

# Sự tạo phức của amino acid isoleucine với các ion kim loại Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup> và Cu<sup>2+</sup>/Cu<sup>+</sup> – đánh giá nguy cơ oxy hóa khơi mào từ phản ứng khử dạng Fenton

Complexation of isoleucine amino acid with Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup>/Cu<sup>+</sup> metal ions – evaluation of pro-oxidant risks initiated by Fenton-type reduction reactions

Nguyễn Thị Hương Lan<sup>a</sup>, Trương Đình Hiếu<sup>b,c</sup>, Ngô Thị Chinh<sup>b,c</sup>, Đào Duy Quang<sup>b,c,\*</sup>  
Nguyen Thi Huong Lan<sup>a</sup>, Truong Dinh Hieu<sup>b,c</sup>, Ngo Thi Chinh<sup>b,c</sup>, Dao Duy Quang<sup>b,c,\*</sup>

<sup>a</sup>Khoa Dược, Trường Y Dược, Đại học Duy Tân, Đà Nẵng, Việt Nam

<sup>a</sup>Faculty of Pharmacy, College of Medicine and Pharmacy, Duy Tan University, 550000, Da Nang, Vietnam

<sup>b</sup>Department of Environment and Natural Science, Duy Tan University, Danang, 550000, Vietnam

<sup>b</sup>Khoa Môi trường và Khoa học Tự nhiên, Đại học Duy Tân, Đà Nẵng, Việt Nam

<sup>c</sup>Institute of Research and Development, Duy Tan University, Danang, 550000, Vietnam

<sup>c</sup>Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ cao, Đại học Duy Tân, Đà Nẵng, Việt Nam

(Ngày nhận bài: 25/01/2022, ngày phản biện xong: 19/4/2022, ngày chấp nhận đăng: 30/4/2022)

## Tóm tắt

Sự tạo phức với các ion kim loại Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup> và Cu<sup>2+</sup>/Cu<sup>+</sup> và nguy cơ oxy hóa của amino acid isoleucine (Ile) khơi mào từ phản ứng khử dạng Fenton được nghiên cứu bằng phương pháp lý thuyết phiếm hàm mật độ (DFT). Các thông số nhiệt động học phản ứng ( $\Delta_r G^0$ ,  $\Delta_r H^0$ ), các hằng số cân bằng ( $K_f$ ) và  $pK_f$  của phản ứng tạo phức đã được tính toán trong dung môi nước ở mức lý thuyết M05-2X/6-311++G(d,p). Kết quả cho thấy, trong môi trường cơ thể, amino acid Ile tự do tồn tại chủ yếu dưới dạng muối lưỡng cực và phần lớn tương tác với các ion kim loại tại các nhóm –COO<sup>-</sup>/COOH và –NH<sub>3</sub><sup>+</sup>/NH<sub>2</sub>. Đối với phức Fe<sup>3+</sup>, dạng bền nhất là phức một càng tại vị trí O1, O1-salt ( $\Delta_r G^0 = -9,5$  kcal/mol), và phức Fe<sup>2+</sup> bền nhất là phức hai càng tại vị trí Site2, Site2-salt ( $\Delta_r G^0 = -8,8$  kcal/mol). Ngoài ra, Ile có thể tạo phức bền nhất với ion Cu<sup>2+</sup> tại vị trí O1 và O2, O1-salt, O2-salt, và với ion Cu<sup>+</sup> tại vị trí Site1 và Site2, Site1-salt, Site2-salt. Bên cạnh đó, khi có mặt của các tác nhân khử Asc<sup>-</sup> và O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, các phức của Ile với ion Fe<sup>3+</sup> tiềm ẩn nguy cơ “tiền oxy hóa” cao, đặc biệt là các phức chất O2-neu, O2-salt, Site1-neu và Site2-salt. Trái lại, sự tạo phức của Ile với các ion Cu<sup>2+</sup> hầu như không gây ra nguy cơ tiền oxy hóa nào. Nghiên cứu này hi vọng góp phần hiểu sâu sắc hơn hoạt tính chống oxy hóa của Ile dựa vào phản ứng quét các ion kim loại chuyển tiếp, mà còn gợi mở cái nhìn nhiều chiều về nguy cơ tiền oxy hóa khơi mào từ các phản ứng dạng Fenton của Ile. Các thông tin này có thể quan trọng cho các ứng dụng trong ngành dược.

**Từ khóa:** Sắt; đồng; phức chất; chất chống oxy hóa; amino acid; tiền oxy hóa; Fenton.

## Abstract

Complexation of isoleucine amino acid (Ile) with Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup>/Cu<sup>+</sup> metal ions and pro-oxidant risks initiated by Fenton-type reduction reactions were investigated using the density functional theory (DFT) approach. The standard enthalpies ( $\Delta_r H^0$ ), Gibbs free energies ( $\Delta_r G^0$ ), and reaction rate constants ( $K_f$ ) and  $pK_f$  for the complexation reactions were calculated in water at the M05-2X/6-311++G(d,p) level of theory. In the biological environment, the results show that free amino acid Ile exists mainly in dipole salt form, and most of it interacts with metal ions at –COO<sup>-</sup>/COOH and –NH<sub>3</sub><sup>+</sup>/NH<sub>2</sub> groups. Regarding Fe<sup>3+</sup> complex, the monodentate complex at O1 atom, O1-salt is the most stable form ( $\Delta_r G^0 = -9,5$  kcal/mol), while the most stable of Fe<sup>2+</sup> complex is the bidentate one at Site2, Site2-salt ( $\Delta_r G^0 = -8,8$  kcal/mol). Besides, the amino acid Ile prefers to coordinate with Cu<sup>2+</sup> ions at O1 and O2 atoms, O1-salt, O2-salt, and Cu<sup>+</sup> ion at the Site1

\* Corresponding Author: Duy Quang Dao, Institute of Research and Development, Duy Tan University, 55000, Da Nang, Vietnam, Faculty of Natural Science, Duy Tan University, 55000, Da Nang, Vietnam  
Email: daoduyquang@duytan.edu.vn

and Site2 positions, Site1-salt, Site2-salt sites. In addition, in the presence of some reducing agents like ascorbate anion Asc<sup>-</sup> and superoxide anion radical O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>, the Ile-Fe<sup>3+</sup> complexes have high pro-oxidant potential, especially the complexes O<sub>2</sub>-neu, O<sub>2</sub>-salt, Site1-neu, and Site2-salt. In contrast, the complexation of Ile with Cu<sup>2+</sup> ions does not tend pro-oxidant. This study allows a better understanding of Ile's transition metal chelating-based secondary antioxidant properties, suggesting a multi-facet view of the potential pro-oxidant risks initiated by Fenton-like reactions, which may be important for further medicinal applications.

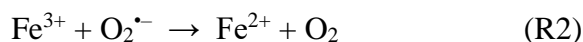
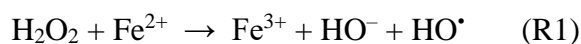
**Keywords:** Iron; copper; complexes; antioxidant; amino acid; pro-oxidant; Fenton.

