

槲皮素铋的合成及其生物活性研究

翟广玉^{1,2}, 渠文涛², 马海英¹, 韩冰¹, 樊卫华^{1*}¹郑州大学护理学院; ²郑州大学药学院, 郑州 450052

摘要: 本文介绍了槲皮素铋的合成方法, 并通过紫外光谱、红外光谱、核磁氢谱、同步热分析进行了表征。氢谱显示铋离子在 3'-OH 位置与槲皮素配位, 同步热分析确证了这个结果。通过 DPPH 法测定了槲皮素铋清除自由基的能力, 结果显示, 槲皮素铋清除 DPPH 自由基的能力弱于槲皮素。

关键词: 槲皮素; 槲皮素铋; 合成; 结构表征; 自由基

中图分类号: R914.5

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.05.028

Synthesis, Characterization and Biological Activity of Quercetin-Bismuth Complexes

ZHAI Guang-yu^{1,2}, QU Wen-tao², MA Hai-ying¹, HAN Bing¹, FAN Wei-hua^{1*}¹School of Nursing; ²School of Pharmacy, Zhengzhou University, Henan Zhengzhou 450052, China

Abstract: This paper introduced the synthesis method of quercetin-bismuth complexes. The composition of the synthesized complexes was characterized by UV-visible, IR, ¹H NMR spectroscopies and synchronous thermal analysis techniques. ¹H-NMR spectrum displayed quercetin chelated with bismuth ions at 3'-OH position. This result was confirmed by simultaneous thermal analysis. The antioxidants activity of the complexes was evaluated using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). It was shown that DPPH radical scavenging activity of free quercetin was decreased after chelation of bismuth cation.

Key words: quercetin; quercetin bismuth complexes; synthesis; characterization; free radicals

铋是人和生物体非必需的微量元素。铋及其化合物在医药上广泛应用, 临床上主要治疗各种微生物感染, 包括梅毒、腹泻、胃炎和结肠炎等^[1]。现在人们又发现铋及其化合物可以抑制癌细胞生长, 具有抗癌活性, 起辅助抗癌的作用^[2]。

槲皮素(quercetin, 图1)属于黄酮类, 含有酚类结构的天然化合物, 广泛存在于水果(苹果、草莓)、蔬菜(洋葱、蕃茄)、饮料(茶叶、咖啡、红酒)中^[3], 它显示出多方面的生物活性, 是天然的抗氧化剂, 特别是具有清除体内自由基的性能, 保护细胞氧化造成的损伤, 能够调整细胞内信号, 促进细胞的存活^[5], 还具有抗炎^[4]、抗病毒^[5]、降血压^[6]、预防心脑血管疾病^[7]、防癌抗癌作用^[8]。

槲皮素对金属离子具有强烈的螯合作用, 可生成稳定的环状配合物。研究发现, 槲皮素与不同金属离子形成配合物, 其生物活性得到了不同程度的

改善。Ferrer EG 等^[9]合成了槲皮素铋配合物, 研究发现槲皮素铋可以刺激 I 型骨生长, 对磷酸酯酶有抑制作用, 可促进骨细胞的分裂、增殖, 具有抗骨癌的作用。Zhou J 等^[10]合成了槲皮素铜, 研究表明槲皮素铜能够插入 DNA 的碱基对中, 从而影响 DNA 分子的构型, 抑制了 DNA 分子的进一步复制与转录, 最终达到抗癌效果。Tabassum S 等^[11]合成了槲皮素-Cu^{II}-Sn^{IV}配合物, 可改变 DNA 单链和双螺旋结构的空空间结构, 可以激活 SOD 酶活性, 清除活性氧, 具有显著的抗癌活性。近年来, 对槲皮素金属配合物的研究逐年增多, 这对槲皮素的开发利用及寻找新药开辟了新的途径^[12]。这提示经常食用一些含有槲皮素的黄酮类的食物, 如苹果、洋葱、茶叶、银

