

Diss. ETH No. 16408

**CARBON DIOXIDE CATALYZED OXIDATION OF PHENOLS BY
PEROXYNITRITE**

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH

for the degree of
Doctor of Natural Sciences

presented by

Alina Alexandrovna Papina

Dipl. Chem. Novosibirsk State University

born 09.01.1977

citizen of the Russian Federation

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Willem H. Koppenol, examiner

Prof. Dr. Joseph S. Beckman, co-examiner

2005

SUMMARY

The mechanism of carbon dioxide catalyzed oxidations by peroxyxynitrite are commonly rationalized in terms of formation of trioxocarbonate(\bullet 1 $-$) / nitrogen dioxide radical pair in *ca.* 30% yield. Peroxyxynitrite and carbon dioxide first form an adduct, which itself is considered too short-lived to be a relevant oxidant, and which homolyses to a radical pair. With phenols, only biphenols and nitrophenols have been reported as oxidation products. Formation of these products would be in accordance with a radical mechanism, whereby phenoxy radicals are produced by the reaction of trioxocarbonate(\bullet 1 $-$) with phenol and phenolate, and nitrogen dioxide with phenolate. Coupling of phenoxy radicals with each other and with nitrogen dioxide yields nitro- and biphenols. Formation of biphenols at higher pH was considered as an additional proof of a radical mechanism.

We reinvestigated this reaction and discovered important aspects that were overlooked.

Products. With phenol in excess, product yields are not higher than *ca.* 20% relative to peroxyxynitrite. The detected products are: 2-nitrophenol, 4-nitrophenol, 2,2'-biphenol, 4,4'-biphenol, and *para*-benzoquinone, previously unreported. The dependence of product yields on peroxyxynitrite, carbon dioxide and phenol concentrations, and on pH was studied. The isomer ratio of 2,2'- to 4,4'-biphenols changes with pH and phenol concentration, while the ratio of 2- to 4-nitrophenols is constant, *ca.* 1.4 to 1. The yields of 2-nitrophenol, 4-nitrophenol and 4,4'-biphenol decrease with pH and phenol concentration, while the yield of 2,2'-biphenol increases. The dependence of the *para*-benzoquinone yield is more complex and requires optimal phenolate concentrations. At pH 7 and 10, this yield is maximal at a phenol-to-peroxyxynitrite ratio of *ca.* 3 : 1, and *ca.* 1 : 10, respectively. Increasing the carbon dioxide concentration suppresses formation of 2,2'-biphenol, but favors

Summary

formation of all four isomeric biphenols and nitrophenols as well as the formation of *para*-benzoquinone.

Biphenols. The yield of 4,4'-biphenol decreases with pH and phenol concentration, while the yield of 2,2'-biphenol increases. Thus, the carbon dioxide catalyzed oxidative coupling of phenol by peroxyxynitrite occurs by two pathways distinguished by the isomer ratio of 2,2'- to 4,4'-biphenols. At neutral pH and moderate phenol concentrations, both biphenols are formed in comparable yields, most probably, by coupling of two phenoxyl radicals. Nitrophenols are likely to be formed *via* this pathway, too, and thus the reactive intermediate is a trioxocarbonate(\bullet 1 $-$) and nitrogen dioxide radical pair. At high pH and phenol concentration, 2,2'-biphenol is the only identified coupled product, and its formation does not involve phenoxyl radicals. Instead, under conditions favoring the formation of 2,2'-biphenol, a previously unreported long-lived ($t_{1/2} \sim 10$ s at pH 10 and 1 mM phenol) diamagnetic intermediate with an absorption maximum at 400 nm is observed. This intermediate is formed from phenolate concomitantly with the decay of peroxyxynitrite and, when sufficient excess of phenol is present, disappears *via* reaction with phenol, to form 2,2'-biphenol.