## 1. Giới thiệu

L(+)-Isoleucine (Ile), (2*S*,3*S*)-2-amino-3-methylpentanoic acid, là một trong những amino acid thiết yếu có cấu trúc phân nhánh (Hình 1). Đối với con người và động vật, Ile tham gia vào các hoạt động chức năng sinh lý của cơ thể, bao gồm hỗ trợ chữa lành vết thương, kích thích chức năng miễn dịch, thúc đẩy bài tiết một số hormone, tổng hợp hemoglobin, điều chỉnh lượng đường trong máu và mức năng lượng [4, 8]. Trong tự nhiên, Ile có nhiều trong trứng, protein đậu nành, rong biển, thịt gà, cá... [9, 2]. Bên trong cơ thể sinh vật, ngoài dạng “đơn vị cơ sở” của các protein và peptide, Ile còn tồn tại ở dạng tự do ở 2 trạng thái trung hòa và muối lưỡng cực (Hình 1A và 1B). Ngoài ra, Ile cũng được chứng minh là có khả năng tạo phức với các ion kim loại tồn tại trong cơ thể sinh vật, đặc biệt là các ion kim loại chuyển tiếp. Brij và cộng sự (2015) [2] đã khảo sát khả năng tạo phức của Ile đối với các ion Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> và Fe<sup>2+</sup> bằng phương pháp điện di trên giấy ở 35°C. Kết quả cho thấy các phức chứa một phối tử Ile có độ bền cao với pK<sub>1</sub> có giá trị từ 6.50 đến 7.24. Trong khi đó, các giá trị pK<sub>2</sub> của các phức chứa 2 phối tử Ile chỉ từ 2.97 đến 3.48. Kết quả của nghiên cứu này cũng chỉ ra rằng khả năng tạo phức đối với Ile giảm dần theo chiều Zn<sup>2+</sup> > Cd<sup>2+</sup> > Fe<sup>2+</sup>.

Trong cơ thể người, các kim loại chuyển tiếp như đồng (Cu) hoặc sắt (Fe) tồn tại ở hàm lượng rất thấp ở mức vi lượng [12]. Các kim loại này tồn tại chủ yếu ở dạng ion và tạo phức với các hợp chất khác trong môi trường, thường là các protein, acid nucleic, amino acid... để tạo thành các hợp chất sinh học quan trọng, bao

gồm các enzyme, co-enzyme và các protein chứa kim loại [12]. Do các ion kim loại chuyển tiếp có nhiều số oxy hóa khác nhau, chúng có khả năng tham gia vào các phản ứng oxy hóa khử có khả năng dẫn đến việc tạo thành các gốc tự do gây hại đối với cơ thể. Một trong những phản ứng này là chuỗi phản ứng Haber – Weiss [10]. Ví dụ chuỗi phản ứng Harber-Weiss khi có sự có mặt của các ion Fe<sup>2+</sup>/Fe<sup>3+</sup> và tác nhân khử superoxide (O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>) xảy ra theo các phản ứng dưới đây:

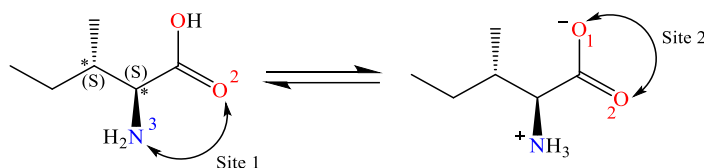


Phản ứng Fenton hóa (R1) và các phản ứng “kiểu Fenton” xảy ra giữa hydroperoxide và các ion kim loại là nguyên nhân chính tạo ra gốc tự do hydroxyl – HO•. Trong quá trình này, các ion kim loại tham gia như một chất xúc tác, thúc đẩy quá trình chuyển H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tạo thành gốc HO• [1]. Gốc HO• tạo thành thường có xu hướng tấn công vào các hợp chất mang thông tin di truyền của cơ thể (DNA, RNA) hoặc các phân tử cấu trúc nên cơ thể (lipid, protein...) [13]. Điều này dẫn đến sự tổn thương đối với tế bào; nếu kéo dài có thể gây viêm nhiễm, lão hóa, thoái hóa thần kinh; dẫn đến một số căn bệnh nghiêm trọng như Alzheimer [21], ung thư [11] và bệnh tim [16]. Khi các ion kim loại chuyển tiếp tạo phức với các hợp chất khác có trong môi trường, khả năng tham gia vào phản ứng Fenton hóa của chúng được dự đoán sẽ thay đổi đáng kể [19]. Trong một số nghiên cứu, phức chất tạo thành với ion kim loại như Fe<sup>3+</sup> và Cu<sup>2+</sup> dễ dàng phản ứng với các tác nhân khử có trong môi trường để chuyển về dạng oxy hóa thấp hơn như Fe<sup>2+</sup> hoặc Cu<sup>+</sup> [3]. Các

ion này lại tham gia vào phản ứng với H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (R1) để tạo ra gốc HO<sup>•</sup>. Điều này đã khiến cho phản ứng Fenton hóa có thể được tăng cường. Sự tăng cường này dẫn đến một loại nguy cơ gọi là “tiền oxy hóa” – *pro-oxidant*. Một số hợp chất tự nhiên đã được xác định là có khả năng tăng cường phản ứng Fenton hóa như ascorbic acid, dihydroxybenzenes (DHBs) [18, 20], các polyphenol có trong trà [15].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát khả năng tạo phức của isoleucine với các ion kim loại chuyển tiếp, gồm Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup> và Cu<sup>2+</sup>/Cu<sup>+</sup>, và sau đó đánh giá nguy cơ tiền oxy hóa thông qua sự thúc đẩy phản ứng khử Fenton. Lý thuyết phiếm hàm mật độ (*Density functional theory* – DFT) được sử dụng để tối

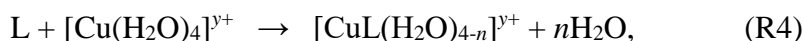
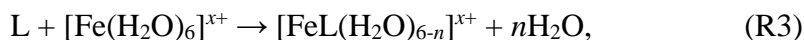
ưu hóa cấu trúc và tính toán các giá trị thông số hóa lượng tử của Ile trong các dạng tồn tại của nó và các dạng phức chất đối với ion kim loại. Các giá trị enthalpy tiêu chuẩn –  $\Delta_r H^0$  và năng lượng tự do Gibbs tiêu chuẩn –  $\Delta_r G^0$  của các phản ứng tạo thành phức Ile-kim loại sẽ được sử dụng để đánh giá độ bền nhiệt động và khả năng tồn tại của các phức hợp của Ile trong môi trường cơ thể. Bên cạnh đó, các giá trị nhiệt động học ( $\Delta_r H^0$  và  $\Delta_r G^0$ ) của các phản ứng oxy hóa khử xảy ra giữa các hợp chất phức của Fe<sup>3+</sup> và Cu<sup>2+</sup> với các tác nhân khử, gồm superoxide anion (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) và ascorbate anion (Asc<sup>-</sup>), sẽ được sử dụng để đánh giá nguy cơ tiền oxy hóa của Ile.