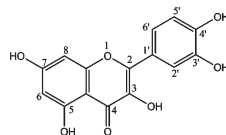


图1 槲皮素的结构

Fig. 1 Chemical structure of quercetin

杏、荞麦等,可清除体内的自由基,使机体免受自由基的损伤,对降低人体内重金属离子的含量起着重要的作用。本文介绍了合成槲皮素铋的方法,并对其结构进行了表征,研究了清除自由基的能力。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

槲皮素(自制),氯化铋(分析纯),其他试剂均为分析纯。

FTS-3000 型红外光谱仪(KBr 压片);德国耐驰(Netzsch) STA 409 PC/PG 差热分析仪;UV-240 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司);400 MHz 核磁共振仪(Bruker);RE-52AA 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)。

1.2 槲皮素铋的制备

将文献^[13]方法适当改进,在三颈烧瓶中,取 1 mmol(302 mg)槲皮素,加入 25 mL 甲醇,搅拌使完全溶解,加入甲醇钠调 pH = 8.5。加入预先溶于 25 mL 甲醇中的 1 mmol(315.34 mg)无水氯化铋溶液。在可加热的磁力搅拌器上加热回流 6 h。用硅胶 G 板监控反应进程,待反应完成时停止回流。过滤,滤液在旋转蒸发器上蒸干,得棕黄色固体,用甲醇冲洗三次,真空干燥器中干燥,得深棕黄色固体。

槲皮素铋为深棕黄色粉末,溶于甲醇、乙醇、DMSO,微溶于丙酮,乙酸乙酯,不溶于苯和甲苯。

1.3 清除自由基实验

溶液的配制: 1×10^{-4} mol/L 的 DPPH 溶液的配制:精密称取 10 mg DPPH,置于 250 mL 容量瓶中,加入少量无水乙醇,待溶解后再用无水乙醇定容至刻度,混匀,避光,置于冰箱保存。供试液的配制:精密称取各样品适量,以乙醇为溶剂,分别配制 100、80、60、40、20 mg/L 的待测溶液。精确吸取不同浓度的样品溶液 1 mL,分别与 3 mL 1×10^{-4} mol/L 的 DPPH 溶液混合,避光放置 30 min,在 517 nm 处测吸光度 A_y 。以相应溶剂代替样品作为空白对照,吸光度为 A_s ,相应样品溶液的吸光度为 A_0 。DPPH 自由基清除活性按下式计算:

$$\text{DPPH 清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_y - A_0}{A_s}\right) \times 100\%$$

式中, A_y 为 1 mL 样品溶液与 3 mL DPPH 溶液混匀后的吸光度值; A_s 为 1 mL 乙醇溶液与 3 mL DPPH 溶液混匀后的吸光度值; A_0 为 1 mL 样品溶液与 3 mL 乙醇溶液混匀后的吸光度值;参考文献^[13]

计算自由基半数清除率。

2 结果与讨论

2.1 紫外光谱分析

槲皮素在 258 nm 和 360 nm 有两个吸收峰,分别属于 $n \rightarrow \pi^*$ (A 环) 电子跃迁和 $\pi \rightarrow \pi^*$ (B 环) 电子跃迁,分别对应两个生色团组成:258 nm 吸收带由苯甲酰生色团产生,为带 II;360 nm 吸收带由肉桂酰生色团产生,为带 I。

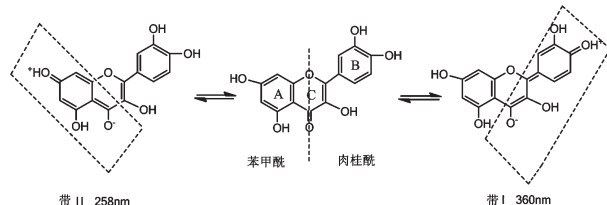


图2 槲皮素的结构及其紫外光谱特征

Fig. 2 Structure and UV-Visible absorption characteristics of quercetin

槲皮素铋的 UV 吸收带 II 由 258 nm 红移至 265 nm,红移 7 nm;带 I 由 360 nm 红移至 465 nm,红移 95 nm(图 2、3)。这是由于形成配合物后,共轭体系增大,能量降低,最大吸收向长波方向移动引起的。带 I 红移远远大于带 II,这说明 Bi^{3+} 是在带 I 区域内与槲皮素配位形成配合物的。

