



Semnan University

## Journal of Applied Chemistry

Journal homepage: <https://chemistry.semnan.ac.ir/>

Research Article

# Investigation of Electrochemical Behavior Curcumin in Mixture of Water and Ethanol by Means of Cyclic Voltammetry Method and Quantum Chemistry Calculations

Mansoor Namazian\*<sup>ORCID</sup>, Sima Anjomshoa<sup>ORCID</sup>

Department of Chemistry, Faculty of Science, Yazd University, Yazd, Iran

## PAPER INFO

Article history:

Received: 31/Dec/2021

Revised: 26/Feb/2022

Accepted: 08/Mar/2022

## Keywords:

Curcumin, turmeric, electrochemistry, computational chemistry, standard redox potential.

## ABSTRACT

In the present work, a computational analysis of chemical structure of curcumin, the most important component of turmeric, is carried out by means of state-of-the-art methods of calculations. High-level ab initio calculations (G4) along with reliable methods of density functional theory (DFT) have been used to study enol-diketo tautomeric form of curcumin. Gas-phase Gibbs energies calculated at BMK/6-311+G (3df,2pd) level of theory together with thermochemical data calculated at B3LYP/6-31G(2df,p). Solvation energies were calculated using SMD solvation model at the M05-2X/6-31G (d) level of theory in water. Electrochemical behavior of curcumin, has been also investigated by means of cyclic voltammetry and standard theoretical quantum chemical calculations in a mixed solvent of water-ethanol. The pH dependence of the redox activity of curcumin derivatives in the mixture solutions at different temperatures has been used for the experimental determination of the standard reduction potential and changes of entropy, enthalpy, and Gibbs free energy for the studied reaction. The electrooxidation process lead to several products that are studied theoretically using DFT calculations. The calculated values of  $E^\circ$  are in good agreement with experiment. Uniquely, the change of solvation energy for the studied reaction has been investigated by two models and the results are in perfect agreement with one another.

DOI: <https://doi.org/10.22075/CHEM.2022.25755.2037>

© 2023 Semnan University.

This is an open access article under the CC-BY-SA 4.0 license. (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)\*Corresponding author: Professor of Physical Chemistry. E-mail address: [namazian@yazd.ac.ir](mailto:namazian@yazd.ac.ir)

**How to cite this article:** Namazian, M., & Anjomshoa, S. (2023). Investigation of the electrochemical behavior of curcumin in a mixed solution of water and ethanol by means of cyclic voltammetry and quantum chemical calculations. *Applied Chemistry*, 18(66), 207-224. (in Persian)

## بررسی رفتار الکتروشیمیایی کورکومین در مخلوط حلال آب و اتانول با استفاده از روش ولتامتری چرخه‌ای و محاسبات شیمی کوانتومی

منصور نمازیان\*، سیما انجم شعاع

گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه یزد، یزد

تاریخ دریافت: ۰۰/۱۰/۱۰ تاریخ تصحیح: ۰۰/۱۲/۰۷ تاریخ پذیرش: ۰۰/۱۲/۱۷

### چکیده

در این پژوهش کورکومین، مهم‌ترین جزء زردچوبه، با استفاده از روش‌های تجربی الکتروشیمیایی و روش‌های پیشرفته محاسباتی مورد مطالعه قرار گرفته است. رفتار الکتروشیمیایی کورکومین در مخلوط حلال آب و اتانول با استفاده از روش‌های ولتامتری چرخه‌ای و محاسبات شیمی کوانتومی مورد ارزیابی قرار گرفته است. به منظور محاسبه پارامترهای ترمودینامیکی از جمله تغییرات انرژی آزاد گیبس، تغییرات انتالپی و تغییرات انتروپی واکنش‌های اکسایش-کاهش، آزمایشات در پی‌اچ و دماهای مختلف انجام گردید. فرآیند اکسایش-کاهش کورکومین منجر به تولید محصولاتی می‌شود که امکان تشکیل محصولات محتمل مورد بررسی قرار گرفت. به منظور تعیین پتانسیل استاندارد ردوکس کورکومین تغییرات تابع گیبس استاندارد محاسبه گردید و مقادیر پتانسیل استاندارد محاسبه شده در توافقی خوبی با مقدار تجربی خاصی شد. تغییرات انرژی حلال‌پوشی واکنش مورد مطالعه در این تحقیق نیز با استفاده از روش‌های تجربی و نظری مورد بررسی قرار گرفته است که نتایج حاصل از این دو روش در توافقی خوبی با یکدیگر می‌باشند.

**کلمات کلیدی:** کورکومین، زردچوبه، الکتروشیمی، شیمی محاسباتی، پتانسیل استاندارد ردوکس.

### ۱- مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی در طب تاریخچه‌ای طولانی دارد. گیاهان دارویی به گیاهانی گفته می‌شود که تمام یا بخشی از آن به‌صورت تازه، خشک یا فرآوری شده جهت پیش‌گیری و حتی درمان بیماری‌ها به کار می‌رود [۱]. استفاده مداوم از ترکیبات دارویی شیمیایی منجر به ایجاد گونه‌های بیماری‌زا مقاوم و همچنین افزایش خطر بروز عوارض جانبی می‌شود و این دلیل مناسبی است تا داروسازان به دنبال محصولات جایگزین باشند که در این میان، مواد طبیعی موجود در گیاهان دارویی به‌عنوان جایگزین مناسبی معرفی شده‌اند [۲]. با توجه به این رویکرد، مصرف گیاهان دارویی و فرآورده‌های طبیعی روند رو به افزایشی خواهد داشت. در این میان، گیاهان خوراکی حاوی ترکیبات فنولی به دلیل شواهد حاکی از اثرات مفید آن‌ها بر سلامت انسان توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند. مطالعات بسیاری نشان‌دهنده این است که ارتباط معکوس بین مصرف مواد غذایی غنی از ترکیبات فنولی و بروز بیماری‌هایی مانند بیماری‌های قلبی عروقی، دیابت و سرطان وجود دارد [۳]. از جمله این گیاهان می‌توان به زردچوبه<sup>۱</sup> اشاره کرد. زردچوبه یک گیاه چند ساله متعلق به خانواده زنجبیلیان می‌باشد که در هند و کشورهای جنوب آسیا رشد می‌کند و دمای حدود ۲۰-۳۰ درجه سانتی‌گراد و محیط مرطوب بارانی نیاز دارد. ساقه‌های زیرزمینی گوشتی گیاه یا همان

<sup>۱</sup> Turmeric

ریزومها جمع آوری شده و پس از جوشاندن در آب و سپس خشک کردن آسیاب می شوند و پودر زرد مایل به نارنجی رنگ تهیه می گردد [۴].

عمده ترین ترکیبات موجود در این گیاه کورکومینوئیدها<sup>۲</sup> هستند که شامل ۷۷٪ کورکومین<sup>۳</sup>، ۱۷٪ دی متوکسی کورکومین<sup>۴</sup> و ۳٪ ترکیب بیس- دی متوکسی کورکومین<sup>۵</sup> می باشند. جزء فعال یا همان ماده ی مؤثره زردچوبه کورکومین است که نیم تا پنج درصد از زردچوبه را شامل می شود [۴]. تاریخچه کشف کورکومین به حدود دو قرن پیش برمی گردد، زمانی که استخراج ماده زرد رنگ از ریشه زردچوبه را گزارش داده شد [۵]. در سال ۱۹۴۹ مشخص شد که کورکومین یک ترکیب فعال بیولوژیکی است که دارای خواص ضدباکتری می باشد [۶]. کورکومین به صورت خالص، پودری کریستالی و نامحلول در آب بوده و به راحتی در حلال هایی مانند استون، اتانول و متانول حل می شود. تاکنون خواص متعددی از این ترکیب از جمله فعالیت ضدتومور و ضدسرطان کاهش سطح کلسترول خون و کبد، افزایش عملکرد ایمنی بدن، خاصیت ضدالتهاب، حفاظت در مقابل بیماری آلزایمر و خاصیت آنتی اکسیدانی گزارش شده است [۹-۷]. درمان و پیش گیری از سرطان، به عنوان یکی از شایع ترین و کشنده ترین بیماری های جهان، نیازمند وجود ترکیبات آنتی اکسیدان در بدن می باشد. بنابراین، خاصیت آنتی اکسیدانی کورکومین از اهمیت ویژه ای برخوردار است و همین امر باعث شده تا این ترکیب مورد مطالعات بسیاری قرار گیرد. به طور کلی فعالیت آنتی اکسیدانی کورکومین و سایر ترکیبات فنولی عمدتاً به دلیل خواص اکسایش- کاهش آنها می باشد که می تواند نقش مهمی در جذب و خنثی سازی رادیکال های آزاد ایفا کند [۱۰].