**Hình 1:** Cấu trúc phân tử isoleucine dạng trung hòa (A) và dạng muối lưỡng cực (B). Các vị trí tạo phức cũng được giới thiệu trên cấu trúc.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

Lý thuyết phiếm hàm mật độ (*Density Functional Theory* – DFT) đã được sử dụng để tối ưu hóa cấu trúc xác định các thông số hóa nhiệt động đặc trưng của amino acid Ile và các phức chất của Ile và các ion kim loại. Các tính toán được thực hiện ở mức lý thuyết M05-2X/6-311++G(d,p) bằng chương trình Gaussian



Trong đó,  $n = 1$  hoặc  $2$  tương ứng với phức tạo thành là phức một càng hoặc phức 2 càng. L là dạng tồn tại chính của Ile trong dung dịch (trung hòa hoặc muối lưỡng cực).  $x = 3$  hoặc  $2$  lần lượt là điện tích của các ion phức Fe<sup>3+</sup> hoặc Fe<sup>2+</sup>,  $y = 2$  hoặc  $1$  lần lượt là điện tích các ion phức Cu<sup>2+</sup> hoặc Cu<sup>+</sup>. Dựa trên phản ứng (R1)

09 Rev. A.03 package [5] và được tiến hành trong dung môi nước tại 298.15 K.

Khả năng phức của L-isoleucine với các ion kim loại trong nghiên cứu này được tiến hành với các ion Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup> và Cu<sup>2+</sup>/Cu<sup>+</sup>. Sự tạo phức giữa Ile và các ion kim loại này xảy ra theo các phản ứng (R1) và (R2):

và (R2), các giá trị thông số hóa nhiệt động của phản ứng, bao gồm enthalpy tiêu chuẩn –  $\Delta_r H^0$  và năng lượng tự do Gibbs tiêu chuẩn –  $\Delta_r G^0$ , được xác định dựa trên các công thức dưới đây: Đối với sự tạo phức của các phức Fe-Ile:



$$\Delta_r H^0 = H([\text{FeL}(\text{H}_2\text{O})_{6-n}]^{x+}) + nH(\text{H}_2\text{O}) - H(\text{L}) - H([\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{x+}). \quad (\text{eq.1})$$

$$\Delta_r G^0 = G([\text{FeL}(\text{H}_2\text{O})_{6-n}]^{x+}) + nG(\text{H}_2\text{O}) - G(\text{L}) - G([\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{x+}). \quad (\text{eq.2})$$

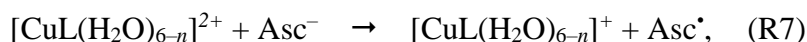
Đối với sự tạo phức của các phức Cu-Ile:

$$\Delta_r H^0 = H([\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})_{4-n}]^{y+}) + nH(\text{H}_2\text{O}) - H(\text{L}) - H([\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_4]^{y+}). \quad (\text{eq.3})$$

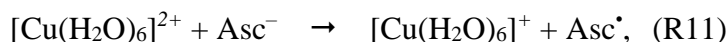
$$\Delta_r G^0 = G([\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})_{4-n}]^{x+}) + nG(\text{H}_2\text{O}) - G(\text{L}) - G([\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{x+}). \quad (\text{eq.4})$$

Nguyên cơ tiền oxy hóa của Ile được đánh giá dựa các phản ứng oxy hóa khử chuyển  $\text{Fe}^{3+}$  thành  $\text{Fe}^{2+}$  và  $\text{Cu}^{2+}$  thành  $\text{Cu}^+$ . Các phản ứng này tạo thành các ion  $\text{Fe}^{2+}$  và  $\text{Cu}^+$ , là nhân tố liên quan đến sự tạo thành gốc tự do hydroxyl  $\text{HO}^\bullet$  – một gốc tự do có hoạt tính rất cao. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng các tác nhân

khử là ascorbate anion ( $\text{Asc}^-$ ) và superoxide anion radical ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ). Đây là các tác nhân được sử dụng trong một số các nghiên cứu khác [3, 19]. Các phản ứng oxy hóa - khử xảy ra giữa các ion  $\text{Fe}^{3+}$  và  $\text{Cu}^{2+}$  đối với hai tác nhân khử này xảy ra theo các phản ứng (R5)–(R8):



Tương tự, các phản ứng đối với dạng hydrat hóa của hai ion kim loại  $\text{Fe}^{3+}$  và  $\text{Cu}^{2+}$  xảy ra theo các phản ứng (R9)–(R12):



Giá trị năng lượng tự do Gibbs tiêu chuẩn  $-\Delta_r G^0$  của các phản ứng oxy hóa khử (R5)–(R12) được xác định dựa trên sự chênh lệch năng lượng tự do Gibbs ( $G$ ) giữa sản phẩm so với các ion phản ứng.

Đối với phản ứng giữa phức  $\text{Fe}^{3+}$  của Ile và  $\text{Asc}^-$  – (R3), giá trị  $\Delta_r G^0$  được xác định theo các công thức (eq.5).

$$\Delta_r G^0 = G([\text{FeL}(\text{H}_2\text{O})_{6-n}]^{2+}) + G(\text{Asc}^\bullet) - G([\text{FeL}(\text{H}_2\text{O})_{6-n}]^{3+}) - G(\text{Asc}^-). \quad (\text{eq.5})$$

Đối với các phản ứng oxy hóa khử (R6)–(R12), các giá trị  $\Delta_r G^0$  cũng được xác định tương tự.

Hằng số cân bằng phản ứng ( $K_f$ ) là một trong những giá trị được sử dụng để khảo sát nồng độ của các chất ở trạng thái cân bằng [7, 14, 17]. Giá trị của  $K_f$  được xác định dựa trên  $\Delta_r G^0$  của phản ứng theo công thức (eq.6) [6].

$$K_f = e^{-\frac{\Delta_r G^0}{RT}}. \quad (\text{eq.6})$$

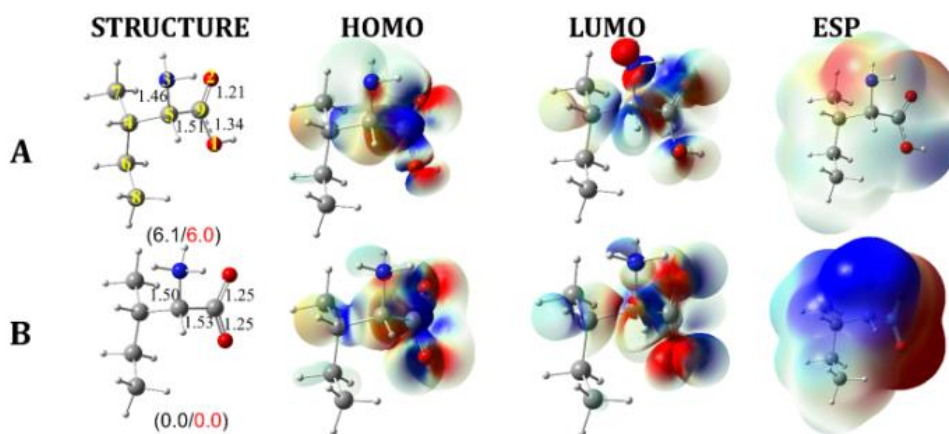
### 3. Kết quả và thảo luận

#### 3.1. Cấu trúc hình học và điện tử của isoleucine

**Hình 3.1** biểu diễn cấu trúc tối ưu hóa, cấu trúc các orbital biên HOMO - LUMO và giản đồ bề mặt thế năng tĩnh điện (ESP) của Ile dạng muối trung hòa (A) và dạng muối lưỡng cực

(B) trong pha nước ở mức lý thuyết M05-2X/6-311++G(d,p).

