

И. В. Лагута

## Антиоксидантные свойства синтетических гидроксифлавонов и их комплексов с цинком

(Представлено академиком НАН Украины Н. Т. Картелем)

*Изучены антиоксидантные свойства синтетических гидроксифлавонов и их комплексов с цинком. Установлено, что гидроксифлавоны и их комплексы проявляют сравнимую антирадикальную активность по отношению к стабильному свободному радикалу дифенилпикрилгидразилу и восстанавливающую способность в реакции Фолина-Чоколтеу. Показано, что металлокомплексы могут быть адсорбированы на поверхности высокодисперсного кремнезема. Катионы железа вытесняют цинк из его комплексов с гидроксифлавонами, и, как следствие, происходит хелатирование металла-прооксиданта.*

Создание новых эффективных композиций на основе природных или синтетических антиоксидантов (АО) и дисперсного носителя является одним из перспективных направлений исследований в медицине, косметологии, ветеринарии. Имобилизация антиоксидантов на твердой поверхности может увеличить их биодоступность и стабильность при хранении, обеспечить пролонгированное высвобождение активного вещества [1]. Возможным вариантом таких композитов является высокодисперсный кремнезем с адсорбированными АО. К сожалению, многие эффективные АО фенольного типа, в частности флавонолы, в физиологических условиях представляют собой преимущественно незаряженные молекулы и плохо адсорбируются на поверхности кремнезема. Вызывает интерес идея адсорбции антиоксиданта на поверхности кремнезема в виде его комплекса с биоактивным металлом, например цинком. Предполагается, что при попадании таких композитов в водную среду комплекс будет десорбироваться с поверхности кремнезема и частично диссоциировать, так что АО сможет проявить свою активность в реакциях ингибирования радикалов. Другим аспектом проявления антиоксидантных свойств десорбированного вещества может стать хелатирование АО промоторов окислительных процессов — катионов железа. Согласно литературным данным [2], константа комплексообразования для системы АО-Fe выше, чем в случае АО-Zn, поэтому можно ожидать, что железо будет вытеснять цинк из его комплекса с флавонолом. Выделение в среду цинка также будет иметь дополнительный положительный эффект, так как цинк входит в состав более 300 ферментов и гормонов, обладает антиоксидантными свойствами, улучшает действие других АО, повышает защитные функции организма и является компонентом многих лекарственных, витаминных, косметических композиций.

В работе использовали ацетат цинка ( $Zn(CH_3COO)_2$ ), хлорид железа (III) ( $FeCl_3$ ), синтетический АО 3-гидроксифлавоны (HF) и его производные, содержащие в боковом фенольном фрагменте заместители с разными электронодонорными свойствами: 4'-(N,N-диметиламино)гидроксифлавоны (HF1), 4'-[N,N-ди(2-гидроксиэтиламино)]гидроксифлавоны (HF2) и 3',4'-ди(гидроксикарбонилметокси)гидроксифлавоны (HF3).

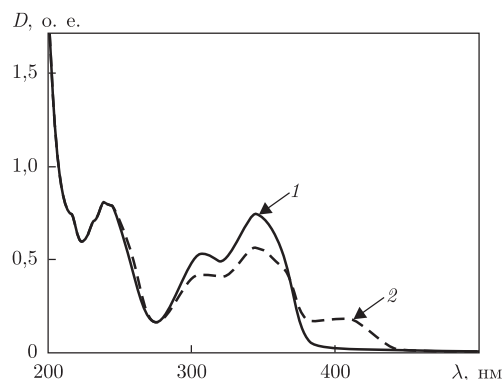
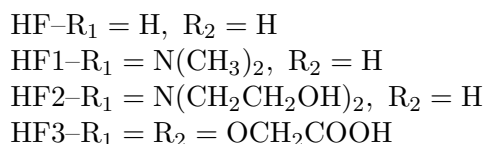
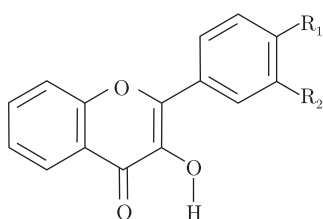


Рис. 1. УФ-спектры 3-гидроксифлавона в отсутствие (1) и в присутствии (2)  $Zn^{2+}$

Структурная формула HF и его производные следующая:



Для установления стехиометрии комплекса антиоксидант–металл использовали метод изомольярных серий [3]. Готовили 0,5 ммоль/л растворы ацетата цинка и антиоксидантов в 70%-м этаноле. Растворы компонентов смешивали в объемных соотношениях от 1 : 9 до 9 : 1. Об образовании комплексов антиоксидант–металл судили по изменению окраски растворов и по изменениям в УФ-спектрах.