محاسبات نظری با استفاده از روش های تابعیت چگالی (DFT) روی ساختار کورکومین انجام شده است. به عنوان مثال کلو<sup>۶</sup> و همکارانش مطالعه ای را روی ایزومرهای کورکومین با استفاده از روش تابعیت چگالی انجام داده اند [۱۱]. در این مطالعه ابتدا ساختار ایزومرهای مختلف کورکومین با استفاده از روش B3LYP و مجموعه پایه 6-311G(d) مورد بررسی قرار گرفته شده است. سپس انرژی ساختارهای بهینه شده در سطح B3LYP/6-311G(d,p) به دست آمده است. نتایج حاصل از این محاسبات نشان داد که فرم مسطح انولی بسیار پایدارتر از فرم غیرمسطح دای کتو است [۱۱]. بناسی<sup>۷</sup> و همکارانش نیز در یک مطالعه نظری به بررسی ساختار کورکومین با تمرکز بر مقایسه خواص طیف سنجی حاصل از محاسبات نظری با داده های تجربی حاصل از NMR، UV-Vis و IR پرداخته اند [۱۲]. محاسبات با استفاده از روش B3LYP و مجموعه پایه 6-31G(d) و همچنین مجموعه پایه 6-311G(d,p) در فاز گازی و متانول انجام شده است. نتایج حاصل تأیید کرد که فرم غالب کورکومین، فرم انول

<sup>2</sup> Curcuminoids

<sup>3</sup> Curcumin

<sup>4</sup> Demethoxy Curcumin (DMC)

<sup>5</sup> Bis-Demethoxy Curcumin (BDMC)

<sup>1</sup> Kolev

<sup>2</sup> Benassi

می‌باشد و همچنین جمعیت بسیار کم دای کتو نسبت به انول نشان می‌دهد که این فرم تأثیر زیادی بر خواص کورکومین ندارد. محاسبات نظری انجام شده نشان داده‌اند که فرم انولی بین ۸-۵ کیلوکالری بر مول پایدارتر از فرم دای کتو است [۱۲].

آزمایشات تجربی بر روی کورکومین نیز صورت گرفته است. نتایج حاصل از مطالعه ساختار کورکومین به وسیله طیف‌سنجی  $^1\text{H}$  NMR،  $^{13}\text{C}$  NMR و پراش پرتو ایکس گزارش شده است [۱۳]. بررسی ساختار کورکومین در محلول‌های مختلف با استفاده از طیف‌سنجی NMR در حلال‌هایی نظیر کلروفرم و مخلوط آب و دی‌متیل سولفوکسید (DMSO) و همچنین بافرهای آبی DMSO انجام گرفت [۱۳]. کاوانو<sup>۳</sup> و همکارانش نیز به بررسی ساختار کورکومین با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع/طیف‌سنجی جرمی پرداختند [۱۴]. تجزیه و تحلیل ساختاری با استفاده از روش طیف‌سنجی NMR و جذب UV-Vis نیز انجام گرفته است [۱۵].

در این تحقیق به مطالعه کورکومین با استفاده از روشهای تجربی الکتروشیمیایی و روشهای نظری پرداختیم. در بخش تجربی این مطالعه، ابتدا با استفاده از روش ولتامتری چرخه‌ای در محدوده دمایی ۱۰ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد و pH اسیدی در محدوده ۰/۰-۱/۴، پتانسیل‌های الکترودی و پارامترهای ترمودینامیکی تغییرات انرژی آزاد گیبس، انتالپی و انتروپی فرآیندهای اکسایش-کاهش ارزیابی شده‌اند. رفتار الکتروشیمیایی کورکومین در مخلوط دو حلال آب-اتانول نیز بررسی گردید. در بخش نظری، مکانیسمی برای اکسایش کورکومین پیشنهاد گردید و محاسبات مربوط به امکان تشکیل محصولات مختلف انجام گرفت. با توجه به مقادیر محاسبه شده، پتانسیل استاندارد الکترودی، تغییرات انرژی آزاد گیبس، انتالپی و انتروپی فرآیندهای اکسایش و کاهش به دست آمده و با مقادیر تجربی مقایسه شده است. همچنین به منظور اطمینان از انتخاب صحیح مدل حلال‌پوشی و سطح نظری استفاده شده برای محاسبه تغییرات انرژی حلال‌پوشی واکنش، مقادیر نظری این پارامتر با نتایج تجربی مقایسه گردیده است. این پژوهش در ادامه پژوهش‌های قبلی نویسندگان این مقاله است [۱۶ و ۱۷].

## ۲- بخش تجربی

### ۲-۱- مواد شیمیایی

مواد شیمیایی شامل کورکومین (درجه خلوص ۹۷٪) و اتانول (درجه خلوص ۹۷٪) تولید کارخانه Merc می‌باشند. برای تهیه محلول‌های بافر فسفات ۰/۱ مولار از  $\text{H}_3\text{PO}_4$  و برای تنظیم pH آن از NaOH استفاده شده است. در تمام موارد برای تهیه محلول‌ها، آب دو بار تقطیر مورد استفاده قرار گرفته است.

<sup>3</sup> Kawano

## ۲-۲- وسایل و تجهیزات

در این تحقیق ولتاموگرام‌های چرخه‌ای با استفاده از دستگاه پتانسیواستات/گالوانواستات مدل ۱۰۱ ساخت شرکت Autolab هلند و نرم‌افزار NOVA به‌دست آمده است. به‌منظور بررسی رفتار الکتروشیمیایی از سه سل الکترودی ساخت شرکت Metrohm سوئیس استفاده شده است. سه الکتروود مورد استفاده در این سامانه شامل الکتروود کربن شیشه‌ای به قطر ۲ میلی‌متر به‌عنوان الکتروود کار، الکتروود  $\text{Ag/AgCl/KCl}(\text{sat}^{\circ}\text{d})$  به‌عنوان الکتروود مرجع و الکتروود گرافیت به‌عنوان الکتروود کمکی می‌باشند. پتانسیل‌ها نسبت به الکتروود مرجع اندازه‌گیری و گزارش شده‌اند. برای اندازه‌گیری pH محلول‌ها از دستگاه متروهم مدل pH/mV meter ۶۹۱ استفاده شده است. در آزمایشات مربوط به بررسی اثر دما، از یک سل دوجداره به همراه پمپ چرخاننده آب و تثبیت‌کننده دما برای ثابت ماندن دما استفاده شده است.

## ۲-۳- محاسبات نظریه تابعیت چگالی و از اساس

ساختار ترکیبات مورد مطالعه با استفاده از سطح نظری B3LYP/6-31G(2df,p) بهینه شده‌اند که در نظریه G4 توصیه شده است [۱۸]. محاسبات مربوط به فرکانسهای ارتعاشی و داده‌های ترموشیمی نیز در همین سطح نظری به‌دست آمده‌اند. سپس انرژی تک نقطه‌ای ساختارهای بهینه‌شده با روش BMK و مجموعه پایه 6-311+G(3df,2pd) محاسبه شده است [۱۹]. محاسبات مربوط به انرژی حلال‌پوشی نیز با استفاده از مدل حلال‌پوشی SMD و در سطح M05-2X/6-31G(d) انجام شده است [۲۰]. تمامی محاسبات با نرم‌افزار گوسیان ۰۹ انجام گرفته است [۲۱]. برای محاسبه‌ی مقادیر انرژی نقطه‌ی صفر<sup>۱</sup> و تصحیحات گرمایی مربوط به انرژی، انتالپی و انرژی آزاد گیبس، محاسبات فرکانس ارتعاشی نیز در همین سطح انجام شد. از آن‌جا که فرکانس‌های محاسبه شده بر مبنای تقریب نوسانگر هماهنگ می‌باشند، برای اعمال اثرات ناهماهنگی از فاکتور موازنه<sup>۱۰</sup> با مقدار عددی ۰/۹۸۵۴ استفاده شد که در روش G4 پیشنهاد شده است [۱۸]. در تحقیقات قبلی اعتبار روش را نسبت به روش‌های معتبر نشان دادیم [۱۶].

