

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФЛАВОНОЛА

И.В. Лагута¹, О.Н. Ставинская¹, Ю.А. Кайдалова², Т.И. Ющенко²,
О.А. Казакова¹, В.Г. Пивоваренко³

¹Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины
ул. Генерала Наумова 17, 03164 Киев-164

²Кафедра фармацевтической химии Винницкого национального медицинского
университета им. Н.И. Пирогова, ул. Пирогова 56, 21018 Винница

³Кафедра органической химии Киевского национального университета
имени Тараса Шевченко, ул. Владимирская 64, 01033 Киев-33

В тестовых реакциях (метод Фолина – Чоколтеу, DPPH[•]-тест) изучены антиоксидантные свойства новых синтезированных соединений – производных флавонола.

Введение

Флавонолы (3-гидроксифлавоны) – хорошо известный класс природных антиоксидантов (АО), проявляющих также Р-витаминное и гепатопротекторное действие. Недостатком большинства природных АО, ограничивающим их использование в фармакологии, является дороговизна их получения. Поэтому в центре внимания исследователей в различных областях химии, экспериментальной биологии и биомедицины находится поиск синтетических аналогов природных АО – более дешевых, но обладающих похожими свойствами препаратов. В настоящем сообщении представлены результаты сравнительного изучения антиоксидантных свойств синтезированных соединений (производных 3-гидроксифлавонов) и известных антиоксидантов (кверцетина, рутина и аскорбиновой кислоты). Производные флавонола представляются перспективными соединениями для получения комплексных антиоксидантных препаратов на основе высокодисперсного кремнезема.

Экспериментальная часть

Синтез производных 3-гидроксифлавонов проводили путем щелочной конденсации о-гидроксиацетофенона с соответствующими арилальдегидами и дальнейшей окислительной циклизации продуктов в целевые соединения [1]. Структура (схема 1) и индивидуальность синтезированных соединений подтверждены данными ¹H-ЯМР-спектроскопии и хроматомасс-спектрометрии [1].

Для характеристики антиоксидантных свойств известных и синтезированных АО использовали методы Фолина – Чоколтеу и DPPH[•]-тест. Для определения общего фенольного индекса [2] к 1 мл раствора АО в 70 %-ном растворе этанола последовательно добавляли 11,5 мл воды, 5 мл 20 %-ного раствора карбоната натрия, 1,25 мл реактива Фолина – Чоколтеу и 6,25 мл воды, так что суммарный объем раствора составлял 25 мл. Раствор перемешивали в 0,5 ч, измеряли поглощение при 750 нм и рассчитывали общий фенольный индекс [2]. Для определения антирадикальной активности соединений использовали реакцию со стабильным свободным радикалом дифенилпикрилгидразилом (DPPH[•]) [3]. К раствору исследуемого вещества в 70 %-ном этаноле добавляли раствор дифенилпикрилгидразила, соотношение [АО]/[DPPH[•]] изменялось в пределах 0,1 – 10,0. Концентрацию стабильных радикалов через различные промежутки времени после начала реакции определяли спектрофотометрически по

изменению оптической плотности в максимуме поглощения 520 нм. Для контроля использовали раствор с той же концентрацией DPPH[•], но без антиоксиданта.