Cấu trúc phân tử của hai dạng trung hòa (A) và muối lưỡng cực (B) đã được tối ưu hóa và được trình bày trong **Hình 3.1** Trong cấu trúc của hai dạng này, nguyên tử C5 liên kết với hai nhóm chức  $-NH_2$  và  $-COOH$  ở dạng trung hòa (A), và với hai nhóm chức  $-NH_3^+$  và  $-COO^-$  ở dạng muối lưỡng cực (B). Sự khác nhau ở hai nhóm chức này khiến cho cấu trúc của 2 dạng



**Hình 3.1:** Cấu trúc tối ưu, phân bố orbital HOMO, và LUMO, và giản đồ bề mặt thế năng tĩnh điện ESP của isoleucine (Ile) dạng trung hòa (A) và dạng muối lưỡng cực (B) trong dung môi nước. Giá trị trong dấu ngoặc đơn là enthalpy và năng lượng tự do Gibbs tương đối của hai dạng tồn tại (đơn vị: kcal/mol).

Sự phân bố HOMO, LUMO tập trung chủ yếu tại vị trí O1, O2, C9, C5, N3. Ngược lại, tại mạch R, cấu trúc các orbital biên tập trung không đáng kể. Như vậy, có thể dự đoán phân tử Ile chủ yếu tương tác với ion kim loại tại các vị trí O1, O2, C9, C5 và N3. Giản đồ bề mặt thế năng tĩnh điện thể hiện sự phân bố điện tích và các tính chất liên quan đến điện tích của phân tử. Màu đỏ biểu diễn các vùng có điện tích âm nhất, màu xanh dương đại diện cho các vùng có tính điện dương nhất. Dựa vào giản đồ ESP, có thể nhận thấy rằng đối với cấu trúc B, mật độ điện tích dương tập trung rất lớn ở nhóm  $-NH_3^+$  trong khi ở cấu trúc A, mật độ điện tích dương tại  $-NH_2$  khá là thấp. Tương tự, mức tập trung điện tích âm tại nhóm  $-COO^-$  ở dạng B là cao hơn rất nhiều so với nhóm  $-COOH$  của dạng A. Vì vậy, cấu trúc B được dự đoán là có khả năng phân cực cao hơn so với cấu trúc A.

tồn tại A, B của Ile cũng khác nhau. Ngoài ra, dạng muối lưỡng cực của Ile có giá trị  $\Delta H^0$  và  $\Delta G^0$  thấp hơn dạng trung hòa lần lượt 6.1 và 6.0 kcal/mol. Vì vậy, dạng muối lưỡng cực B là dạng tồn tại chính của Ile trong dung dịch. Trong nghiên cứu này, giá trị nhiệt động của dạng B sẽ được sử dụng để xác định thực hiện cho các tính toán tiếp theo.

Như vậy, trong môi trường cơ thể, muối lưỡng cực là dạng tồn tại chính của isoleucine tự do. Khi tương tác với các ion kim loại, các nhóm  $-COO^-/COOH$  và  $-NH_3^+/NH_2$  được dự đoán là các nhóm tạo phức chính.

### 3.2. Sự tạo phức của isoleucine đối với các ion kim loại chuyển tiếp

#### 3.2.1. Sự tạo phức của isoleucine đối với các ion $Fe^{3+}$ và $Fe^{2+}$

Cấu trúc tối ưu của các phức Ile với các ion  $Fe^{2+}$  và  $Fe^{3+}$  hydrate hóa khảo sát trong dung môi nước ở mức lý thuyết M05-2X/6-311++G(d,p) được trình bày trong **Hình 3.2**. Trong đó, các phức O2-neu, O1-salt và O2-salt là các phức mà Ile đóng vai trò là phối tử đơn càng (monodentate). Ile đóng vai trò là phối tử hai càng (bidentate) trong các phức Site1-neu và Site2-salt. Các giá trị nhiệt động của phản



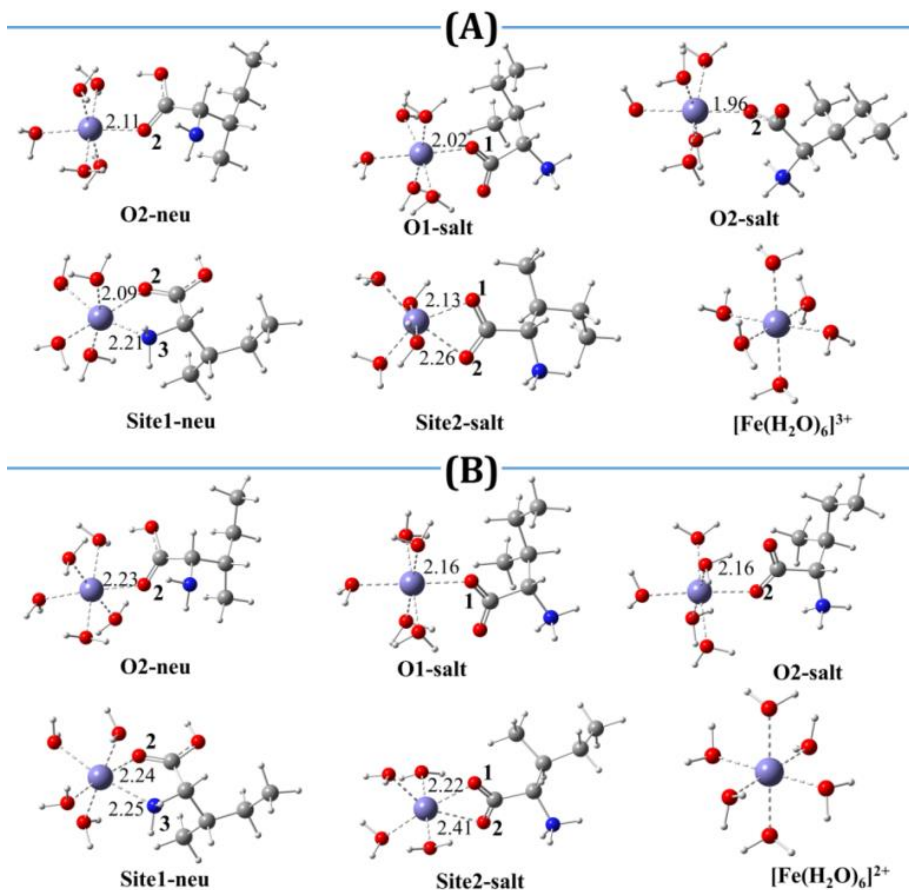
ứng tạo thành các phức chất Ile-Fe ở 298,15K được xác định trong **Bảng 3.1**. Năng lượng tự do Gibbs tiêu chuẩn  $-\Delta_rG^0$  được sử dụng để đánh giá cân bằng của các phản ứng.