***Para*-benzoquinone.** *Para*-benzoquinone is formed in up to 5% yield relative to the initial peroxyxynitrite concentration. Given a maximum 20% product yield, it is one of the major reaction products, previously overlooked, no doubt, due to its instability in alkaline aqueous solutions. We confirmed the formation of *para*-benzoquinone by three methods – HPLC, MS, and the kinetics of its disappearance in alkaline solutions as followed by UV-Vis spectrophotometry. *Para*-benzoquinone is a product of four-electron oxidation of phenol and, given that peroxyxynitrite is at best a two-electron oxidant, must be formed by oxidation of a precursor. The appearance of an absorption band above 500 nm, which might be due to quinhydrone, a 1:1 charge-transfer complex between hydroquinone and

benzoquinone, indicates that hydroquinone is a likely *para*-benzoquinone precursor. The dependence of *para*-benzoquinone yields on pH and phenol concentration suggests that its formation is related to the non-radical pathway of 2,2'-biphenol formation. Indeed, the maximum yields of *para*-benzoquinone require an optimal phenolate concentration. It is likely therefore, that *para*-benzoquinone and 2,2'-biphenol stem from a common intermediate, which itself requires phenolate and may isomerize to hydroquinone or react with another phenolate molecule to form 2,2'-biphenol.

Intermediate. The identity of the intermediate, that is both a 2,2'-biphenol and hydroquinone precursor, is of interest. Because of its low yields (*ca.* 20 μM) and relatively short lifetime (~ 100 s), we were unable to characterize the intermediate by conventional structural methods. We thus studied the kinetics of its formation and decay in a wide concentration and pH range, its reactivity by a sequential-mix stopped-flow kinetics experiments, and characterized it by ESR spectrometry and UV-Vis spectrophotometry. Given the absence of the ESR signal, this intermediate is diamagnetic; it has an absorption maximum at 400 nm with $\epsilon_{400} = (61 \pm 1) \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, and its UV-Vis spectrum remains unchanged over, at least, the pH range 5 to 11. The intermediate is formed at alkaline pH concomitantly with the decay of peroxyxynitrite and disappears *via* reaction with phenol and/or phenolate ($k = (40 \pm 9) \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ at pH 7.2 and $k = (30 \pm 1) \times 10 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ at pH 10.6), concomitantly with the formation of 2,2'-biphenol. The yield of this intermediate is proportional to peroxyxynitrite and phenolate concentrations, and it decreases somewhat with increasing carbon dioxide concentration from 2 to 20 mM. The study of pH and phenol concentration dependencies indicates that this intermediate is only formed from phenolate. The maximal yield of 2,2'-biphenol relative to the concentration of the intermediate is *ca.* 65%. At alkaline pH, when phenolate is the limiting reagent, *para*-benzoquinone is a major reaction product.

Summary

Under these conditions, the decay of the intermediate becomes zero-order and independent of the phenol concentration. The zero-order decay is probably due to a fast ($k = (7.7 \pm 0.5) \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ at pH 10.5) reaction between the intermediate and hydroquinone, which, in turn, is formed during the alkaline hydrolysis of a *para*-benzoquinone. At pH > 12 the intermediate decays *via* the reaction with hydroxide ($k \sim 100 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$). The intermediate reacts rapidly with biologically important reductants. The second-order rate constant at pH 7 are $(4.2 \pm 0.1) \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ with ascorbate, $(6.2 \pm 0.1) \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ with dithionite, $(1.15 \pm 0.05) \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ with L-glutathione, $(1.24 \pm 0.07) \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ with L-cysteine, $(3.3 \pm 0.3) \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ with *N*-acetyl-L-cysteine, and $(3.9 \pm 0.5) \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ with hydroquinone. The intermediate is likely to be a two-electron oxidant. As an example, it reacts with dithionite ($\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$), rather than with $\text{SO}_2^{\bullet-}$. Hydroquinone is oxidized to *para*-benzoquinone quantitatively.

Substituted phenols. Phenols bearing electron-withdrawing groups, *e.g.* cyano and nitro, do not form the intermediate. *Para*-substituted phenols do not form intermediates with appreciable absorption above 350 nm. *Diortho*-substituted phenols form two consecutive intermediates with maxima at *ca.* 420 nm and *ca.* 360, these intermediates are likely to give rise to corresponding *para*-quinones at alkaline pH. We suggest that the key intermediate in biphenol and quinone formation might be a *para*-nitrito-substituted cyclohexadienone.