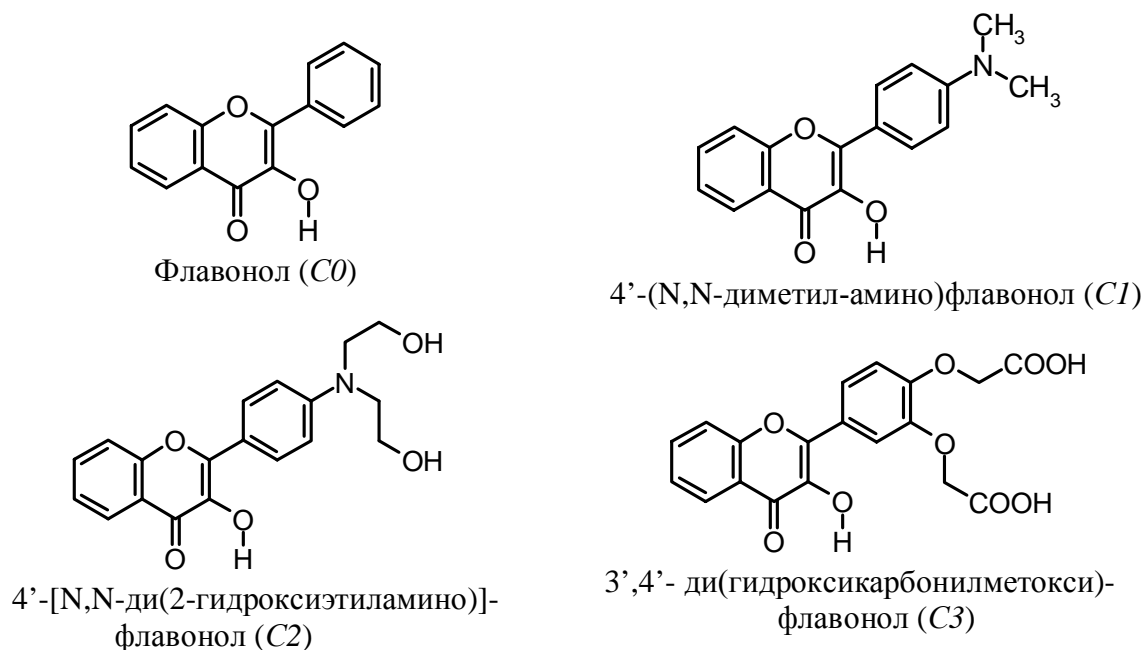


Схема 1. Структурные формулы синтезированных соединений.

Энергию отрыва радикала водорода оценивали по разности свободных энергий молекулы антиоксиданта и радикала, образующегося в результате отрыва атома водорода, с учетом эффектов сольватации в сольватационной модели IEFPCM методом DFT/B3LYP/6-31G(d,p) с геометрией, рассчитанной методом Хартри-Фока (базис 6-31G(d,p), программный пакет GAMESS [4]).

Результаты и обсуждение

В табл. 1 приведены значения общего фенольного индекса для известных и синтезированных антиоксидантов. Как видно из полученных данных, антиоксидантная способность 4'-(N,N-диметил-амино)флавонола (C1), 4'-[N,N-ди(2-гидроксиэтиламино)]-флавонола (C2) и 3',4'-ди(гидроксикарбонилметокси)-флавонола (C3) меньше, чем у рутина и кверцетина, и близка к восстановительной способности аскорбиновой кислоты (АК).

Таблица 1. Общий фенольный индекс природных и синтезированных антиоксидантов

Образец	Количество АО в пробе, мкмоль	Общий фенольный индекс
Аскорбиновая кислота	1	2,0
Рутин	1	3,0
Кверцетин	1	3,0
C1	1	2,4
C2	1	2,4
C3	1	2,2

Согласно литературным данным действие антиоксидантов связано с их способностью отдавать радикал водорода, поэтому антиоксидантные свойства веществ зависят от количества групп – доноров водорода и энергии отрыва атома водорода [5 – 7].

Донорами водорода в молекуле аскорбиновой кислоты служат две энольные группы; в исследуемых соединениях в роли группы, отдающей водород, может выступать ОН-группа в 3-м положении флавонового ядра. В табл. 2 приведены результаты квантово-химических расчетов энергии отрыва атома водорода для энольной группы аскорбиновой кислоты (при 3-С атоме лактонового кольца) и для гидроксильных групп соединений *C0* – *C3*. Результаты расчетов дают близкие значения ΔG для аскорбиновой кислоты и соединений *C1*, *C2* и коррелируют с экспериментальными данными (табл. 1).

Таблица 2. Энергия отрыва атома водорода от ОН-групп молекул антиоксидантов (DFT/B3LYP/6-31G(d,p))

Антиоксидант	ΔG , кДж/моль
Аскорбиновая кислота	1694
<i>C0</i>	1712
<i>C1</i>	1695
<i>C2</i>	1698
<i>C3</i>	1710

ΔG -разность свободных энергий антиоксиданта в молекулярной (АОН) и радикальной (АО \cdot) формах

На рис. 1 приведены кинетические кривые гибели радикалов DPPH \cdot в реакциях с контрольными и синтезированными АО. Как видно из рис., активность антиоксидантов *C0* и *C3* сравнительно невелика. Соединения *C1*, *C2* демонстрируют быструю кинетику восстановления радикалов, характерную для аскорбиновой кислоты [3], при этом скорость реакции DPPH \cdot с антиоксидантами *C1* и *C2* превышает скорость реакции радикала с рутином и кверцетином.