Антиоксидантную активность синтетических АО и их металлокомплексов определяли, используя метод Фолина–Чоколтеу и DPPH•-тест. Для установления общего фенольного индекса [4] к 1 мл раствора исследуемого АО или комплекса антиоксидант–металл последовательно добавляли 11,5 мл воды, 5 мл 20%-го раствора карбоната натрия, 1,25 мл реактива Фолина–Чоколтеу и 6,25 мл воды. Раствор перемешивали в течение получаса, измеряли поглощение при 750 нм и рассчитывали общий фенольный индекс [4]. Для определения антирадикальной активности соединений использовали реакцию со стабильным свободным радикалом дифенилпикрилгидразилом (DPPH•) [5]. К раствору исследуемого вещества добавляли раствор DPPH•. Концентрацию стабильных радикалов через различные промежутки времени после начала реакции определяли спектрофотометрическим методом по изменению оптической плотности в максимуме поглощения 520 нм. Для контроля использовали раствор с той же концентрацией DPPH•, но без АО.

Спектры антиоксиданта HF в растворе этанола в отсутствие и в присутствии соли цинка иллюстрирует рис. 1. Характерной полосой в УФ-спектре раствора HF в этаноле является полоса поглощения при 340 нм (полоса I) (см. спектр 1) [6], присутствие электронодонорных заместителей ( $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ,  $-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})_2$ ) в параположении бокового ядра вызывало батохромное смещение полосы I на 60 нм [7]. Для всех исследуемых АО после добавления к ним  $Zn(\text{CH}_3\text{COO})_2$  наблюдали батохромное смещение полосы I и появление новой полосы в диапазоне между 400 и 470 нм (см. спектр 2), что свидетельствовало об образовании комплекса антиоксидант–металл.

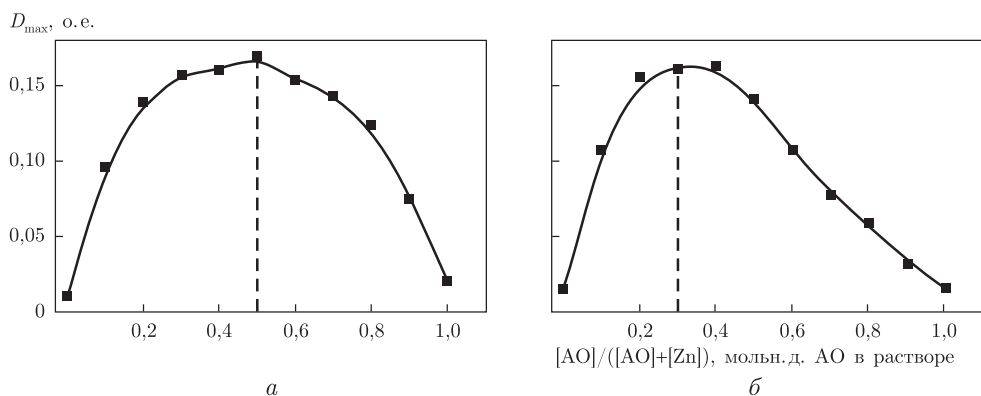


Рис. 2. Зависимость выхода комплексов HF–Zn<sup>2+</sup> (а) и HF3–Zn<sup>2+</sup> (б) от состава раствора в изомолярной серии