## ۳- بحث و نتیجه گیری

### ۳-۱- معرفی ساختار شیمیایی کورکومین

کورکومین، یک ترکیب پلی‌فنول<sup>۱۱</sup> آب‌گریز<sup>۱۲</sup> با فرمول مولکولی  $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_6$ ، وزن مولکولی ۳۶۸ گرم بر مول و نقطه ذوب ۱۸۳ درجه سانتی‌گراد می‌باشد [۲۲]. همان‌گونه که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، ساختار این ترکیب شامل گروه‌های هیدروکسی<sup>۱۳</sup>،

<sup>1</sup> Zero Point Energy (ZPE)

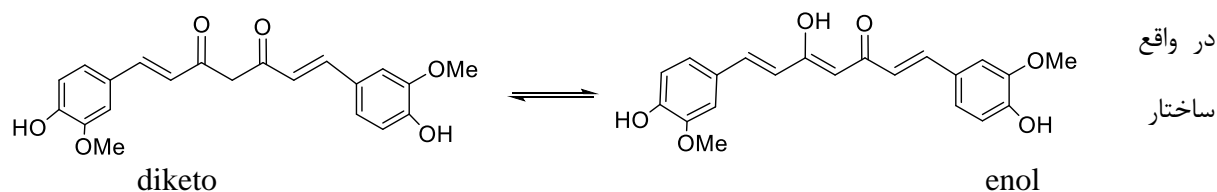
<sup>2</sup> Scale Factor

<sup>3</sup> Polyphenolic compound

<sup>4</sup> Hydrophobic

<sup>5</sup> Hydroxy

متوکسی<sup>۱۴</sup>، انولی<sup>۱۵</sup>، کتونی<sup>۱۶</sup> و پیوندهای غیراشباع می باشد که دارای خاصیت اسیدی- بازی است و قابلیت اکسایش، کاهش و رادیکالی شدن را دارد [۲۲].



شکل ۱- ساختار شیمیایی کورکومین (تعادل میان دو فرم انول و دای کتو)

شیمیایی کورکومین شامل بخش‌هایی است که دارای پتانسیل‌های ویژه‌ای جهت ارتباط بین مولکولی این ترکیب با ترکیبات دیگر از جمله ترکیبات زیست مولکولی می‌باشند. این خواص عبارتند از: توانایی پذیرندگی و دهنندگی پیوند هیدروژنی از طریق بخش بتا- دای کربونیل، توانایی پذیرندگی و دهنندگی پیوند هیدروژنی از طریق گروه هیدروکسیل فنولی و در آخر، توانایی پذیرش پیوند هیدروژنی از طریق گروه متوکسی موجود روی حلقه فنولی.

### ۲-۳- بررسی رفتار الکتروشیمیایی کورکومین

در بخش تجربی این مطالعه، ابتدا با استفاده از روش ولتامتری چرخه‌ای در محدوده دمایی ۴۰-۱۰ درجه سانتی‌گراد و  $\text{pH} = ۰/۴$  ۱/۰، پتانسیل‌های الکترودی و پارامترهای ترمودینامیکی تغییرات انرژی آزاد گیبس، انتالپی و انتروپی فرآیندهای اکسایش- کاهش ارزیابی شده‌اند. در ادامه مکانیسم اکسایش کورکومین پیشنهاد شد و محاسبات مربوط به تشکیل محصولات انجام شده است. با توجه به مقادیر محاسبه شده،  $E^\circ$ ، تغییرات انرژی آزاد گیبس، انتالپی و انتروپی فرآیندهای اکسایش و کاهش به دست آمده و با مقادیر تجربی مقایسه شده است. مقادیر نظری این پارامتر با نتایج تجربی مقایسه گردیده است.

### ۳-۳- توصیف نظری رفتار الکتروشیمیایی کورکومین

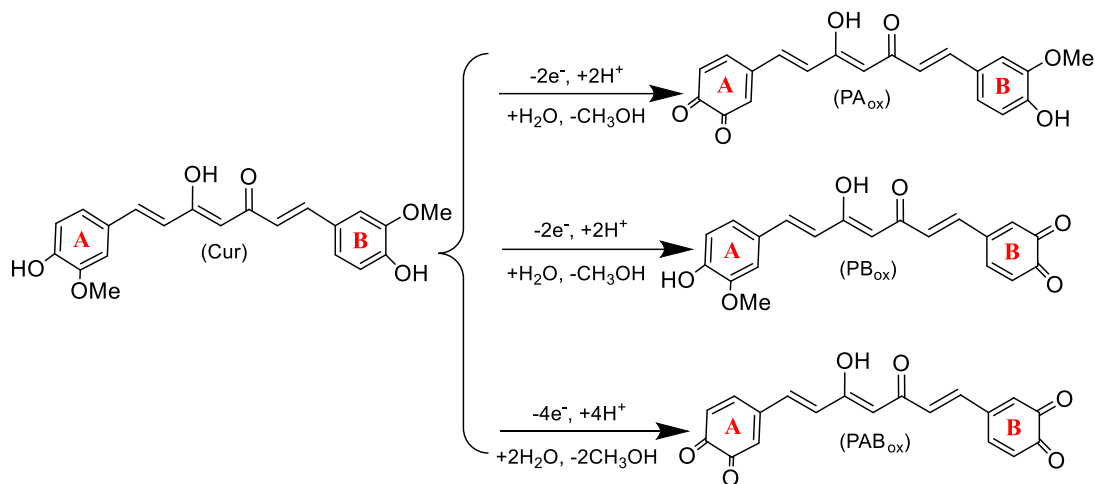
در محلول‌های آب و اتانول فرم غالب کورکومین، فرم انول می‌باشد. به دلیل فرآیند انتقال هیدروژن درون مولکولی سریعی که بین گروه انولی و کربونیل رخ می‌دهد، کورکومین به مولکولی متقارن با دو حلقه با موقعیت‌های یکسان تبدیل می‌شود. کورکومین می‌تواند طی یک فرآیند انتقال الکترون و پروتون برگشت‌ناپذیر و به دنبال آن واکنش شیمیایی با مولکول آب و از دست دادن متانول به فرم اکسیدی خود تبدیل شود. گروه عاملی درگیر در این فرآیندها هیدروکسیل فنولی می‌باشد. به دلیل این که دو هیدروکسیل فنولی در ساختار کورکومین وجود دارد، بنابراین سه فرم اکسید شده برای کورکومین محتمل است. این سه فرم در

<sup>6</sup> Methoxy

<sup>7</sup> Enolic

<sup>8</sup> Ketonic

شکل ۲ نمایش داده شده است. گونه‌های  $PA_{ox}$ ،  $PB_{ox}$  و  $PAB_{ox}$  به ترتیب به محصولات حاصل از اکسایش کورکومین که در آن هیدروکسیل حلقه‌ی A، حلقه‌ی B و هر دو حلقه‌ی A و B اکسید شده‌اند، اشاره دارند.



شکل ۲- ساختار شیمیایی فرم‌های اکسیدشده‌ی کورکومین

با توجه به این که ساختار محصولات ایجاد شده مشابه اورتوبنزوکوئینون<sup>۱۷</sup> می‌باشد، بنابراین می‌توانند در یک فرآیند برگشت پذیر اکسایش- کاهش شرکت کرده و به فرم کاهش یافته خود تبدیل شوند. فرم‌های کاهش یافته  $PA$ ،  $PB$  و  $PAB$  ساختاری مشابه ترکیبات کتکول<sup>۱۸</sup> دارند. همان‌طور که در شکل ۳ نشان داده شده است، هریک از دو ساختار  $PA_{ox}$  و  $PB_{ox}$  طی فرآیند برگشت پذیر دو- الکترونی- دو- پروتونی<sup>۱۹</sup> به ترتیب به فرم‌های کاهش یافته  $PA$  و  $PB$  تبدیل می‌شوند. در مورد گونه‌ی  $PAB_{ox}$ ، با توجه به این که هر دو حلقه می‌توانند کاهش یابند، بنابراین سه ساختار از فرآیند کاهش این ترکیب به دست می‌آید که در شکل ۳ نمایش داده شده است. اگر فرم‌های اکسیدشده کورکومین را به اختصار با  $P_{ox}$  و فرم کاهش یافته آن‌ها را با  $P$  نمایش دهیم، برای هر یک از این ترکیبات واکنش کلی اکسایش- کاهش به صورت زیر می‌باشد:



که  $m$  و  $n$  به ترتیب معرف تعداد الکترون و پروتون انتقال یافته در فرآیند اکسایش- کاهش می‌باشد. برای گونه‌های  $PA_{ox}$ ،  $PB_{ox}$  تعداد الکترون‌ها و پروتون‌های درگیر در واکنش ۱ دو می‌باشد. برای تبدیل  $PAB_{ox}$  به فرم‌های  $PAB_A$  و  $PAB_B$  نیز چون فقط یکی از حلقه‌ها کاهش می‌یابد، فرآیند اکسایش- کاهش برگشت پذیر دو- الکترونی- دو- پروتونی می‌باشد. ولی برای تبدیل فرم اکسیدی  $PAB_{ox}$  به  $PAB_{AB}$  به دلیل این که هر دو حلقه باید احیا شوند، بنابراین تعداد الکترون‌ها و پروتون‌های

<sup>1</sup> Ortho-Benzoquinone

<sup>2</sup> Catechol

<sup>3</sup> Two-Electron-Two-Proton

انتقال یافته چهار می باشد و این تبدیل طی یک فرآیند برگشت پذیر چهار-الکترونی و چهار-پروتونی<sup>۲</sup> صورت می گیرد. معادله ی ۲ توصیف کننده ی پتانسیل فرمال مشروط<sup>۳</sup> ( $E^{\circ'}$ ) واکنش ۱ می باشد.

$$E^{\circ'} = E^{\circ} - (2.303mRT/nF)pH \quad (2)$$

در این معادله R ثابت عمومی گازها، F ثابت فاراده، m و n به ترتیب تعداد پروتون و الکترون، T دما (برحسب کلوین) و  $E^{\circ}$  پتانسیل ردوکس استاندارد<sup>۳</sup> می باشند. همان طور که معادله ۲ نشان می دهد، پتانسیل فرمال واکنش های مورد مطالعه کاملاً وابسته به pH بوده و با افزایش pH به سمت پتانسیل های منفی تر جابه جا می شود.

برای زوج اکسایش- کاهش، پتانسیل فرمال مشروط با استفاده از پتانسیل میانه ی دو پیک آندی و کاتدی به دست می آید  $(E^{\circ'} = (E_{p,a} + E_{p,c})/2)$ . همچنین براساس معادله ۲، عرض از مبدأ نمودارهای خطی  $E^{\circ'}$  برحسب pH بیانگر پتانسیل استاندارد اکسایش- کاهش می باشد.

#### ۳-۴- تعیین پارامترهای ترمودینامیکی واکنش اکسایش- کاهش مشتقات اکسید شده ی کورکومین

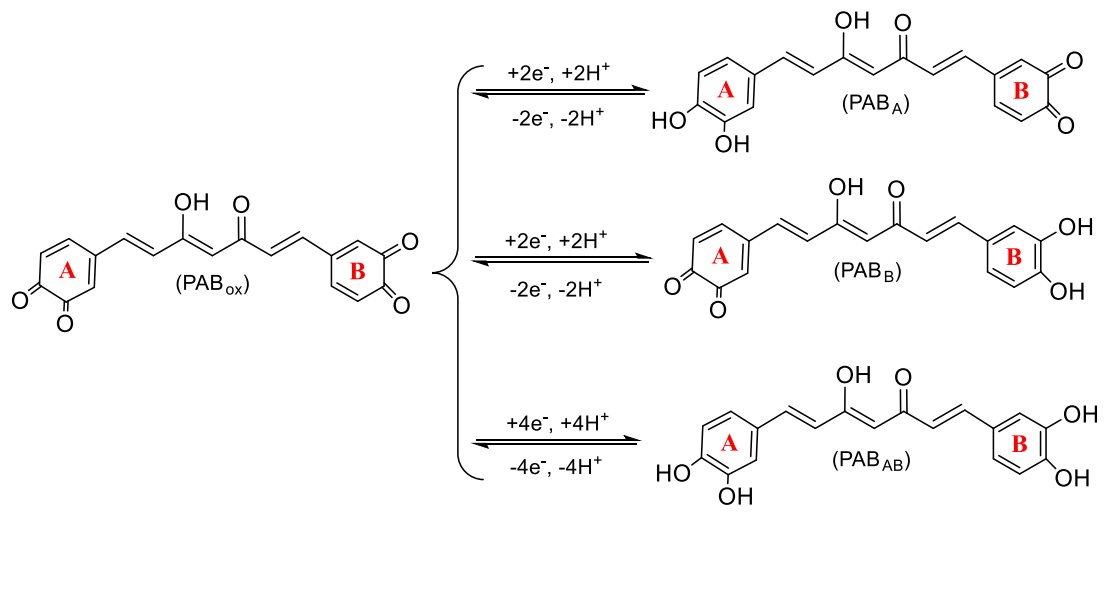
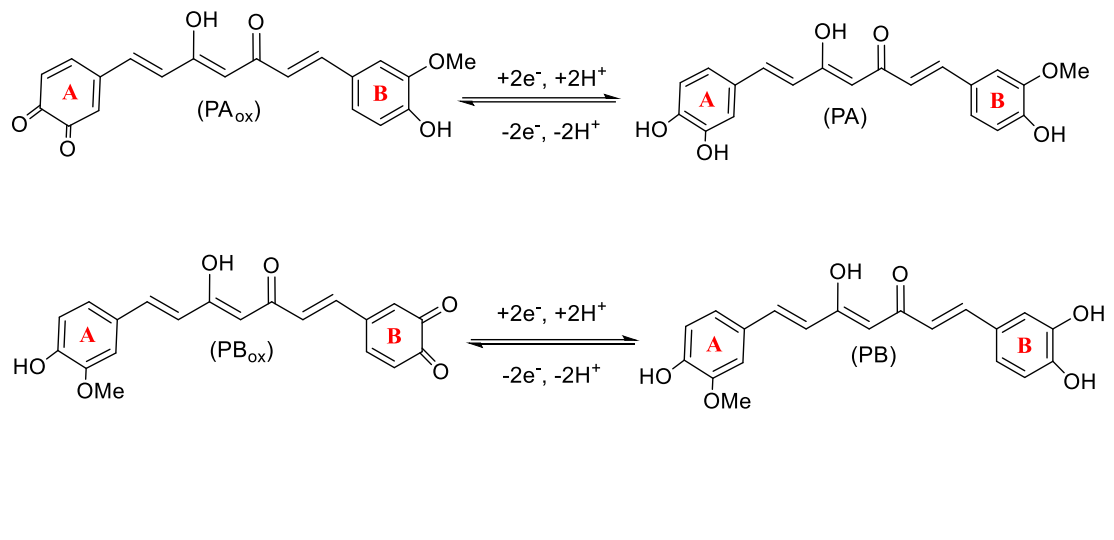
در این بخش از تحقیق برای به دست آوردن اطلاعات کلی در مورد رفتار الکتروشیمیایی کورکومین، ولتاموگرام های چرخه ای محلول کورکومین ۰/۱ میلی مولار در محلول های بافری با pH مختلف در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و در سرعت روبش ۲۵ میلی ولت بر ثانیه بر روی الکتروود کربن شیشه ای برهنه طی دو چرخه متوالی رسم شده است. با توجه به این که کورکومین در آب نامحلول است، از مخلوط ۵۰٪ حجمی آب و اتانول به عنوان حلال استفاده شده است. بر اساس ولتاموگرام های رسم شده در pH های مختلف، یک زوج اکسایش- کاهش در تمام pH مشاهده می شود. با توجه به این که ولتاموگرام ها در محیط pH اسیدی واضح تر بوده اند، محدوده pH ۱/۰ تا ۴/۰ برای بررسی رفتار الکتروشیمیایی کورکومین انتخاب شده است. همچنین به منظور بررسی اثر دما و در ادامه محاسبه ی توابع ترمودینامیکی، پاسخ ولتامتری چرخه ای کورکومین در pH ۰/۰-۱/۴ در دماهای ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰ درجه سانتی گراد نیز بررسی شده است.