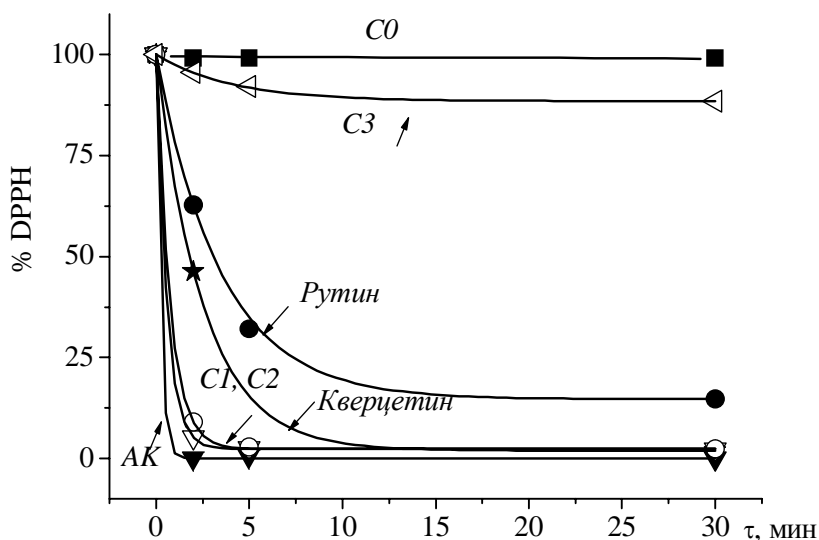


Рис. 1. Кинетические кривые гибели радикала DPPH \cdot в реакциях с антиоксидантами $[AO]/[DPPH\cdot] = 1$.

В соответствии с методикой определения антиоксидантной активности, описанной в работе [3], мы провели исследование кинетики реакции антиоксидантов *C2* и *C1* с радикалами DPPH \cdot при различном мольном соотношении $[AO]/[DPPH\cdot]$. Примеры кинетических кривых, приведенные на рис. 2, а, показывают, что для всех исследованных

концентраций через 3 – 5 мин реакция достигает стационарного состояния. На рис. 2, б приведены данные об остаточной концентрации радикалов в равновесном состоянии в зависимости от соотношения $[AO]/[DPPH^{\bullet}]$. Из полученной зависимости можно определить соотношение $[AO]/[DPPH^{\bullet}]_{50}$, при котором достигается восстановление 50 % исходного количества $DPPH^{\bullet}$. В соответствии с [3], удвоенная величина $[AO]/[DPPH^{\bullet}]_{50}$ дает теоретическую эффективную концентрацию антиоксиданта, необходимую для восстановления 100 % радикалов, а величина, обратная этой концентрации, определяет стехиометрию реакции. Для исследованных веществ *C1*, *C2* величина $[AO]/[DPPH^{\bullet}]_{50}$ составила около 0,25 (рис. 2, б); соответственно, количество восстановленных молекул $DPPH^{\bullet}$, приходящееся на 1 молекулу АО, примерно равно 2.

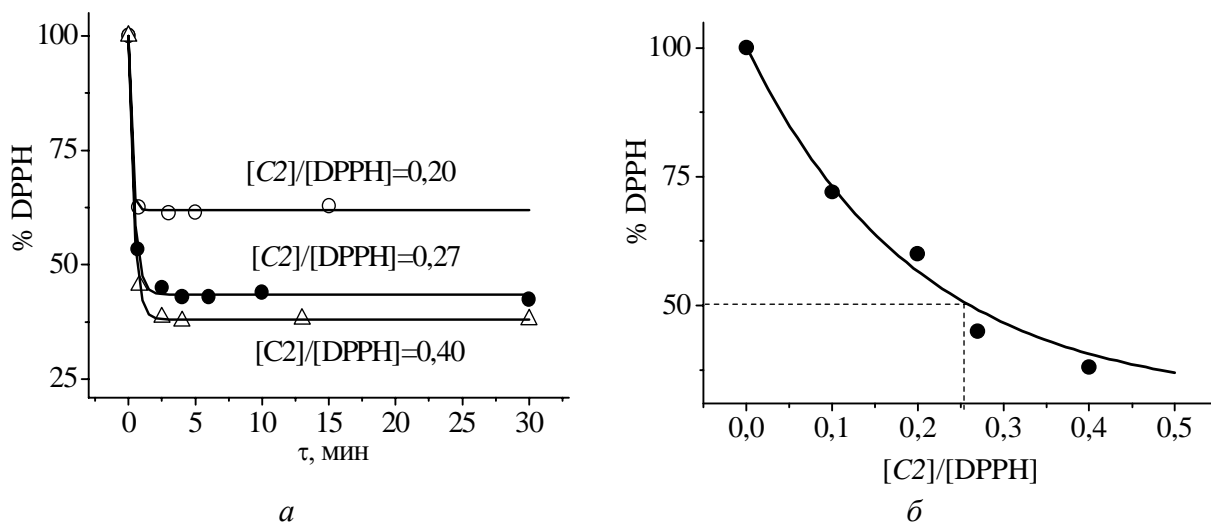


Рис. 2. Кинетические кривые реакции антиоксиданта *C2* с $DPPH^{\bullet}$ (*a*) и доля непрореагировавших радикалов (*б*) для различных мольных соотношений $[AO]/[DPPH^{\bullet}]$.