Dựa vào các giá trị nhiệt động của các phản ứng tạo phức, có thể thấy rằng các phức của dạng B đều có độ bền cao và thuận lợi về mặt năng lượng. Thật vậy, thông số  $\Delta_rG^0$  của các phức O1-salt, O2-salt và Site2-salt của ion  $Fe^{2+}$

và  $Fe^{3+}$  lần lượt có giá trị từ -4,5 đến -9,5 kcal/mol và -5,7 đến -8,8 kcal/mol. Ngược lại, hầu như các phức Fe của Ile dạng A đều kém bền với các giá trị  $\Delta_rG^0$  dương, trừ phức  $Fe^{3+}$  tại vị trí Site1-neu có  $\Delta_rG^0 = -1,2$  kcal/mol. Ngoài ra, dựa vào các giá trị nhiệt động, phức  $Fe^{3+}$  bền nhất là phức một càng tại vị trí O1-salt ( $\Delta_rG^0 = -9,5$  kcal/mol) và phức  $Fe^{2+}$  bền nhất là phức hai càng tại vị trí Site2-salt ( $\Delta_rG^0 = -8,8$  kcal/mol).

**Bảng 3.1:** Enthalpy phản ứng ( $\Delta_rH^0$ , kcal/mol) và năng lượng tự do Gibbs tiêu chuẩn ( $\Delta_rG^0$ , kcal/mol) ở nhiệt độ 298,15 K của phản ứng tạo phức giữa isoleucine (Ile) dạng trung hòa và dạng muối lưỡng cực với các ion  $[Fe(H_2O)_6]^{3+}/[Fe(H_2O)_6]^{2+}$  và  $[Cu(H_2O)_4]^{2+}/[Cu(H_2O)_4]^+$ .

Phức chất	$[Fe(H_2O)_6]^{3+}$		$[Fe(H_2O)_6]^{2+}$		$[Cu(H_2O)_4]^{2+}$		$[Cu(H_2O)_4]^+$	
	$\Delta_rH^0$	$\Delta_rG^0$	$\Delta_rH^0$	$\Delta_rG^0$	$\Delta_rH^0$	$\Delta_rG^0$	$\Delta_rH^0$	$\Delta_rG^0$
O2-neu	3,8	7,4	0,9	6,0	3,7	5,6	3,2	8,7
O1-salt	-14,0	-9,5	-9,2	-6,4	-11,4	-9,3	-4,3	0,2
O2-salt	-6,8	-4,5	-8,6	-5,7	-11,0	-9,1	-3,5	0,8
Site1-neu	7,0	0,7	5,3	-1,2	1,0	-6,5	2,2	-2,7
Site2-salt	2,2	-5,9	-0,1	-8,8	0,6	-7,5	-3,1	-7,6



**Hình 3.2:** Cấu trúc phân tử của các phức chất một càng và hai càng của isoleucine dạng trung hòa (neu) và dạng muối lưỡng cực (salt) với các ion (A)  $[Fe(H_2O)_6]^{3+}$  và (B)  $[Fe(H_2O)_6]^{2+}$ . Độ dài một số liên kết đặc trưng cũng được ghi chú trên hình.



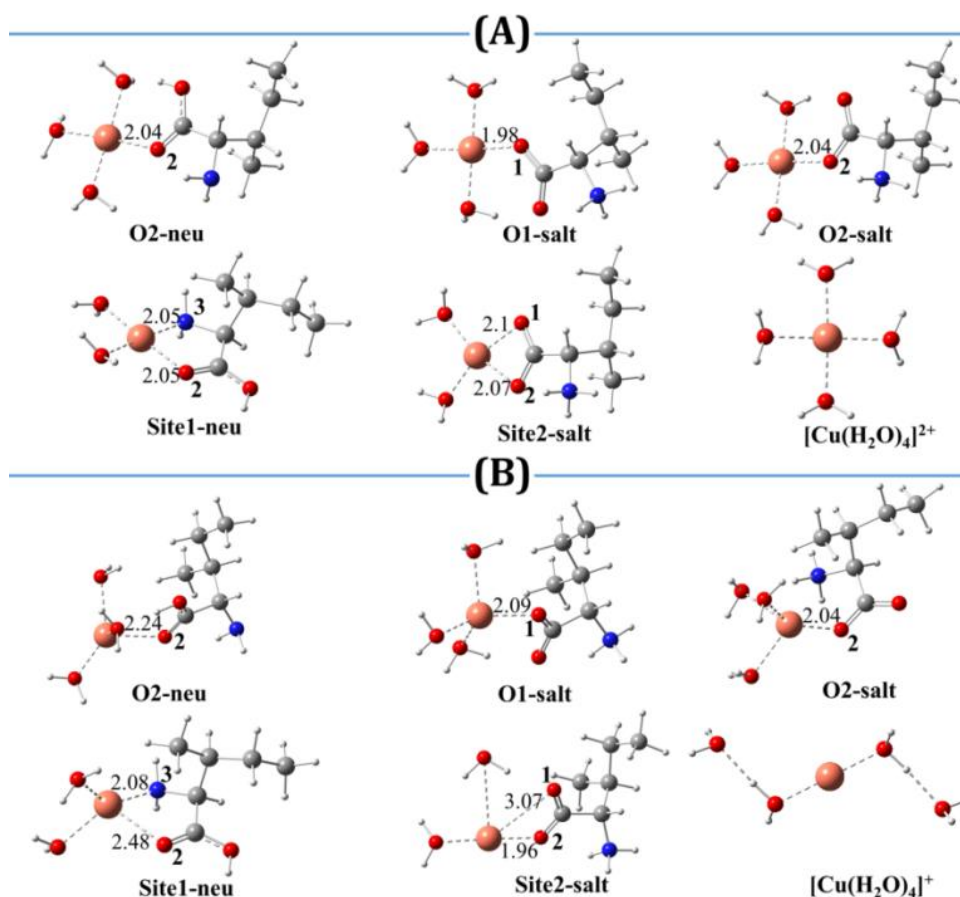


### 3.2.2. Sự tạo phức của isoleucine đối với các ion $\text{Cu}^{2+}$ và $\text{Cu}^+$

Cấu trúc tối ưu của các phức giữa Ile với các ion  $\text{Cu}^{2+}$  và  $\text{Cu}^+$  trong dung môi nước ở mức lý thuyết M05-2X/6-311++G(d,p) được thể hiện trong **Hình 3.3**. Các giá trị enthalpy và năng lượng tự do Gibbs tiêu chuẩn của phản ứng tạo phức giữa Ile dạng trung hòa và dạng muối lưỡng cực với các ion  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$ ,  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_4]^+$  được giới thiệu trong **Bảng 3.1**.