<sup>1</sup> Four-Electron-Four-Proton

<sup>2</sup> Conditional Formal Potential

<sup>3</sup> Standard Redox Potential



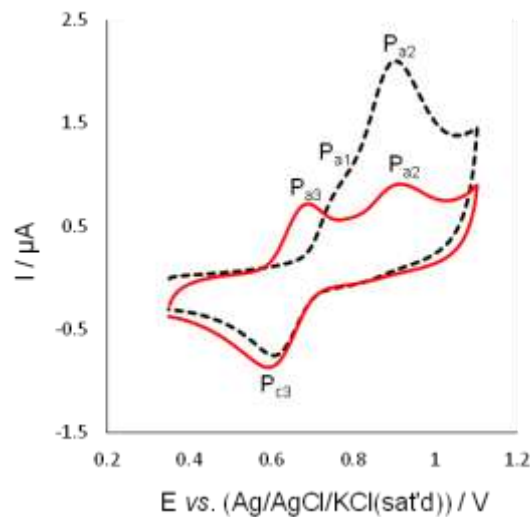


شکل ۳- (a) واکنش‌های اکسایش- کاهش ترکیبات  $PA_{ox}$  و  $PB_{ox}$  و ساختار شیمیایی فرم‌های کاهش‌یافته  $PA$  و  $PB$  (b) واکنش‌های اکسایش- کاهش ترکیب  $PAB_{ox}$  و ساختار شیمیایی فرم‌های کاهش‌یافته آن:  $PAB_A$ ،  $PAB_B$  و  $PAB_{AB}$

شکل ۵ ولتاموگرام چرخه‌ای محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار حاوی کورکومین با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار در  $pH=۱/۰$  و دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد را طی دو چرخه‌ی متوالی نشان می‌دهد. جهت رعایت اختصار ولتاموگرام‌های ثبت شده تنها در دمای ۱۵ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد در شکل‌های ۶ و ۷ نمایش داده شده است.

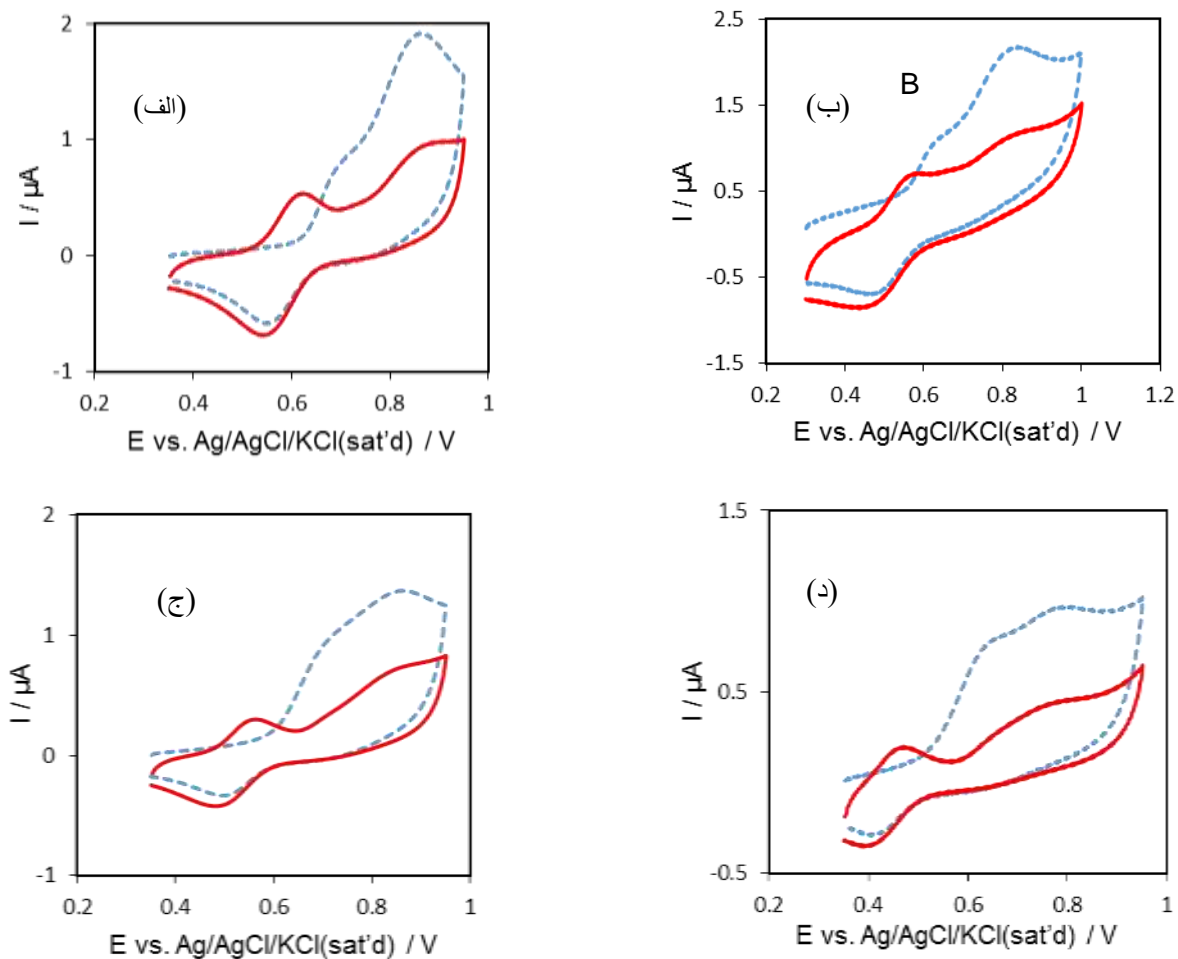
بر اساس شکل ۵ در چرخه‌ی اول دو پیک آندی ( $Pa_1$  و  $Pa_2$ ) و یک پیک کاتدی ( $Pc_3$ ) وجود دارد. دو پیک آندی مربوط به فرآیند اکسایش کورکومین جذب شده در سطح الکتروود ( $Pa_1$ ) و کورکومین موجود در محلول می‌باشند ( $Pa_2$ ). با توجه به

مکانیسم ارائه شده، فرم‌های اکسیدشده‌ی کورکومین با مولکول‌های آب واکنش داده و تبدیل به ترکیباتی مشابه اورتو-بنزوکوئینون‌ها می‌شوند (واکنش‌های نشان داده شده در شکل ۵).

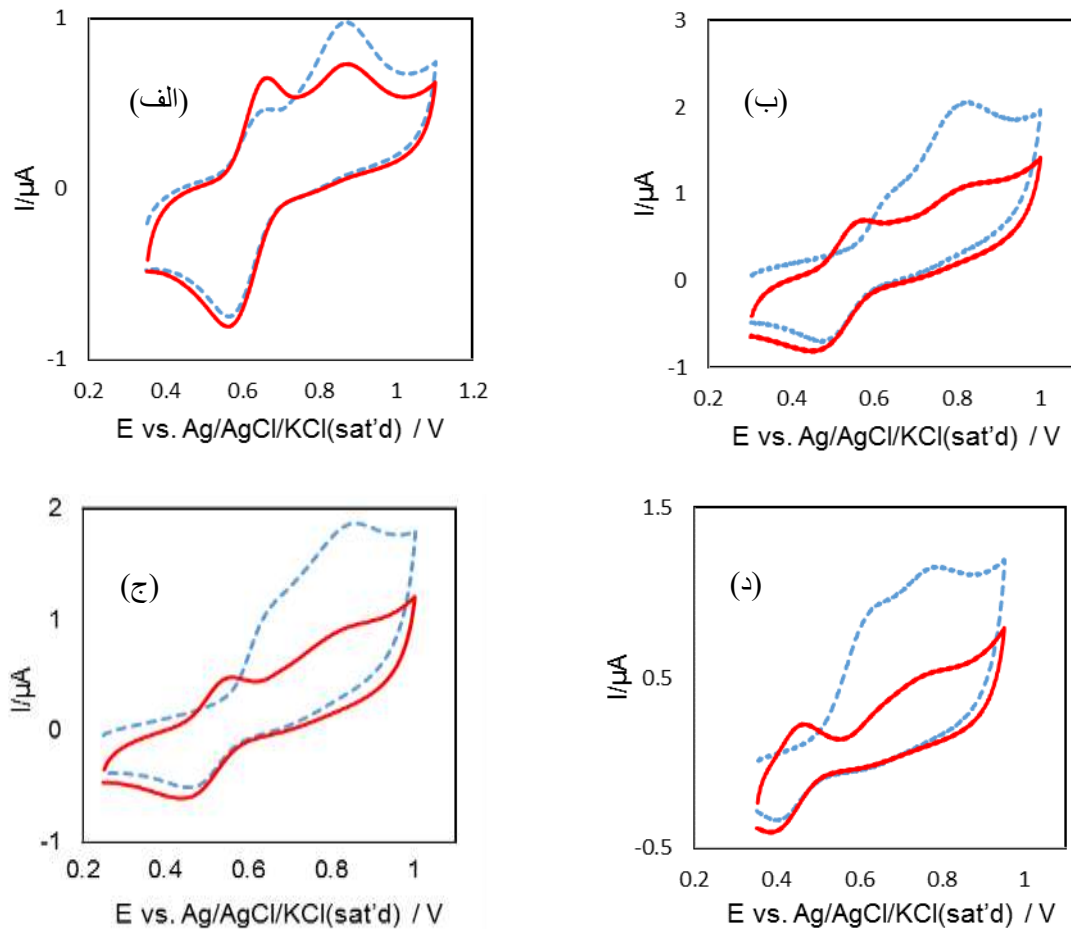


شکل ۵- ولتاموگرام چرخه‌ای الکترودهی کربن شیشه‌ای برهنه در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار حاوی کورکومین با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار در  $\text{pH}=۱/۰$  و دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد (نمودار نقطه‌چین مربوط به چرخه‌ی اول و نمودار خط پیوسته مربوط به چرخه‌ی دوم می‌باشد).