Наблюдаемая стехиометрия реакции антиоксидантов *C1* и *C2* с $DPPH^{\bullet}$ указывает на то, что образующийся после отрыва водорода радикал молекулы-антиоксиданта (или продукт его последующих превращений) восстанавливает еще одну молекулу $DPPH^{\bullet}$. Согласно литературным данным аналогичная ситуация имеет место, например, для витамина Е: в реакции с пероксидными радикалами *in vitro* одна молекула α -токоферола может восстанавливать две молекулы ROO^{\bullet} [7]. В случае соединений *C1* и *C2* диалкиламиногруппа бокового ядра, являясь сильным донором электронов, повышает восстановительный потенциал как самой молекулы, так и образующегося из нее радикала, вследствие чего последний также приобретает способность к восстановлению радикала $DPPH^{\bullet}$.

Согласно [3] стехиометрия восстановления $DPPH^{\bullet}$ аскорбиновой кислотой такая же, как для *C1* и *C2* (2:1). Таким образом, в тестовых реакциях с реактивом Фолина – Чоколтеу и со стабильным радикалом $DPPH^{\bullet}$ синтезированные соединения *C1*, *C2* проявляют антиоксидантные свойства, близкие к свойствам аскорбиновой кислоты. Полученные результаты, а также стабильность синтезированных вещества в отличие от АК при хранении в растворенном виде, указывают на перспективность их дальнейшего изучения этих соединений как потенциальных антиоксидантов технического или биологического назначения. Возможные механизмы действия синтезированных АО, их токсичность и другие свойства, определяющие область применения препаратов, будут предметом дальнейшего исследования.

Выводы

Показано, что синтезированные соединения – производные флавонола обладают антиоксидантной способностью, сопоставимой со свойствами аскорбиновой кислоты, рутина и кверцетина. Антиоксидантная активность 4'-*(N,N*-диметил-амино)флавонола и 4'-*[N,N*-ди(2-гидроксиэтиламино)]-флавонола в реакциях со стабильным радикалом дифенилпикрилгидразилом превышает активность рутина и кверцетина и близка к активности аскорбиновой кислоты.

Литература

1. 3-Hydroxy-4-[di-(2-hydroxyethyl)amino]flavone as a new step in search of an ideal membrane ratiometric fluorescent probe / G.M. Baye, O.V. Martyloga, G. Duportail, V.G. Pivovarenko // *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* – 2006. – V. 184. – P. 113 – 124.
2. Determination of antioxidant power of red and white wines by a new electrochemical method and its correlation with polyphenolic content / A.M. Alonso, C. Domianguéz, D. Guilleán, C.G. Barroso // *J. Agric. Food Chem.* – 2002. – V. 50. – P. 3112 – 3115.
3. Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity // *Lebensm.-Wiss.-Technol.* – 1995. – V. 28. – P. 25 – 30.
4. The general atomic and molecular electronic structure system / M.W. Schmidt, K.K. Baldrige, J.A. Boatz et al. // *J. Comput. Chem.* – 1993. – V. 14. – P. 1347 – 1363.
5. Food antioxidants: technological, toxicological and health perspectives / Ed. D.L. Madhavi, S.S. Deshpande, D.K. Salunhe – N.Y. CRC Press, 1996. – P. 512.
6. Bekker E.M., Nissen L.R., Skibsted L.H. Antioxidant evaluation protocols: food quality or health effects // *Eur. Food Res. Technol.* – 2004. – V. 219. – P. 561 – 571.
7. Свободные радикалы в биологии / Под ред. Н.М. Эммануэля. – М.: Мир, 1979. Т. 1. – 318 с.

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF SOME FLAVONOL DERIVATIVES

**I.V. Laguta¹, O.N. Stavinskaya¹, Yu.O. Kaydalova², T.I. Yushchenko²,
O.A. Kazakova¹, V.G. Pivovarenko³**

¹ *Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
General Naumov Str. 17, 03164 Kyiv-164*

² *Pharmaceutical Chemistry Chair, Vinnitsa N.I. Pirogov National Medical University,
Pirogov Str. 56, 21018 Vinnitsa*

³ *Department of Chemistry, Organic Chemistry Chair, Kyiv Taras Shevchenko National
University, Volodymyrska Str. 64, 01033 Kyiv-33*

Antioxidant properties of new synthesized compounds - flavonol derivatives have been studied using the Folin-Chiocalteu and free radical methods.