Tương tự đối với các ion Fe, Ile cũng có thể tạo với ion Cu thành các phức đơn càng ở vị trí O1 và O2, gồm O2-neu, O1-salt và O2-salt, và tạo thành các phức hai càng ở vị trí site1 và site2, bao gồm Site1-neu và Site2-salt. Về khả năng tạo phức với các ion Cu, hầu hết các phức  $\text{Cu}^{2+}$  đối với Ile đều có độ bền nhiệt động cao với các giá trị  $\Delta_r G^0$  âm, trừ phức đơn càng tại

O2-neu với  $\Delta_r G^0 = 5,6$  kcal/mol. Các phức Ile bền của  $\text{Cu}^{2+}$  có giá trị từ -6,5 đến -9,3 kcal/mol. Ngoài ra, sự tạo thành phức đơn càng tạo thành tại hai vị trí O1 và O2 của nhóm  $\text{COO}^-$  của dạng muối lưỡng cực có độ bền cao và rất thuận lợi về mặt nhiệt động ( $\Delta_r G^0$  từ -9,1 đến -9,3 kcal/mol) và về mặt năng lượng (đều là các quá trình tỏa nhiệt với  $\Delta_r H^0$  biến thiên từ -11,0 đến -11,4 kcal/mol). Ngược lại, đối với các phức  $\text{Cu}^+$ , chỉ có các phức hai càng là có độ bền nhiệt động cao, với giá trị  $\Delta_r G^0$  của các phản ứng tạo thành phức Site1-neu và Site2-salt lần lượt là -2,7 và -7,6 kcal/mol. Ngược lại, các phức Ile một càng của  $\text{Cu}^+$  đều kém bền với giá trị  $\Delta_r G^0$  dương, từ 0,2 đến 8,7 kcal/mol. Như vậy, amino acid Ile có thể tạo phức bền nhất với ion Cu tại vị trí O1-salt, O2-salt, đối với  $\text{Cu}^{2+}$  và tại vị trí Site1, Site2-salt, đối với  $\text{Cu}^+$ .



**Hình 3.3:** Cấu trúc phân tử của phức chất một càng và hai càng của isoleucine dạng trung hòa (neu) và dạng muối lưỡng cực (salt) với các ion (A)  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$  và (B)  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_4]^+$ . Độ dài một số liên kết đặc trưng cũng được ghi chú trên hình.

### 3.3. Nguy cơ tiền oxy hóa của isoleucine

Trong môi trường cơ thể luôn chứa các tác nhân khử như ascorbate anion hay superoxide anion radical, các ion  $\text{Fe}^{3+}$  hoặc  $\text{Cu}^{2+}$  dù đã tạo phức với Ile vẫn có nguy cơ tham gia phản ứng khử để chuyển về ion  $\text{Fe}^{2+}$  hoặc  $\text{Cu}^+$ . Như đã giới thiệu ở phần trên, các ion kim loại ở trạng thái oxy hóa thấp có khả năng tham gia các phản ứng Fenton tạo ra gốc hydroxyl ( $\text{HO}^\bullet$ ) có hoạt tính cao. Như vậy, phản ứng khử các ion kim loại chuyển tiếp từ số oxy hóa cao về số oxy hóa thấp chính là giai đoạn khơi mào cho quá trình tạo ra gốc  $\text{HO}^\bullet$ . Vì vậy việc khảo sát phản ứng khử của các phức tạo thành từ amino

**Bảng 3.2:** Năng lượng Gibbs tự do tiêu chuẩn ( $\Delta_r G^0$ , kcal/mol) và hằng số cân bằng phản ứng ( $K_f$ ) của các phản ứng chuyển phức chất Ile- $\text{Fe}^{3+}$  thành Ile- $\text{Fe}^{2+}$  khi có mặt các tác nhân khử ascorbate anion ( $\text{Asc}^-$ ) và superoxide anion radical ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) trong dung môi nước ở 298,15K.

Phản ứng	$\Delta_r G^0$	$K_f$	$\text{p}K_f$	$\Delta_r G^0$	$K_f$	$\text{p}K_f$	
$[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+} + \text{Asc}^- \rightarrow [\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+} + \text{Asc}^\bullet$ ; (R7)	-14,4	$3,48 \times 10^{10}$	-10,5	$[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+} + \text{O}_2^{\bullet-} \rightarrow [\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+} + \text{O}_2$ ; (R8)	-41,1	$1,45 \times 10^{30}$	-30,2
$[\text{FeL}(\text{H}_2\text{O})_{6-n}]^{3+} + \text{Asc}^- \rightarrow [\text{FeL}(\text{H}_2\text{O})_{6-n}]^{2+} + \text{Asc}^\bullet$ ; (R3)				$[\text{FeL}(\text{H}_2\text{O})_{6-n}]^{3+} + \text{O}_2^{\bullet-} \rightarrow [\text{FeL}(\text{H}_2\text{O})_{6-n}]^{2+} + \text{O}_2$ ; (R4)			
O2-neu	-15,8	$3,97 \times 10^{11}$	-11,6		$1,65 \times 10^{31}$	-31,2	
O1-salt	-11,3	$1,80 \times 10^8$	-8,3		$7,48 \times 10^{27}$	-27,9	
O2-salt	-15,5	$2,49 \times 10^{11}$	-11,4		$1,03 \times 10^{31}$	-31,0	
Site1-neu	-16,3	$8,51 \times 10^{11}$	-11,9		$3,53 \times 10^{31}$	-31,5	
Site2-salt	-17,3	$4,65 \times 10^{12}$	-12,7		$1,93 \times 10^{32}$	-32,3	

Nhìn chung, các giá trị  $\Delta_r G^0$  của hai phản ứng này đều thấp hơn so với phản ứng khử của chính bản thân ion  $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ , ngoại trừ phức O1-salt. Thật vậy, giá trị  $\Delta_r G^0$  của phản ứng khử giữa  $\text{Asc}^-$  và  $\text{O}_2^{\bullet-}$  với các phức chất đơn càng O2-neu, O2-salt lần lượt là -15,8 / -42,6 kcal/mol; -15,5 / -42,3 kcal/mol, và với phức chất hai càng Site1-neu, Site2-salt lần lượt là -16,3 / -43,0 kcal/mol; và -17,3 / -44,0 kcal/mol. Những giá trị này thấp hơn so với phản ứng khử của chính bản thân ion  $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$  (lần lượt là -14,4 / -41,1 kcal/mol). Ngoài ra, hằng số tốc độ phản ứng ( $K_f$ ) của các phức chất này với tác nhân khử  $\text{Asc}^-$  và  $\text{O}_2^{\bullet-}$ , ngoại trừ phức chất tại O1-salt, đều cao hơn so với phản ứng của ion  $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ . Điều này có nghĩa là các phức chất O2-neu, O2-salt, Site1-neu, Site2-salt

acid Ile với  $\text{Fe}^{3+}$  hoặc  $\text{Cu}^{2+}$  với các tác nhân khử sẽ giúp khảo sát nguy cơ tiền oxy hóa (pro-oxidant) có thể có từ việc tạo phức. Quá trình trên có thể được đánh giá dựa trên tính toán các giá trị nhiệt động phản ứng ( $\Delta_r G^0$ ) và các hằng số cân bằng ( $K_f$ ) của phản ứng chuyển phức Ile- $\text{Fe}^{3+}$  thành phức Ile- $\text{Fe}^{2+}$  và phức Ile- $\text{Cu}^{2+}$  thành phức Ile- $\text{Cu}^+$  khi có mặt 2 tác nhân khử, gồm ascorbate anion ( $\text{Asc}^-$ ) và superoxide anion radical ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ). Các giá trị  $\Delta_r G^0$  và  $K_f$  của các phản ứng chuyển phức Ile- $\text{Fe}^{3+}$  thành Ile- $\text{Fe}^{2+}$  khi có mặt các tác nhân khử  $\text{Asc}^-$  và  $\text{O}_2^{\bullet-}$  được trình bày ở **Bảng 3.2**.