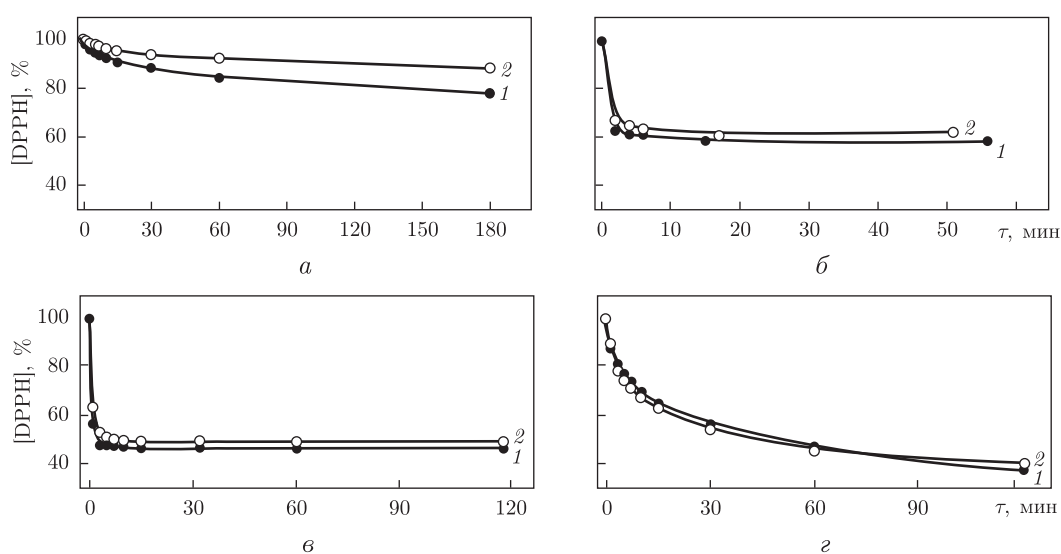


Рис. 3. Кинетические кривые гибели радикала DPPH<sup>•</sup> при взаимодействии с АО (1) HF (а), HF1 (б), HF2 (в), HF3 (г) и с комплексами антиоксидант–металл (2). Мольное соотношение [АО]/[Zn<sup>2+</sup>] = 1, [АО]/[DPPH<sup>•</sup>] = 1

Результаты изучения структуры комплексов методом изомолярных серий (рис. 2) показывают, что HF, HF1, HF2 образуют с цинком преимущественно комплексы со структурой 1 : 1 (см. а на рис. 2); для HF3 характерен состав комплекса 1 : 2 (см. б). Образование комплекса состава HF3 : Zn<sup>2+</sup> = 1 : 2 может свидетельствовать о присутствии в молекуле HF3 дополнительных центров связывания металла — карбоксильных групп боковых заместителей фенильного фрагмента.

Данные об изменении концентрации стабильного свободного радикала DPPH<sup>•</sup> при его взаимодействии с антиоксидантами HF, HF1, HF2, HF3 и их комплексами с цинком демонстрирует рис. 3. Полученные данные не обнаруживают значительных различий в кинетике гибели радикалов в системах, содержащих индивидуальный АО или его комплекс с цинком; некоторое замедление реакции при взаимодействии радикала с комплексом обусловлено, очевидно, тем, что часть молекул АО в этом случае находится в “связанном” состоянии. Таким образом, при введении гидроксифлавонов в реакцию систему в виде комплекса

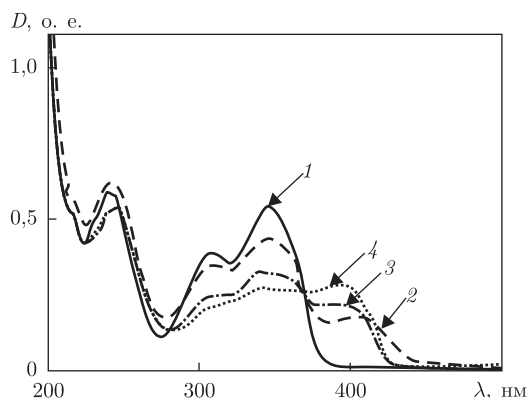


Рис. 4. УФ-спектры раствора HF (1), системы HF-Zn<sup>2+</sup> (2) и HF-Zn<sup>2+</sup>-Fe<sup>3+</sup> (3, 4). Соотношение [HF]/[Zn<sup>2+</sup>] = 1, [HF]/[Fe<sup>3+</sup>] = 0,5 (3) и 0,8 (4)

(АО-Zn)<sup>+</sup>, их антиоксидантные свойства почти не изменяются. Результаты, полученные с использованием метода Фолина-Чоколтеу также показывают, что значения общего фенольного индекса растворов антиоксидантов и их комплексов с цинком практически совпадают (концентрация АО в растворах 0,5 ммоль/л; их количество в пробе 0,5 мкмоль): HF 0,9; HF-Zn<sup>2+</sup> 1,0; HF1 2,0; HF1-Zn<sup>2+</sup> 2,0; HF2 2,0; HF2-Zn<sup>2+</sup> 2,1; HF3 2,1; HF3-Zn<sup>2+</sup> 2,0.

В физиологических условиях (рН 7,4) гидроксифлавоны находятся преимущественно в форме недиссоциированных и, следовательно, незаряженных молекул [8] и не должны адсорбироваться на поверхности кремнезема. Комплекс гидроксифлавона с катионом цинка (АО-Zn)<sup>+</sup> имеет положительный заряд и может адсорбироваться на диссоциированных силанольных группах кремнезема. Действительно, при взаимодействии кремнезема с раствором, содержащим комплекс HF-Zn<sup>2+</sup>, была зафиксирована адсорбция ~10 мкмоль вещества/1 г адсорбента, в то время как из индивидуального раствора АО не адсорбировался.