Two pathway of biphenol formation and the reactive intermediates in carbon dioxide catalyzed decay of peroxyxynitrite. We conclude that two reactive pathways operate during the carbon dioxide catalyzed oxidative coupling of phenol by peroxyxynitrite; one that predominates at neutral pH and another at higher pH. We suggest that the first pathway is the commonly accepted one, through the formation of trioxocarbonate($\bullet 1-$) / nitrogen dioxide radical pair that leads to the formation of phenoxy radicals and their subsequent recombination with each other and nitrogen

dioxide at *ortho* and *para* positions. The second pathway is novel and leads to 2-2'-biphenol. This pathway operates through the formation of a diamagnetic intermediate and its consecutive coupling with phenol. This process does not involve any phenoxy radicals, as no 4,4'-biphenol or nitrophenols are formed. The partition between the pathways depends on pH, phenol and carbon dioxide concentrations. Phenolate is the reacting species in the second pathway, therefore, high pH and phenol concentration facilitate the formation of 2,2'-biphenol. Carbon dioxide increases the rate of radical generation and therefore favors the radical pathway and formation of all four isomeric bi- and nitrophenols. The existence of the two different pathways of biphenol formation implies that, apart from the trioxocarbonate(\bullet 1-)/nitrogen dioxide radical pair, another reactive intermediate is formed during the carbon dioxide catalyzed decay of peroxyxynitrite. This intermediate is likely to be the peroxyxynitrite/carbon dioxide adduct, which was previously considered too short-lived to react. Our estimates suggest that its lifetime could be in the millisecond range, which implies that it is a biologically relevant oxidant and subject to scavenging *in vivo*. Our finding of a new non-radical pathway of 2,2'-biphenol formation might be relevant to the mechanism of peroxyxynitrite reactions with phenolic anti-oxidants. For instance, sinapinic acid, which is, in essence, a 2,4,6-substituted phenol, is known to be a particularly efficient inhibitor of a peroxyxynitrite-mediated nitration. In the absence of any substrates, it reacts with peroxyxynitrite to exclusively give mono-lactone – a product of oxidative coupling. We have observed that sinapinic acid gives rise to colored intermediates and thus its oxidative coupling might proceed *via* coupling of initially formed diamagnetic intermediate with another molecule of sinapinic acid, rather than *via* coupling of the two aryloxy radicals, as considered previously.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Mechanismen der durch Kohlendioxid-katalysierten Oxidationen mit Peroxynitrit werden allgemein durch die Bildung des Trioxocarbonat(\bullet 1 $-$) / Stickstoffdioxid Radikalpaars in einer Ausbeute von *ca.* 30% erklärt. Peroxynitrit und Kohlendioxid bilden zuerst ein Addukt, welches aber selbst zu kurzlebig ist, um ein relevantes Oxidans zu sein und sogleich teilweise zum Radikalpaar homolysiert. Bei den durch Kohlendioxid katalysierten Oxidationen von Phenolen mit Peroxynitrit wurden Biphenole und Nitrophenole als einzige Produkte gefunden. Die Bildung dieser Produkte wäre im Einklang mit einem Radikalmechanismus, bei welchem Phenoxyradikale einerseits durch die Reaktion von Trioxocarbonat(\bullet 1 $-$) mit Phenol und Phenolat und andererseits durch die Reaktion von Stickstoffdioxid mit Phenolat gebildet werden.

Die Reaktion von Phenoxyradikalen miteinander führt zu Biphenolen, während die Reaktion von Phenoxyradikalen mit Stickstoffdioxid Nitrophenole liefert. Die Bildung von Biphenolen bei höheren pH-Werten wurde als zusätzlicher Nachweis eines Radikalmechanismus betrachtet.

Wir haben diese Reaktion nochmals untersucht und dabei wichtige Merkmale, welche zuvor übersehen wurden, gefunden.

Produkte. Mit Phenol im Überschuss sind die Ausbeuten an Produkt nicht höher als *ca.* 25% relativ zu Peroxynitrit. Die Produkte, die gefunden werden konnten, sind 2-Nitrophenol, 4-Nitrophenol, 2,2'-Biphenol, 4,4'-Biphenol und das zuvor nicht identifizierte *para*-Benzochinon. Die Abhängigkeiten der Produktausbeuten von der Peroxynitrit-, Kohlendioxid- und Phenolkonzentration sowie vom pH-Wert wurde genauer untersucht. Dabei wurde herausgefunden, dass das Verhältnis der Biphenolenausbeuten vom pH-Wert und der Phenolkonzentration abhängt, das Verhältnis zwischen 2- zu 4-Nitrophenol aber