được dự đoán có nguy cơ cao thúc đẩy phản ứng dạng Fenton. Do khi ion  $\text{Fe}^{3+}$  tạo phức với Ile sẽ làm tăng cường các phản ứng khử chuyển ion  $\text{Fe}^{3+}$  về dạng oxy hóa thấp hơn là  $\text{Fe}^{2+}$ . Ion  $\text{Fe}^{2+}$  lại tham gia vào phản ứng với  $\text{H}_2\text{O}_2$  để tạo ra gốc  $\text{HO}^\bullet$ , tiềm ẩn nguy cơ “tiền oxy hóa” như đã nói đến ở trên.

Các giá trị nhiệt động của các phản ứng khử giữa phức chất Ile- $\text{Cu}^{2+}$  với hai tác nhân khử được trình bày trong **Bảng 3.3**. Trái ngược đối với ion Fe, phản ứng khử của các phức Ile- $\text{Cu}^{2+}$  với các tác nhân khử đều có giá trị  $\Delta_r G^0$  cao hơn so với phản ứng của chính bản thân ion  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$ , ngoại trừ phản ứng khử của phức Site2-salt. Thật vậy, giá trị  $\Delta_r G^0$  giữa tác nhân khử  $\text{Asc}^-$  /  $\text{O}_2^{\bullet-}$  với phức đơn càng O2-neu, O1-salt, O2 salt và với phức chất hai càng Site1-

neu lần lượt là 3,2 / 3,1 kcal/mol; 9,5 / 9,4 kcal/mol; và 9,9/ 8,9 kcal/mol; và 3,8 / 3,8 kcal/mol đều cao hơn phản ứng của ion  $[Cu(H_2O)_4]^{2+}$  (lần lượt là 17,3 / -9,4 kcal/mol). Do đó, phản ứng khử của phức chất Site 2-salt là diễn ra thuận lợi nhất, nhưng phản ứng không thuận lợi với phức O2-neu, O1-salt, O2 salt, Site1-neu. Ngoài ra, hằng số tốc độ phản ứng ( $K_f$ ) của phản ứng khử của hầu hết các phức chất này đều thấp hơn so với phản ứng khử của ion  $[Cu(H_2O)_4]^{2+}$ . Điều này có nghĩa

rằng sự tạo thành phức với ion Cu không gây ra nguy cơ tiền oxy hóa như với trường hợp tạo phức với ion Fe. Tóm lại, sự tạo phức của amino acid Ile với ion  $Fe^{3+}$  trong môi trường nước tiềm ẩn nguy cơ “tiền oxy hóa” nếu trong cơ thể có mặt hai tác nhân khử là  $Asc^-$  và  $O_2^{\cdot-}$ , đặc biệt là các phức chất O2-neu, O2-salt, Site1-neu và Site2-salt. Trong khi đó, sự tạo phức của Ile với ion Cu gần như không gây ra nguy cơ tiền oxy hóa nào.

**Bảng 3.3:** Năng lượng Gibbs tự do tiêu chuẩn ( $\Delta_r G^0$ , kcal/mol) và hằng số cân bằng phản ứng ( $K_f$ ) của các phản ứng chuyển phức chất Ile- $Cu^{2+}$  thành Ile- $Cu^+$  khi có mặt các tác nhân khử ascorbate anion ( $Asc^-$ ) và superoxide anion radical ( $O_2^{\cdot-}$ ) trong dung môi nước ở 298,15K.

Phản ứng	$\Delta_r G^0$	$K_f$	$pK_f$	$\Delta_r G^0$	$K_f$	$pK_f$
$[Cu(H_2O)_6]^{2+} + Asc^- \rightarrow [Cu(H_2O)_6]^+ + Asc^{\cdot}$ ; (R9)				$[Cu(H_2O)_4]^{2+} + O_2^{\cdot-} \rightarrow [Cu(H_2O)_4]^+ + O_2$ ; (R10)		
	17,3	$2,00 \times 10^{-13}$	12,7		$8,29 \times 10^6$	-6,9
$[CuL(H_2O)_{6-n}]^{2+} + Asc^- \rightarrow [CuL(H_2O)_{6-n}]^+ + Asc^{\cdot}$ ; (R5)				$[CuL(H_2O)_{4-n}]^{2+} + O_2^{\cdot-} \rightarrow [CuL(H_2O)_{4-n}]^+ + O_2$ ; (R6)		
O2-neu	20,5	$1,01 \times 10^{-15}$	15,0	-6,3	$4,20 \times 10^4$	-4,6
O1-salt	26,8	$2,35 \times 10^{-20}$	19,6	0,0	$9,75 \times 10^{-1}$	0,0
O2-salt	27,2	$1,06 \times 10^{-20}$	20,0	0,5	$4,41 \times 10^{-1}$	0,4
Site1-neu	21,1	$3,31 \times 10^{-16}$	15,5	-5,6	$1,37 \times 10^4$	-4,1
Site2-salt	17,2	$2,54 \times 10^{-13}$	12,6	-9,6	$1,05 \times 10^7$	-7,0

Theo nhiều nghiên cứu trong lý thuyết, oxy hóa các protein và các amino acid tự do bởi gốc tự do là một trong những thủ phạm gây ra các bệnh cho cơ thể, đáng kể nhất là lão hoá, bệnh xơ vữa động mạch, ung thư và Alzheimer [22, 23]. Thật vậy, sự oxy hóa protein có thể dẫn đến sự đứt gãy các mạch polypeptide, sự thay đổi các mạch nhánh trên amino acid, và biến đổi protein thành các dẫn xuất nhạy cảm hơn với sự phân hủy. Và người ta cũng thấy rằng mức độ oxy hóa protein tăng cao cùng với tuổi tác con người [22]. Ngoài ra, nhiều nghiên cứu khác cũng đã chỉ ra rằng quá trình oxy hóa protein có liên quan đến căn nguyên, sự tiến triển hoặc biểu hiện của một số bệnh [23]. Sự tăng cao các cacbonyl protein, một trong các sản phẩm của oxy hóa protein, có liên quan đến

bệnh viêm khớp dạng thấp, chứng loạn dưỡng cơ, bệnh xơ cứng teo cơ một bên, bệnh Alzheimer, đục thủy tinh thể, bệnh amyloidosis hệ thống, hội chứng suy hô hấp, progeria, và hội chứng Werner.

Vì vậy, việc nghiên cứu cơ chế của quá trình oxy hóa các amino acid, đơn vị cấu trúc tạo nên protein, và các yếu tố ảnh hưởng như các phản ứng Fenton do sự tạo phức với các ion kim loại chuyển tiếp có sẵn trong cơ thể (ion Fe, Cu) đóng một ý nghĩa quan trọng trong việc hiểu rõ nguồn gốc các loại bệnh nêu trên. Từ đó, nó làm nền tảng cho các nghiên cứu xa hơn liên quan đến tìm kiếm, thiết kế các hợp chất chống oxy hóa (để quét gốc tự do) hay thuốc đặc trị nhằm điều trị các loại bệnh liên quan.