После того, как кремнезем с адсорбированным на поверхности комплексом (АО-Zn)<sup>+</sup> помещали в воду, наблюдали антиоксидантную активность раствора в тестовой реакции с реактивом Фолина-Чоколтеу, т. е. десорбированный АО сохранял свою восстанавливающую способность. Возможность замещения цинка железом и, следовательно, дополнительного антиоксидантного эффекта гидроксифлавона за счет связывания металла-прооксиданта подтверждается данными, представленными на рис. 4. Как видно из приведенных спектров на рисунке, добавление к раствору комплекса HF-Zn<sup>2+</sup> (спектр 2) катионов железа уже при соотношении [HF]/[Fe(III)] = 0,5 приводит к исчезновению полосы 403 нм, соответствующей комплексу HF-Zn<sup>2+</sup>, и к появлению новой полосы 394 нм, обусловленной образованием комплекса HF-Fe<sup>3+</sup> (спектр 3).

Таким образом, полученные данные показывают, что изученные антиоксиданты HF и его производные образуют с цинком комплексы со структурой 1 : 1 и 1 : 2, которые могут быть адсорбированы на диссоциированных силанольных группах поверхности кремнезема. Включение гидроксифлавонов в комплекс с цинком не приводит к потере их антирадикальной способности в реакции с дифенилпикрилгидразилом и к уменьшению общего фенольного индекса АО. Катионы железа вытесняют цинк из его комплекса с гидроксифлавоном, в результате чего происходит хелатирование металла-прооксиданта.

*Автор выражает благодарность профессору В. Г. Пивоваренко за предоставленные для исследований образцы гидроксифлавонов.*

1. *Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния* / Под ред. А. А. Чуйко. – Киев: Наук. думка, 2003. – 415 с.
2. *Malešev D., Kunti V.* Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions // *J. Serb. Chem. Soc.* – 2007. – **72**, No 10. – P. 921–939.
3. *Вдовенко В. М.* Спектроскопические методы в химии комплексных соединений. – Москва: Химия, 1964. – 268 с.
4. *Alonso A. M., Domianguéz C., Guilleán D., Barroso C. G.* Determination of Antioxidant Power of Red and White Wines by a New Electrochemical Method and Its Correlation with Polyphenolic Content // *J. Agric. Food Chem.* – 2002. – **50**. – P. 3112–3115.
5. *Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C.* Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity // *Lebensm. – Wiss. u. – Technol.* – 1995. – **28**. – P. 25–30.
6. *Cornard J. P., Merlin J. C.* Comparison of the chelating power of hydroxyflavones // *J. Molecular Struct.* – 2003. – **651** – **653**. – P. 381–387.
7. *Fesenko T. V., Laguta I. V., Kuzema P. O., Stavinskaya O. M.* Laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometric analysis of some synthetic flavonoids and their complexes with Zn and Fe // *J. Mat. Sci. (Lithua. vers.)*. – 2010. – **16**, No 3. – P. 272–277.
8. *Roshal A. D., Grigorovich A. V., Doroshenko A. O. et al.* Flavonols as metal-ions chelators: complex formation with  $Mg^{2+}$  and  $Ba^{2+}$  cations in the excited state // *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry*. – 1999. – **127**. – P. 89–100.

*Институт химии поверхности  
им. А. А. Чуйко НАН Украины, Киев*

*Поступило в редакцию 23.05.2012*

**І. В. Лагута**

### **Антиоксидантні властивості синтетичних гідроксифлавонів та їх комплексів із цинком**

*Вивчено антиоксидантні властивості синтетичних гідроксифлавонів та їх комплексів з цинком. Встановлено, що гідроксифлавони та їх комплекси проявляють порівняльну антирадикальну активність відносно стабільного вільного радикала дифенілпікрілгідразилу та відновлювальну здатність у реакції Фоліна–Чоколтеу. Показано, що металокомплекси можуть бути адсорбовані на поверхні високодисперсного кремнезему. Катіони заліза замінюють цинк з його комплексів з гідроксифлавонами, внаслідок чого відбувається хелатування металу–прооксиданту.*

**I. V. Laguta**

### **Antioxidant properties of synthetic hydroxyflavones and their complexes with zinc**

*Antioxidant properties of synthetic hydroxyflavones and their complexes with zinc have been studied. The hydroxyflavones and hydroxyflavones-zinc complexes are found to possess practically the same free radical scavenging activity and reducing power in the Folin-Ciocalteu reaction. The results demonstrate that hydroxyflavone-zinc complexes can be adsorbed on a highly dispersed silica surface. It is found that ferric cations displace zinc in hydroxyflavone-zinc complexes, and the binding of metal-prooxidant by hydroxyflavones occurs.*