einen konstanten Wert von *ca.* 1.4 besitzt. Mit grösser werdendem pH-Wert und steigender Phenolkonzentration nehmen die Ausbeuten an 2-Nitrophenol, 4-Nitrophenol und 4,4'-Biphenol ab und jene an 2,2'-Biphenol zu. Die Abhängigkeit der Ausbeute an *para*-Benzochinon ist komplexer und erfordert optimale Phenolatkonzentrationen. Die Ausbeuten sind maximal bei pH 7 und einem Phenol zu Peroxynitrit Verhältnis von *ca.* 3:1 sowie pH 10 und einem Verhältnis von *ca.* 1:10. Eine steigende Kohlendioxidkonzentration unterdrückt die Bildung von 2,2'-Biphenol und favorisiert die Bildung von 2- und 4-Nitrophenol, 4,4'-Biphenol und *para*-Benzochinon.

Biphenole. Mit grösser werdendem pH-Wert und steigender Phenolkonzentration nimmt die Ausbeute an 4,4'-Biphenol ab und jene an 2,2'-Biphenol zu. Also erfolgt die durch Kohlendioxid katalysierte oxidative Kupplung von Phenol durch Peroxynitrit auf zwei verschiedenen Wegen, welche durch das Verhältnis der isomeren 2,2'- zu 4,4'-Biphenole unterschieden werden können. Bei neutralem pH und moderaten Phenolkonzentrationen werden beide Biphenole, wahrscheinlich durch Kopplung zweier Phenoxyradikale, mit beachtlicher Ausbeute gebildet. Nitrophenole werden wahrscheinlich auch auf diese Weise mit einem Trioxocarbonat(\bullet 1-)/Stickstoffdioxid Radikalpaar als Zwischenprodukt gebildet. Bei hohem pH und hohen Phenolkonzentrationen kann als einziges gekoppeltes Produkt nur 2,2'-Biphenol identifiziert werden, welches nicht über ein Phenoxyradikal gebildet wird. Unter Bedingungen, welche die Bildung des 2,2'-Biphenols fördern, kann man sogar ein bisher nicht beschriebenes langlebiges ($t_{1/2} \sim 10$ s bei pH 10 und 1 mM Phenol) diamagnetisches Zwischenprodukt mit einem Absorptionsmaximum bei 400 nm erkennen. Zeitgleich mit dem Zerfall von Peroxynitrit wird dieses Intermediat aus Phenolat gebildet und verschwindet durch Reaktion mit Phenol, wodurch das 2,2'-Biphenol entsteht.

Para-Benzochinon. *Para*-Benzochinon wird in Mengen von bis zu 5% der ursprünglichen Peroxinitritkonzentration gebildet. Unter der Annahme einer maximal 25%igen Ausbeute an Produkten handelt es sich dabei um ein Hauptprodukt der untersuchten Reaktion, welches bisher auf Grund seiner Instabilität in alkalischen wässrigen Lösungen zweifelsohne übersehen wurde. Uns ist es gelungen, die Bildung von *para*-Benzochinon mittels dreier unterschiedlicher Methoden nachzuweisen: HPLC, MS und durch Kinetische Messung, wobei in alkalischen Lösungen das Verschwinden UV-Vis spektroskopisch verfolgt wurde. *Para*-Benzochinon ist das Produkt einer Vierelektronen-Oxidation von Phenol und muss – unter der Voraussetzung, dass Peroxynitrit höchstens ein Zweielektronen Oxidans ist – durch Oxidation eines oder mehrerer ursprünglich gebildeter Vorgänger entstanden sein. Das Auftauchen einer Absorptionsbande oberhalb von 500 nm ist ein Indiz für eine Zwischenstufe, bei welcher es sich um einen 1:1 Charge-Transfer-Komplex zwischen Hydrochinon und Benzochinon handeln könnte. Das bedeutet, dass Hydrochinon sehr wahrscheinlich eine Vorstufe des *para*-Benzochinons ist. Die Abhängigkeit der Ausbeute an *para*-Benzochinon vom pH-Wert und der Phenolkonzentration deutet darauf hin, dass seine Bildung mit jener des 2,2'-Biphenols, welche über einen nicht radikalischen Weg erfolgt, verwandt ist.

