Приріст довжини головного кореня, % від контрольного	Поява бічних коренів, % від контрольного
GDFA	7,00	193±15	73±7
	0,70	192±20	68±7
	0,07	115±14	57±6
GMTA	7,00	180±17	82±7
	0,70	138±12	64±6
	0,07	129±9	59±10
GAMI	7,00	193±22	86±10
	0,70	207±22	70±8
	0,07	198±22	95±11
GSAP	7,00	191±25	88±8
	0,70	189±22	77±9
	0,07	172±21	73±9
GDA	7,00	183±22	96±9
	0,70	175±21	64±7
	0,07	210±26	81±9

Висновки

Синтезовано низку основ Шиффа госиполу і підтверджено їх будову. Досліджено реакцію одержаних сполук з DPPH у присутності хлоридної кислоти. Визначено константи швидкості реакції. Показано існування кореляції між величинами хімічних зсувів протонів N–H груп азометинової групи досліджених сполук і константами швидкості реакції з DPPH у присутності хлоридної кислоти, що дозволяє прогнозувати реакційну здатність основ Шиффа госиполу стосовно DPPH в кислому середовищі. За допомогою біотестів на кореневій системі огірків *Cucumis sativus* L., визначено біологічну активність одержаних основ Шиффа госиполу. Встановлено, що всі досліджені сполуки пригнічують проліферацію клітин і мають високу цитостатичну активність.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *The characterization of antioxidants* / B. Halliwell, R. Aeschbach, J. Loliger, O.I. Aruoma // *Food and Chemical Toxicology*. – 1995. – Vol.33. – No. 7. – P.601-617.
2. *Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical* / Villano D., Fernandez-Pachon M.S., Moya M.L., Troncoso A.M., Garcia-Parrilla M.C. // *Talanta*. – 2007. – Vol.71. – P.230-235.
3. *Study of reaction of gossypol and its imino derivatives with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* / Il'kevich N.S., Rybachenko V.I., Schroeder G., Dmitruk A.F., Chotiy K.Y. // *Russian Journal of General Chemistry*. – 2010. – Vol.80. – No. 2. – P.301-307.
4. *Foti M.C. Use and abuse of the DPPH radical* // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2015. – Vol.63. – No. 40. – P.8765-8776.
5. *Vibrational spectra, structure and antioxidant activity of gossypol imine derivatives* / Ilkevych N.S., Schroeder G., Rybachenko V.I., Chotiy K.Y., Makarova R.A. // *Spectrochimica Acta Part A*. – 2012. – Vol.86. – P.328-335.
6. *Количественная оценка антирадикальных свойств оснований Шиффа и гидразонов госсипола* / А.М. Дикун, А.Н. Редько, В.Н. Анищенко, В.И. Рыбаченко // *Украинский химический журнал*. – 2018. – Т.84. – № 6. – С.115-126.
7. *Acidity of hydroxyl groups: an overlooked influence on antiradical properties of flavonoids* / M. Musialik, R. Kuzmicz, T.S. Pawlowski, G. Litwinienko // *Journal of Organic Chemistry*. – 2009. – Vol.74. – No. 7. – P.2699-2709.
8. *Litwinienko G., Ingold K.U. Abnormal solvent effects on hydrogen atom abstraction. 2. Resolution of the curcumin antioxidant controversy. The role of sequential proton loss electron transfer* // *Journal of Organic Chemistry*. – 2004. – Vol.69. – No. 18. – P.5888-5896.
9. *Campbell K.N., Morris R.C., Adams R. The structure of gossypol. I* // *Journal of the American Chemical Society*. – 1937. – Vol.59. – No. 9. – P.1723-1728.
10. *Spectroscopic and quantum chemical study of gossypol imine derivatives* / Dykun A.M., Anishchenko V.N., Redko A.N., Rybachenko V.I., Chotiy K.Y. // *Journal of Molecular Structure*. – 2019. – Vol.1179. – P.289-296.
11. *Гродзинський А.М. Основи хімічної взаємодії рослин*. – К.: Наукова думка, 1973. – 190 с.
12. *Quantitative kinetic analysis of hydrogen transfer reactions from dietary polyphenols to the DPPH radical* / P. Goupy, C. Dufour, M. Loonis, O. Dangles // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2003. – Vol.51. – No. 3. – P.615-622.
13. *Przybylski P., Schroeder G., Brzezinski B. The Schiff base of gossypol with 2-(aminomethyl)-18-crown-6 complexes and H⁺, Li⁺, Na⁺, K⁺, Rb⁺, Cs⁺ cations studied by ESI MS, ¹H NMR, FT-IR and PM5 semiempirical methods* // *Journal of Molecular Structure*. – 2004. – Vol.699. – No. 1-3. – P.65-77.