بنابراین پیک کاتدی  $\text{Pc3}$  مربوط به واکنش کاهش این محصولات است. طی چرخه‌ی دوم یک زوج اکسایش-کاهش ( $\text{Pa3}$  و  $\text{Pc3}$ ) مربوط به محصولات حاصل از اکسایش کورکومین مشاهده شده است. همچنین یک پیک آندی  $\text{Pa2}$  برگشت‌ناپذیر در پتانسیل‌های مثبت‌تر نمایان شده که مربوط به فرآیند اکسایش کورکومین جذب شده روی سطح الکترودهی می‌باشد. با توجه به ولتاموگرام‌های نشان داده شده در شکل‌های ۶ تا ۷، میزان جذب نسبی کورکومین و محصول حاصل از اکسایش آن روی سطح الکترودهی به  $\text{pH}$  و دما وابسته است. نتایج بیانگر این واقعیت می‌باشند که قدرت جذب کورکومین روی سطح الکترودهی بیشتر از فرم اکسیدشده‌ی آن است. بنابراین انتظار می‌رود که پیک جذبی به سمت پتانسیل‌های مثبت‌تر از پتانسیلی که پیک گونه موجود در محلول (پیک انتشاری) ظاهر می‌شود، جابه‌جا گردد.



شکل ۶- ولتاموگرام چرخه‌ای الکتروود کربن شیشه‌ای برهنه در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار حاوی کورکومین با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد و pH (الف): ۰/۱، (ب): ۲/۰، (ج): ۳/۰ و (د): ۴/۰ (نمودار نقطه‌چین مربوط به چرخه‌ی اول و نمودار خط پیوسته مربوط به چرخه‌ی دوم می‌باشد).



شکل ۷- ولتاموگرام چرخه‌ای الکتروود کربن شیشه‌ای برهنه در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار حاوی کورکومین با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و pH (الف): ۱/۰، (ب): ۲/۰، (ج): ۳/۰ و (د): ۴/۰ (نمودار نقطه‌چین مربوط به چرخه‌ی اول و نمودار خط پیوسته مربوط به چرخه‌ی دوم می‌باشد).

همچنین با توجه به نتایج ولتاموگرام‌ها، پیک‌های آندی و کاتدی  $P_{a3}$  و  $P_{c3}$  با افزایش pH به سمت پتانسیل‌های منفی‌تر جابه‌جا می‌شوند. توجه به این‌که ساختار شیمیایی محصولات حاصل از واکنش فرم‌های اکسیدشده‌ی کورکومین با آب (شکل ۵)، مشابه ترکیبات اورتوبنزوکوئینون است، بنابراین پتانسیل‌های اکسایش- کاهش آن‌ها به pH وابسته است. به منظور محاسبه‌ی پتانسیل اکسایش- کاهش این ترکیبات از پتانسیل‌های فرمال مشروط در محدوده‌ی دمایی ۴۰-۱۰ درجه سانتی‌گراد و pH ۰/۰-۱/۴ استفاده شده است. نمودارهای مربوط به تغییرات پتانسیل‌های اکسایش- کاهش فرمال نسبت به pH در دماهای مختلف در شکل ۸ نشان داده شده است. مقادیر شیب در این نمودارها در محدوده‌ی ۰/۰۵۵۴-۰/۰۶۲۴ ولت به ازای هر واحد pH به دست آمده است. این مقدار در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ۰/۰۶۰۷ ولت است که در توافق خوبی با مقدار نظری ۰/۰۵۹۱ ولت می‌باشد. با توجه به این مقدار می‌توان نتیجه گرفت که تعداد الکترون‌ها و پروتون‌های درگیر در واکنش اکسایش- کاهش مورد مطالعه در این تحقیق با هم برابر است. با استفاده از روش برون‌یابی، پتانسیل‌های اکسایش- کاهش استاندارد تجربی در دماهای مختلف در

pH صفر به دست آمده است. داده‌ها نشان می‌دهند که مقادیر پتانسیل استاندارد وابسته به دما بوده و مقادیری در محدوده بین ۰/۰-۶۷۶/۶۳۹ ولت را دارا می‌باشد. به منظور محاسبه‌ی پارامترهای ترمودینامیکی مربوط به واکنش، نمودار تغییرات پتانسیل‌های اکسایش-کاهش استاندارد نسبت به دما رسم و در شکل ۹ ارائه شده است.

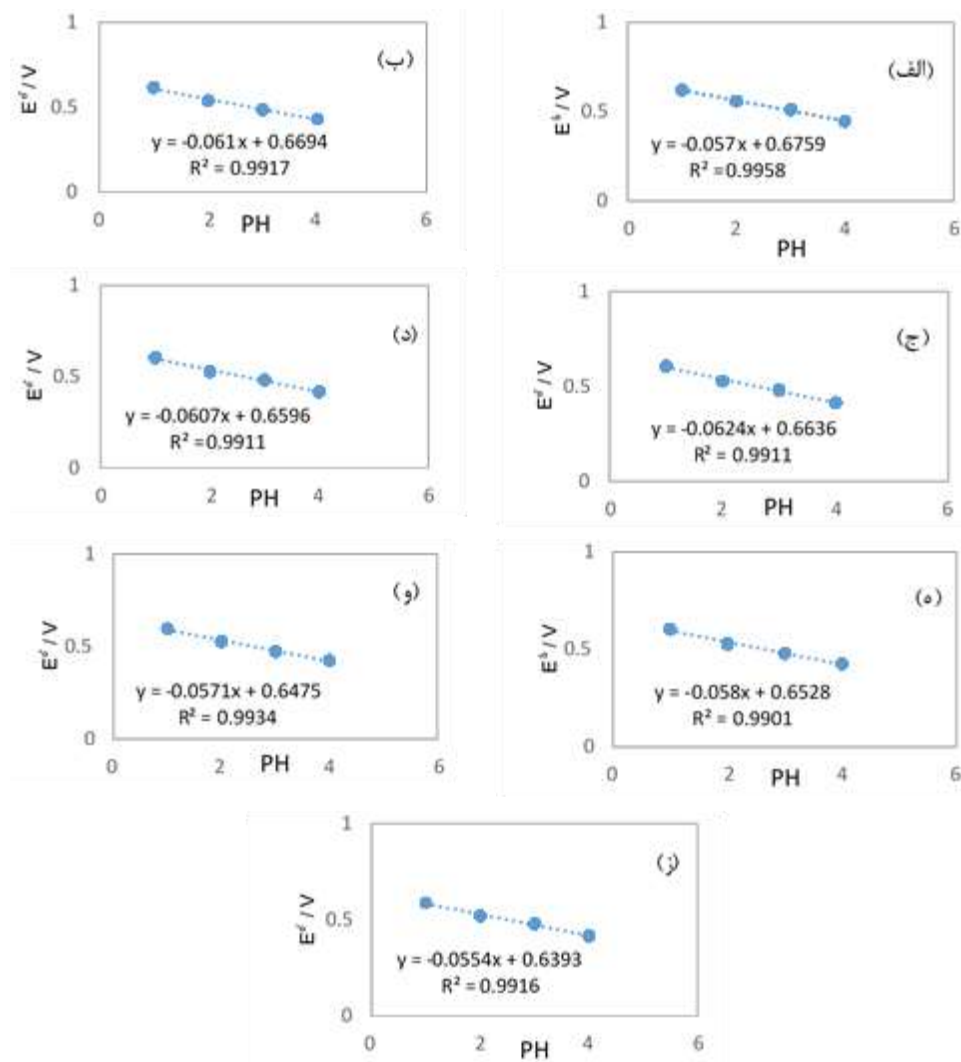
شایان ذکر است که مقادیر استفاده شده پتانسیل‌های اکسایش-کاهش استاندارد برای رسم این نمودار نسبت به پتانسیل الکتروود استاندارد هیدروژن می‌باشند. برای تبدیل پتانسیل‌های به دست آمده نسبت به الکتروود استاندارد هیدروژن از مقدار ۰/۱۹۷ ولت پتانسیل مربوط به الکتروود Ag/AgCl/KCl(sat'd)، استفاده شده است [۲۳]. با توجه به شکل (۵-۹)، مقدار شیب نمودار E° بر حسب دما ثابت و برابر ۰/۰۱۲- می‌باشد. با استفاده از این مقدار و معادلات ۳ تا ۵ تغییرات انتروپی، انتالپی و انرژی آزاد گیبس مربوط به واکنش ۱ محاسبه شده است [۲۳-۲۴]:

$$\Delta S^\circ = nF(\partial E^\circ / \partial T)_P \quad (۳)$$

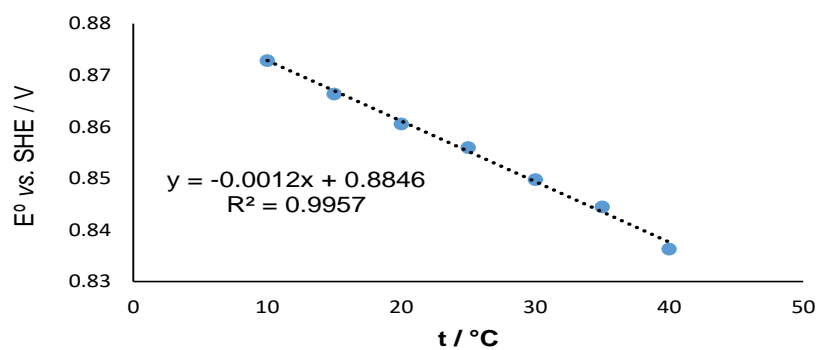
$$\Delta H^\circ = -nF[E^\circ - T(\partial E^\circ / \partial T)_P] \quad (۴)$$

$$\Delta G^\circ = -nFE^\circ \quad (۵)$$

مقادیر به دست آمده E° نسبت به الکتروود مرجع Ag/AgCl/KCl(sat'd) و همچنین الکتروود استاندارد هیدروژن (SHE) و کلیه‌ی پارامترهای ترمودینامیکی محاسبه شده در دماهای مختلف در جدول ۱ ارائه شده است. با توجه به ثابت بودن مقدار شیب نمودار نمایش داده شده در شکل ۱۳، تغییرات انتروپی برای واکنش اکسایش-کاهش ۱ در محدوده‌ی دمایی مورد مطالعه وابسته به دما نیست. ولی تغییرات انرژی آزاد گیبس و انتالپی واکنش به دما وابسته است. مقدار منفی شیب نمودار همچنین نشان می‌دهد که پتانسیل‌های مرحله کاهش با افزایش دما کاهش می‌یابد که این در توافق خوبی با نتایج مطالعه قبلی می‌باشد [۲۴].



شکل ۸- نمودار تغییرات پتانسیل فرمال (نسبت به الکترود مرجع  $Ag/AgCl/KCl(sat'd)$  نسبت به pH مربوط به زوج اکسایش- کاهش برگشت پذیر  $P_{c3}$  و  $P_{a3}$  در دماهای (الف): ۱۰، (ب): ۱۵، (ج): ۲۰، (د): ۲۵، (ه): ۳۰، (و): ۳۵ و (ز): ۴۰ درجه سانتی گراد.



شکل ۹- تأثیر دما بر پتانسیل اکسایش- کاهش استاندارد واکنش ۱ مربوط به زوج اکسایش- کاهش برگشت پذیر  $P_{c3}$  و  $P_{a3}$ .

جدول ۱- مقادیر تجربی پتانسیل‌های اکسایش- کاهش (بر حسب ولت) و پارامترهای ترمودینامیکی (بر حسب کیلوژول بر مول) واکنش ۱ مربوط به فرآیند زوج برگشت‌پذیر اکسایش- کاهش ( $P_{a3}$  و  $P_{c3}$ ) چرخه‌ی دوم ولتاموگرام‌های چرخه‌ای در مخلوط آب/اتانول در محدوده‌ی دمایی ۱۰ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد.

t (°C)	$E_{Ag/AgCl/KCl(sat'd)}$ (V)	$E^\circ$ (V)	$\Delta G^\circ$ (kJ mol <sup>-1</sup> )	$\Delta H^\circ$ (kJ mol <sup>-1</sup> )
10	0.676	0.873	-168.4	-234.0
15	0.669	0.866	-167.2	-233.9
20	0.664	0.861	-166.1	-234.0
25	0.659	0.857	-165.3	-234.2
30	0.653	0.850	-164.0	-234.2
35	0.647	0.844	-163.0	-234.3
40	0.639	0.836	-161.4	-233.9

#### ۴-۵- تعیین پارامترهای ترمودینامیکی واکنش-اکسایش کاهش کورکومین

پتانسیل اکسایش- کاهش استاندارد گونه‌های مورد مطالعه در این تحقیق می‌تواند از واکنش زیر به دست آید:



این واکنش خود از جمع دو واکنش ۱ و نیم واکنش الکتروکود استاندارد هیدروژن به دست آمده است. تغییرات انرژی آزادگیس و واکنش ۶ در فاز محلول با استفاده از معادله ۷ محاسبه می‌گردد که در آن برای هر گونه از مجموع انرژی آزادگیس فاز گازی و انرژی حلال‌پوشی آن گونه به دست می‌آید:

$$\Delta G^\circ (\text{rxn, soln}) = G^\circ (P, \text{soln}) - G^\circ (P_{ox}, \text{soln}) - G^\circ (H_2, \text{soln}) \quad (7)$$

مشابه سایر محاسبات در این تحقیق ابتدا ساختار گونه‌های مد نظر که در شکل ۲ و ۳ نشان داده شده‌اند در سطح B3LYP/6-31G(d) بهینه و داده‌های ترموشیمی آن‌ها با استفاده از محاسبات فرکانس با در نظر گرفتن ضریب موازنه ۰/۹۸۵۴ محاسبه شده است. سپس انرژی آزادگیس ساختارهای بهینه‌شده نیز با استفاده از روش BMK و مجموعه پایه 6-311+G(3df,2pd) به دست آمده است. محاسبات حلال‌پوشی برای هرگونه در فاز آب و اتانول نیز در سطح نظری M05-2X/6-31G(d) با استفاده از مدل حلال‌پوشی SMD انجام شده است. کلیه محاسبات مربوط به دمای ۲۹۸ کلوین می‌باشد. با توجه به این که حلال مورد استفاده در بخش تجربی مخلوط ۵۰ درصد حجمی آب و اتانول است، بنابراین انرژی آزادگیس حلال‌پوشی گونه‌ها در مخلوط حلال‌های آب و اتانول براساس رابطه‌ی ۸ محاسبه شده است [۲۳-۲۴]:

$$\Delta G(\text{solv, mix}) = X \Delta G(\text{solv, ethanol}) + (1-X) \Delta G(\text{solv, water}) \quad (8)$$

در این معادله  $X$  اشاره به کسر مولی اتانول دارد که مقدار آن در مخلوط ۵۰ درصد حجمی آب و اتانول ۰/۲۴ می‌باشد. پارامترهای ترمودینامیکی محاسبه شده برای واکنش‌های برگشت‌پذیر نشان داده شده در شکل‌های ۲ و ۳ در جدول ۲ ارائه شده است. مقادیر مربوط به  $E^\circ$  با استفاده از معادله‌ی ۵ به دست آمده است. همان‌طور که از نتایج جدول ملاحظه می‌شود، مقادیر  $\Delta G^\circ$

(rxn, soln) محاسبه شده در توافق خوبی با مقدار تجربی به دست آمده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (۱۶۵.۳- کیلوژول بر مول) می‌باشند.