Zwischenprodukt. Die Identität des Zwischenprodukts (ein 2,2'-Biphenol und Hydrochinon Vorläufer) ist von grossem Interesse. Auf Grund seiner sehr geringen Ausbeute (*ca.* 20–30 μM) und relativ kurzen Lebenszeit (*ca.* 100 s) war es uns nicht möglich, dieses Zwischenprodukt mit konventionellen Strukturaufklärungsmethoden zu charakterisieren. Wir untersuchten stattdessen die Kinetik seiner Bildung und seines Zerfalls über einen grossen Konzentrations- und pH-Bereich hinweg. Seine Reaktivität studierten wir in sequentiellen Stopped-flow Kinetik Experimenten. Zudem charakterisierten wir das Zwischenprodukt mittels

ESR-Spektrometrie und UV-Vis-Spektrophotometrie. Auf Grund der Absenz eines ESR-Signals muss das Zwischenprodukt diamagnetisch sein. Das UV-Vis-Spektrum des Zwischenprodukts zeigt ein Absorptionsmaximum bei 400 nm mit $\epsilon_{400} = (61 \pm 1) \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ und bleibt unverändert über einen pH-Bereich von mindestens 5 bis 11. Das Zwischenprodukt wird bei alkalischem pH zeitgleich mit dem Zerfall des Peroxynitrits gebildet. Es wird durch Reaktion mit Phenol und/oder Phenolat ($k = (40 \pm 5) \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ bei pH 7.2 und $k = (30 \pm 1) \times 10 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ bei pH 10.6) unter zeitgleicher Bildung des 2,2'-Biphenols abgebaut. Die Ausbeute an Zwischenprodukt ist proportional zur Peroxynitrit- und Phenolat-Konzentration und nimmt mit steigender Kohlendioxidkonzentration von 2 bis 20 mM etwas ab. Die Untersuchungen der Abhängigkeiten der Ausbeute vom pH-Wert und der Phenolkonzentration deuten darauf hin, dass das Zwischenprodukt nur ausgehend von Phenolat gebildet werden kann. Die maximale Ausbeute an 2,2'-Biphenol beträgt über 60% relativ zur Konzentration des Zwischenprodukts. Bei alkalischem pH, mit Phenolat als limitierendem Reagens, ist *para*-Benzochinon das Hauptreaktionsprodukt. Unter diese Bedingungen ist der Zerfall des Zwischenproduktes nullter Ordnung und unabhängig von der Phenolkonzentration. Ein Zerfall nullter Ordnung kommt vermutlich durch eine schnelle Reaktion ($k = (7.7 \pm 0.5) \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ bei pH 10.5) zwischen dem Zwischenprodukt und Hydrochinon zustande. Letzteres wird durch alkalische Hydrolyse des *para*-Benzochinons gebildet. Bei pH > 12 zerfällt das Zwischenprodukt, indem es mit Hydroxid reagiert ($k \sim 100 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$). Das Zwischenprodukt reagiert sehr schnell mit biologisch relevanten Reduktionsmitteln. Die Geschwindigkeitskonstanten zweiter Ordnung sind bei pH 7 $(4.2 \pm 0.1) \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ mit Ascorbat, $(6.2 \pm 0.1) \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ mit Dithionit, $(1.15 \pm 0.05) \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ mit L-Glutathion, $(1.24 \pm 0.07) \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ mit L-Cystein, $(3.3 \pm 0.3) \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ mit *N*-Acetyl-L-Cystein und $(3.9 \pm 0.5) \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ mit Hydrochinon. Sehr wahrscheinlich handelt es sich beim

Zusammenfassung

Zwischenprodukt um ein Zweielektronen-Oxidans. Es reagiert z.B. eher mit Dithionit ($S_2O_4^{2-}$) als mit $SO_2^{\cdot-}$. Hydrochinon wird quantitativ zu *para*-Benzochinon oxidiert.