Надійшла до редакції 14.03.2019

REACTIVITY OF GOSSYPOL SCHIFF BASES IN REACTIONS WITH 2,2'-DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZYL IN THE PRESENCE OF CHLORIDE ACID

O.M. Dykun ^{a, *}, A.M. Redko ^a, V.I. Rybachenko ^a, O.I. Dzyuba ^b

^a L.M. Litvinenko Institute of Physical-Organic and Coal Chemistry of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

^b M.M. Gryshko National Botanical Garden of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

* e-mail: amdykun@gmail.com

*Five gossypol Schiff bases were synthesized (with 4-fluoroaniline, 4-methoxyaniline, 3-amino-5-methylisoxazole, 4-aminoantipyrine and aniline) and their structures were established by ¹H NMR spectroscopy. The reaction with 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) in the presence of chloride acid was conducted and the correspondent rate constants were determined. The protonation of gossypol Schiff bases in the presence of chloride acid leads to the shift of tautomeric equilibrium from the enamine-enamine form to imine-imine one. Additional O–H groups appear in the structure of the molecule, they are able to react with DPPH). The correlation between the chemical shifts of protons in N–H groups and the rate constants in acid media was shown. Higher values of the chemical shifts of protons in N–H groups of azomethine group indicate a higher reactivity of corresponding Schiff bases. Then the difference in the reactivity of investigated Schiff bases toward DPPH in the presence of chloride acid can be explained by the ability to protonate the nitrogen atom of the azomethine group. The biological activity of a number of gossypol Schiff bases in biotests toward the root system of cucumbers (*Cucumis sativus* L.) was determined.*

Keywords: gossypol; Schiff base; 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl; reactivity; biological activity.

REFERENCES

1. Halliwell B., Aeschbach R., Loliger J., Aruoma O.I. The characterization of antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, 1995, vol. 33, pp. 601-617.
2. Villano D., Fernandez-Pachon M.S., Moya M.L., Troncoso A.M., Garcia-Parrilla M.C. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 2007, vol. 71, pp. 230-235.
3. Il'kevich N.S., Rybachenko V.I., Schroeder G., Dmitruk A.F., Chotii K.Y. Study of reaction of gossypol and its imino derivatives with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. *Russian Journal of General Chemistry*, 2010, vol. 80, pp. 301-307.
4. Foti M.C. Use and abuse of the DPPH' radical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, vol. 63, pp. 8765-8776.
5. Ilkeyevych N.S., Schroeder G., Rybachenko V.I., Chotiy K.Y., Makarova R.A. Vibrational spectra, structure and antioxidant activity of gossypol imine derivatives. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2012, vol. 86, pp. 328-335.
6. Dykun A.M., Redko A.N., Anishchenko V.N., Rybachenko V.I. Kolichestvennaya otsenka antiradikal'nykh svoystv osnovanii Shiffa i gidrazonov gossipola [Quantitative evaluation of radical scavenging properties of gossypol Schiff bases and hydrazones]. *Ukrainskii Khimicheskii Zhurnal*, 2018, vol. 84, no. 6, pp. 115-126. (in Russian).
7. Musialik M., Kuzmicz R., Pawlowski T.S., Litwinienko G. Acidity of hydroxyl groups: an overlooked influence on antiradical properties of flavonoids. *Journal of Organic Chemistry*, 2009, vol. 74, pp. 2699-2709.
8. Litwinienko G., Ingold K.U. Abnormal solvent effects on hydrogen atom abstraction. 2. Resolution of the curcumin antioxidant controversy. The role of sequential proton loss electron transfer. *Journal of Organic Chemistry*, 2004, vol. 69, pp. 5888-5896.
9. Campbell K.N., Morris R.C., Adams R. The structure of gossypol. I. *Journal of the American Chemical Society*, 1937, vol. 59, pp. 1723-1728.
10. Dykun A.M., Anishchenko V.N., Redko A.N., Rybachenko V.I., Chotiy K.Y. Spectroscopic and quantum chemical study of gossypol imine derivatives. *Journal of Molecular Structure*, 2019, vol. 1179, pp. 289-296.
11. Grodzins'kii A.M. *Osnovy khimichnoyi vzaemodiyi roslin* [Fundamentals of chemical interaction of plants]. Naukova Dumka, Kyiv, 1973. 190 p. (in Ukrainian).
12. Goupy P., Dufour C., Loonis M., Dangles O. Quantitative kinetic analysis of hydrogen transfer reactions from dietary polyphenols to the DPPH radical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, vol. 51, pp. 615-622.
13. Przybylski P., Schroeder G., Brzezinski B. The Schiff Base of gossypol with 2-(aminomethyl)-18-crown-6 complexes and H⁺, Li⁺, Na⁺, K⁺, Rb⁺, Cs⁺ cations studied by ESI MS, ¹H NMR, FT-IR and PM5 semiempirical methods. *Journal of Molecular Structure*, 2004, vol. 699, pp. 65-77.