مقادیر محاسبه شده برای دو گونه  $PA_{ox}$  و  $PB_{ox}$  نشان می‌دهد که فعالیت اکسایش - کاهش گروه‌های هیدروکسیل دو حلقه A و B تقریباً مشابه یکدیگر است. به‌عنوان یک نتیجه‌گیری کلی مقادیر محاسبه شده برای فرم‌های  $PA_{ox}$ ،  $PB_{ox}$  و  $PAB_{ox}$  با انحرافی کمتر از ۰/۳۰ ولت از مقدار تجربی (۰/۸۵۷ ولت) به دست آمده که بیان‌گر این مطلب است که هر سه این گونه‌ها می‌توانند در پتانسیل یکسانی احیا شوند. با این حال اختلاف جزئی بین پتانسیل اکسایش - کاهش ترکیبات  $PA$ ،  $PB$  و همچنین بین گونه‌های  $PAB_A$  و  $PAB_B$  نشان می‌دهد که فرایند اکسایش الکتروشیمیایی برای حلقه A کمی مطلوب‌تر از حلقه B می‌باشد. اگرچه این اختلاف پتانسیل‌ها به حدی کم است که با مطالعه تجربی قابل تشخیص از هم نمی‌باشد؛ بنابراین جفت اکسایش - کاهش نشان داده شده در شکل ۴ می‌تواند مربوط به هریک از گونه‌های  $PA_{ox}$ ،  $PB_{ox}$  و  $PAB_{ox}$  و فرم‌های کاهش یافته آن‌ها باشد.

جدول ۲- مقادیر محاسبه شده پتانسیل‌های اکسایش - کاهش (بر حسب ولت) و تغییرات انتالپی (بر حسب کیلوژول بر مول)، انتروپی (بر حسب ژول بر مول بر کلوبین) و انرژی‌های آزاد گیبس (بر حسب کیلوژول بر مول) واکنش ۶ در فاز گازی و مخلوط آب/اتانول (Eth/W) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد.

Thermodynamic property	PA	PB	PAB <sub>A</sub>	PAB <sub>B</sub>	PAB <sub>AB</sub>
$\Delta H^\circ$ (gas)	-198.1	-192.0	-204.5	-198.6	-397.0
$\Delta S^\circ$ (gas)	-131.3	-126.7	-135.1	-127.8	-261.9
$\Delta G^\circ$ (gas)	-158.9	-154.3	-164.2	-160.4	-318.9
$\Delta G^\circ$ (soln, Eth/W)	-6.7	-5.4	-3.3	-2.2	-8.3
$\Delta G^\circ$ (rxn, soln)	-165.6	-159.6	-167.5	-162.6	-327.3
$E^\circ$ (calc)	0.858	0.827	0.868	0.843	0.848

## ۵- نتیجه‌گیری

در این مطالعه، ابتدا تحلیلی محاسباتی از ساختار شیمیایی کورکومین، مهم‌ترین جزء زردچوبه، با استفاده از روش‌های پیشرفته محاسباتی انجام شده است. در ادامه، رفتار الکتروشیمیایی کورکومین در مخلوط حلال آب و اتانول با استفاده از روش‌های ولتامتری چرخه‌ای و محاسبات شیمی کوانتومی مورد ارزیابی قرار گرفته است. به منظور تعیین پتانسیل کاهش مشتقات کورکومین و همچنین محاسبه پارامترهای ترمودینامیکی از جمله انرژی آزاد گیبس، انتالپی و انتروپی واکنش‌های مورد نظر، آزمایشات در pH و دماهای مختلف انجام گرفت. فرایند اکسایش کورکومین منجر به تولید محصولاتی می‌شود که با استفاده از محاسبات نظری مورد بررسی گرفت. مطابق محاسبات نظری واکنش‌های مندرج در شکل ۳ (b) محتمل است. مقادیر پتانسیل استاندارد محاسبه شده در توافق خوبی با مقدار تجربی می‌باشد، به‌طوری‌که انحراف مقادیر محاسبه شده کمتر از ۰/۳۰ ولت از مقدار تجربی (۰/۸۵۷ ولت) به دست آمد.



## ۶- فهرست منابع و مآخذ

- [1] Petrovska, B. B. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy reviews*, 6(11), 1-5.
- [2] Sharma, R. A., Gescher, A. J., & Steward, W. P. (2005). Curcumin: the story so far. *European journal of cancer*, 41(13), 1955-1968.
- [3] Huang, W. Y., Cai, Y. Z., & Zhang, Y. (2009). Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: potential use for cancer prevention. *Nutrition and cancer*, 62(1), 1-20.
- [4] Harada, T., McTernan, H. L., Pham, D. T., Lincoln, S. F., & Kee, T. W. (2015). Femtosecond transient absorption spectroscopy of the medicinal agent curcumin in diamide linked  $\gamma$ -cyclodextrin dimers. *The Journal of Physical Chemistry B*, 119(6), 2425-2433.
- [5] Shishodia, S., Sethi, G., & Aggarwal, B. B. (2005). Curcumin: getting back to the roots. *Annals of the New York Academy of sciences*, 1056(1), 206-217.
- [6] Schraufstatter, E., & Bernt, H. (1949). Antibacterial action of curcumin and related compounds. *Nature*, 164(4167), 456-457.
- [7] Aggarwal, B. B., Kumar, A., & Bharti, A. C. (2003). Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer research*, 23(1/A), 363-398.
- [8] Wilken, R., Veena, M. S., Wang, M. B., & Srivatsan, E. S. (2011). Curcumin: A review of anti-cancer properties and therapeutic activity in head and neck squamous cell carcinoma. *Molecular cancer*, 10(1), 1-19.
- [9] Julie, S., & Jurenka, M. (2009). Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent. *Altern Med Rev*, 14(2), 141-153.
- [10] Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food chemistry*, 105(3), 940-949.
- [11] Kolev, T. M., Velcheva, E. A., Stamboliyska, B. A., & Spiteller, M. (2005). DFT and experimental studies of the structure and vibrational spectra of curcumin. *International Journal of Quantum Chemistry*, 102(6), 1069-1079.
- [12] Benassi, R., Ferrari, E., Lazzari, S., Spagnolo, F., & Saladini, M. (2008). Theoretical study on Curcumin: A comparison of calculated spectroscopic properties with NMR, UV-vis and IR experimental data. *Journal of Molecular Structure*, 892(1-3), 168-176.
- [13] Payton, F., Sandusky, P., & Alworth, W. L. (2007). NMR study of the solution structure of curcumin. *Journal of natural products*, 70(2), 143-146.
- [14] Kawano, S. I., Inohana, Y., Hashi, Y., & Lin, J. M. (2013). Analysis of keto-enol tautomers of curcumin by liquid chromatography/mass spectrometry. *Chinese Chemical Letters*, 24(8), 685-687.

- [15] Cornago, P., Claramunt, R. M., Bouissane, L., Alkorta, I., & Elguero, J. (2008). A study of the tautomerism of  $\beta$ -dicarbonyl compounds with special emphasis on curcuminoids. *Tetrahedron*, 64(35), 8089-8094.
- [16] Anjomshoa, S., Namazian, M., & Noorbala, M. R. (2016). The effect of solvent on tautomerism, acidity and radical stability of curcumin and its derivatives based on thermodynamic quantities. *Journal of Solution Chemistry*, 45, 1021-1030.
- [17] Anjomshoa, S., Namazian, M., & Noorbala, M. R. (2017). Is curcumin a good scavenger of reactive oxygen species? A computational investigation. *Theoretical Chemistry Accounts*, 136, 1-6.
- [18] Curtiss, L. A., Redfern, P. C., & Raghavachari, K. (2007). Gaussian-4 theory. *The Journal of chemical physics*, 126(8), 084108.
- [19] Boese, A. D., & Martin, J. M. (2004). Development of density functionals for thermochemical kinetics. *The Journal of chemical physics*, 121(8), 3405-3416.
- [20] Marenich, A. V., Cramer, C. J., & Truhlar, D. G. (2009). Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions. *The Journal of Physical Chemistry B*, 113(18), 6378-6396.
- [21] Frisch, M. J. (2009) Gaussian 09, Revision A.02, Gaussian Inc.
- [22] Ghosh, R., Mondal, J. A., & Palit, D. K. (2010). Ultrafast dynamics of the excited states of curcumin in solution. *The Journal of Physical Chemistry B*, 114(37), 12129-12143.
- [23] Eslami, M., Zare, H. R., & Namazian, M. (2012). Thermodynamic parameters of electrochemical oxidation of L-DOPA: Experimental and theoretical studies. *The Journal of Physical Chemistry B*, 116(41), 12552-12557.
- [24] Eslami, M., Namazian, M., & Zare, H. R. (2013). Electrooxidation of homogentisic acid in aqueous and mixed solvent solutions: experimental and theoretical studies. *The Journal of Physical Chemistry B*, 117(9), 2757-2763.