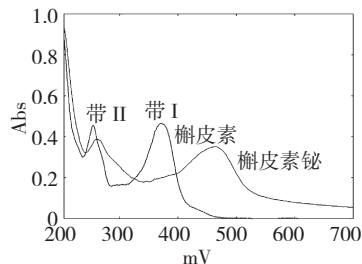


图3 槲皮素和槲皮素铋的紫外光谱重叠图

Fig. 3 UV-Visible spectra of quercetin and quercetin-Bi complexes

2.2 红外光谱分析

槲皮素分子主要官能团红外吸收归属: $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 1663.10 cm^{-1} ; 苯环骨架振动频率 $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ 1610.89 cm^{-1} , 1449.49 cm^{-1} ; $\delta_{\text{C}-\text{OH}}$ 1382.03 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C}-\text{O}(\text{酚})}$ 1319.41 cm^{-1} ; $\nu_{-\text{OH}}$ 3408.74 cm^{-1} 。

槲皮素铋的红外光谱显示,羰基吸收峰 $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 1663.10 cm^{-1} ,红移至 1648.48 cm^{-1} ,这是因为羰基形成了配合物引起的。槲皮素的特征吸收峰 $\nu_{-\text{OH}}$

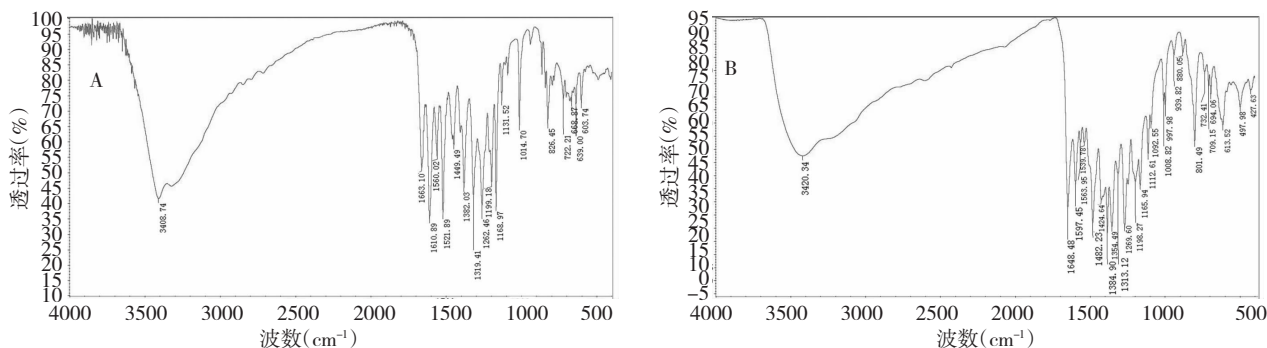


图4 槲皮素(A)和槲皮素铋(B)的红外光谱

Fig. 4 IR spectrum of quercetin (A) and quercetin-Bi complexes (B)

3408.74 cm^{-1} 吸收,在槲皮素铋中是3420.34 cm^{-1} 几乎没有发生变化,这说明槲皮素的基本骨架没有发生变化。

槲皮素和槲皮素铋的红外图谱特征吸收峰比较结果显示:①槲皮素的 $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 1663.10 cm^{-1} 羰基振动频率移至1648.48 cm^{-1} ,向红移了14.62 cm^{-1} ,可见槲皮素的4-羰基参与了槲皮素铋配合物的形成^[13]。②槲皮素铋配合物在613.52 cm^{-1} 出现了 $\nu_{\text{M}-\text{O}}$,说明有金属配位键生成。③苯环骨架振动频率 $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ 1610.89 cm^{-1} ,和 $\nu_{\text{C}-\text{O}-\text{C}}$ 1262.46 cm^{-1} ,分别移至1597.45 cm^{-1} 和1269.60 cm^{-1} ,说明在形成配合物后,苯环