#### 4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, sự tạo phức của amino acid L-isoleucine (Ile) với các ion  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$  và  $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$  được khảo sát bằng lý thuyết phiếm hàm mật độ (DFT). Các giá trị thông số nhiệt động của phản ứng tạo phức bao gồm enthalpy tiêu chuẩn  $-\Delta_r H^0$  và năng lượng tự do Gibbs tiêu chuẩn  $-\Delta_r G^0$ , các hằng số cân bằng ( $K_f$ ) và  $\text{p}K_f$  đã được tính toán ở mức lý thuyết M05-2X/6-311++G(d,p) trong dung môi nước. Kết quả cho thấy, amino acid Ile tạo phức bền nhất với ion  $\text{Fe}^{3+}$  theo dạng phức một càng tại vị trí O1, O1-salt ( $\Delta_r G^0 = -9,5$  kcal/mol) và với ion  $\text{Fe}^{2+}$  theo dạng hai càng tại vị trí site2, Site2-salt ( $\Delta_r G^0 = -8,8$  kcal/mol). Ngoài ra, Ile có thể tạo phức bền nhất với ion  $\text{Cu}^{2+}$  tại vị trí O1 và O2, O1-salt, O2-salt, và với ion  $\text{Cu}^+$  tại vị trí site1 và site2, Site1-salt, Site2-salt. Các phản ứng khử chuyển phức  $\text{Fe}^{3+}$ -thành- $\text{Fe}^{2+}$  và  $\text{Cu}^{2+}$ -thành- $\text{Cu}^+$  khi có mặt của các tác nhân khử như  $\text{Asc}^-$  và  $\text{O}_2^-$  cũng được khảo sát như là quá trình khơi mào cho phản ứng dạng Fenton. Kết quả cho thấy các phức của amino acid Ile với ion  $\text{Fe}^{3+}$  tiềm ẩn nguy cơ “tiền oxy hóa” rất cao, đặc biệt là các phức chất O2-neu, O2-salt, Site1-neu và Site2-salt. Tuy nhiên, sự tạo phức của Ile với các ion  $\text{Cu}^{2+}$  hầu như không gây ra nguy cơ tiền oxy hóa nào.

#### Tài liệu tham khảo

- [1] K. Barbusinski, (2009), Fenton reaction - Controversy concerning the chemistry, *Ecol. Chem. Eng. S* 16, pp. 347–358
- [2] B. B. Tewari, A. K. Tiwari, (2015), Interaction of isoleucine with metal ions in chemical and biological systems, *Revista Boliviana de Química*. 32(1), pp. 1-7.
- [3] R. Castañeda-Arriaga, A. Pérez-González, J. R. Alvarez-Idaboy, A. Galano, (2018), Role of purines on the copper-catalyzed oxidative damage in biological systems: Protection versus promotion, *International Journal of Quantum Chemistry*. 118(9), p. e25527.
- [4] M. E. Hossain, M. Hasana, M.E. Halim, M. Q. Ehsan, M. A. Halim, (2015), "Interaction between transition metals and phenylalanine: a combined experimental and computational study", *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 138, pp. 499-508.
- [5] M. J. Frisch et al. (2016), Gaussian 16. Revision A. 03. Gaussian Inc., Wallingford, CT, USA.
- [6] G. García-Díez, N. Mora-Diez, (2020), Theoretical study of the iron complexes with aminoguanidine: Investigating secondary antioxidant activity, *Antioxidants*. 9(8), p. 756.
- [7] R. Golbedaghi, F. Khajavi, (2014), Investigation of formation constant of complex of a new synthesized tripodal ligand with  $\text{Cu}^{2+}$  using rank annihilation factor analysis in surfactant media, *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*. 28(1), p. 1.
- [8] W. Sakami, H. Harrington, (1963), *Amino Acid Metabolism*, *Annu. Rev. Biochem.* 1963;32:355-98
- [9] J. J. Otten, J. P. Hellwig, L. D. Meyers, (2006), *Dietary DRI Reference Intakes The Essential Guide to Nutrient Requirements*, The National Academies Press.
- [10] W. H. Koppenol, (2001), The Haber-Weiss cycle 70 years later, *Redox Rep.* 6(4), pp. 229-34.
- [11] I. Liguori, G. Russo, F. Curcio, G. Bulli, L. Aran, D. Della-Morte, G. Gargiulo, G. Testa, F. Cacciatore, D. Bonaduce, P. Abete, (2018), Oxidative stress, aging, and diseases, *Clinical interventions in aging*. 13, p. 757.
- [12] M. Moustakas, (2021), The role of metal ions in biology, biochemistry and medicine, *Multidisciplinary Digital Publishing Institute*, p. 549.
- [13] M. Nita, A. Grzybowski, (2016), The role of the reactive oxygen species and oxidative stress in the pathomechanism of the age-related ocular diseases and other pathologies of the anterior and posterior eye segments in adults, *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016:3164734.
- [14] E. I. Ochiai, R. Morand, (2007), Formation Constant of the Calcium (Atp)<sub>2</sub>complex, *Journal of Coordination Chemistry*, 14(1), pp. 83-86.
- [15] Q. Ouyang, F. Kou, N. Zhang, J. Lian, G. Tu, Z. Fang, (2019), Tea polyphenols promote Fenton-like reaction: pH self-driving chelation and reduction mechanism, *Chemical Engineering Journal*. 366, pp. 514-522.
- [16] N. P. Jessica, A. Saraf, N. Ghazal, T. T. Pham, J. Q. Kwong, (2019), Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in heart disease, *Experimental & molecular medicine*. 51(12), pp. 1-13.
- [17] S. Muthaiah, A. Bhatia, M. Kannan, (2020), Stability of Metal Complexes, *Stability and Applications of Coordination Compounds*, IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.90894
- [18] V. A. Timoshnikov, T. V. Kobzeva, N. E. Polyakov, G. J. Kontoghiorghes, (2020), Redox Interactions of Vitamin C and Iron: Inhibition of the Pro-Oxidant Activity by Deferiprone, *International Journal of Molecular Sciences*, 21(11), 3967.

- [19] D. H. Truong, N.T.A. Nhung, D.Q. Dao, (2020), "Iron ions chelation-based antioxidant potential vs. pro-oxidant risk of ferulic acid: A DFT study in aqueous phase", *Computational and Theoretical Chemistry*. 1185, p. 112905.
- [20] C. L. Zanta, L. C. Friedrich, A. Machulek Jr., K. M. Higa, F. H. Quina, (2010), Surfactant degradation by a catechol-driven Fenton reaction, *Journal of Hazardous Material* 178(1-3), pp. 258-63.
- [21] Z. Zhongwei, (2019), Iron and oxidizing species in oxidative stress and Alzheimer's disease, *Aging Medicine*. 2(2), pp. 82-87.
- [22] E. R. Stadtman, (2006), Protein oxidation and aging, *Free Radical Research*, 40(12): 1250–1258
- [23] E. R. Stadtman, B. S. Berlett, (1998), Reactive oxygen-mediated protein oxidation in aging and disease, *Drug Metabolism Reviews* 30(2):225-43.