Substituierte Phenole. Phenole mit elektronenziehenden Substituenten, z.B. Cyano- oder Nitro-Gruppen, bilden das eben beschriebene Zwischenprodukt nicht aus. Die Kinetik der Bildung von Biphenolen oder Chinonen wird durch Substituenten in *ortho*- oder *para*-Position beeinflusst. *Para*-substituierte Phenole bilden Zwischenprodukte mit einem Absorptionsmaximum bei *ca.* 300 nm und Extinktionskoeffizienten, welche *ca.* hundertmal tiefer sind als bei Phenolen mit einer unbesetzten *para*-Position. *Diortho*-substituierte Phenole bilden zuerst Zwischenprodukte mit einem Absorptionsmaximum bei *ca.* 400 nm. Ausgehend von diesen werden weitere Zwischenprodukte mit einem Absorptionsmaximum bei *ca.* 350 nm erhalten, welche ihrerseits zu den entsprechenden *para*-Chinonen zerfallen. Wir vermuten, dass das alles entscheidende Zwischenprodukt der Bildung von Biphenolen und Chinonen ein *para*-Nitrito-substituiertes Cyclohexadienon sein könnte.

Zwei Reaktionswege der Bildung von Biphenol und die dabei auftretenden reaktiven Zwischenprodukte beim Kohlendioxid katalysierten Zerfall von Peroxynitrit. Auf Grund unserer Beobachtungen folgern wir, dass bei der Kohlendioxid-katalysierten oxidativen Kupplung von Phenolen durch Peroxynitrit zwei verschiedene Reaktionswege existieren. Der eine davon dominiert bei neutralen und der andere bei höheren pH-Werten. Der erste Reaktionsweg ist der bereits bekannte und allgemein anerkannte, bei welchem ein Trioxocarbonat($\cdot 1$) / Stickstoffdioxid Radikalpaar als Zwischenprodukt auftritt. Ausgehend von diesem werden Phenoxyradikale gebildet, deren Rekombination miteinander und mit Stickstoffdioxid an *ortho* und *para* Positionen erfolgt. Der zweite Reaktionsweg ist neu und führt zu 2,2'-Biphenol. Dieses entsteht über die

Bildung eines diamagnetischen Zwischenprodukts und dessen anschliessender Kopplung mit Phenol. Da weder 4,4'-Biphenol noch Nitrophenole gebildet werden, treten bei diesem Reaktionsweg keine Phenoxyradikale auf.

Die Produktverteilung und die damit verknüpften Reaktionswege werden durch den pH-Wert sowie durch die Phenol- und Kohlendioxidkonzentrationen gesteuert. Beim zweiten Reaktionsweg ist Phenolat die reagierende Spezies, wodurch ein hoher pH-Wert sowie eine hohe Phenolkonzentration die Bildung von 2,2'-Biphenol erleichtern. Kohlendioxid erhöht die Radikalbildung, woraus ein radikalischer Reaktionsweg resultiert und alle vier isomeren Bi- und Nitrophenole gebildet werden. Die Existenz zweier unterschiedlicher Reaktionswege impliziert, dass neben dem Trioxocarbonat(\bullet 1)/Stickstoffdioxid Radikalpaar noch ein weiteres reaktives Zwischenprodukt während des Kohlendioxid-katalysierten Zerfalls von Peroxynitrit gebildet werden muss. Dieses Zwischenprodukt ist wahrscheinlich das Peroxynitrit/Kohlendioxid Addukt, welches bis anhin als zu kurzlebig betrachtet wurde, um weiterreagieren zu können. Wir schätzen, dass die Lebenszeit im Bereich von Millisekunden liegen könnte, was bedeutet, dass es ein biologisch relevantes Oxidationsmittel ist und *in vivo* als Radikalfänger dient. Unsere Entdeckung eines nicht radikalischen Reaktionswegs der Bildung von 2,2'-Biphenol könnte auch relevant für Reaktionsmechanismen von Peroxynitrit mit phenolischen Antioxidantien sein. So z.B. auch Sinapinsäure, im Wesentlichen ein 2,4,6-substituiertes Phenol, welche als sehr effizienter Hemmer der Nitrierung durch Peroxynitrit bekannt ist. In Abwesenheit eines Substrats reagiert es mit Peroxynitrit ausschliesslich zu mono-Lacton, einem Produkt der oxidativen Kopplung. Wir haben beobachtet, dass Sinapinsäure zu farbigen Zwischenprodukten führt und seine oxidative Kopplung somit über die Kopplung eines ursprünglich gebildeten diamagnetischen Zwischenprodukts mit einem

Zusammenfassung

anderen Sinapinsäure-Molekül verläuft, und nicht wie ursprünglich angenommen wurde, über die Kopplung zweier Aryloxyradikale.