骨架的存在,只是向红移动了约几个一几十个波数^[13]。

2.3 槲皮素铋的氢谱

^1H NMR谱是鉴定黄酮化合物的结构类型、确定取代基的位置和进行结构研究的有效方法。氢谱可以提供有关分子中不同种类氢原子的情况,如根据化学位移和偶合常数可以判断有关氢原子的化学环境,每种不同环境下氢原子的数目以及每个氢原子相邻的基团的结构等。槲皮素和槲皮素铋 ^1H -NMR谱中每个氢原子的归属(400 MHz; DMSO- d_6 ppm)见表1。

表1 槲皮素和槲皮素铋 ^1H -NMR谱Table 1 ^1H -NMR data for quercetin and quercetin-Bi complexes (ppm)

化合物 Compound	5-OH	7-OH	3-OH	4'-OH	3'-OH	2'-H	6'-H	5'-H	8-H	6-H
槲皮素 Quercetin	12.48	10.77	9.58	9.35	9.29	7.66	7.53	6.88	6.39	6.17
槲皮素铋 Quercetin-Bi	12.49	10.81	9.58	9.30		7.69	7.57	6.91	6.42	6.20

由上述氢谱数据可知,槲皮素铋中的3'-OH上的氢消失,而其它4个羟基(7-OH,5-OH,3-OH,4'-OH)上的氢依然存在,这说明槲皮素的3'位羟基与铋离子结合。这与紫外光谱和红外光谱数据是一致的^[14]。

2.4 热差分析

加热可引起物质的物理、化学变化,同时伴随放热和吸热的产生,以及质量的变化。通过热重分析,可以了解配合物的稳定性,及其结构特征。在静态空气气氛,升温速度为10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$,差热量程为100 μV ,测定温度范围从室温到784 $^{\circ}\text{C}$ 。

对槲皮素铋的热分析显示出裂解分解过程^[15]。配合物的DSC曲线上呈现出吸热和放热峰与热重

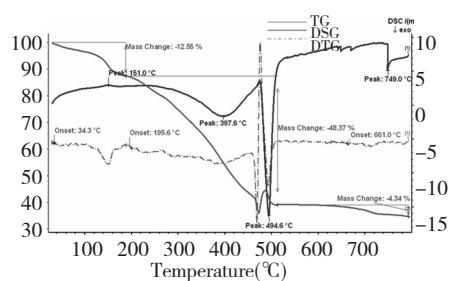


图5 示差热重分析图

Fig. 5 Thermogravimetric analysis of quercetin-Bi complexes 分析一致。

在151 $^{\circ}\text{C}$ 附近的放热峰对应于槲皮素铋的第一步分解,主要是失去结晶水,4个 H_2O ,对应质量损

失为 13.37%。在 397 °C 附近的放热峰对应于残余有机物的氧化分解,对应质量损失为 48.14%。在

749 °C 附近,失去 CHO,对应质量损失为 4.90%。最后剩余的残渣是三氧化二铋。

表 1 槲皮素铋分解与失重的最大温度

Table 1 The T_{max} (°C) and weight loss values of the decomposition stages for the quercetin-Bi complexes

化合物 Compound	裂解过程 Decomposition process	裂解温度 Decomposition T_{max} (°C)	裂解碎片 Eliminated species	质量损失 Weight loss (%)	
				实验值 Found	计算值 Calculated
[BiQOH] · 8H ₂ O (672.05 g/mol)	第一步 First step	151	4 H ₂ O	12.55	13.37
	第二步 Second step	397.6	5 H ₂ O, C ₁₄ H ₄ O ₅	48.37	48.14
	第三步 Third step	749	CHO	4.34	4.90
	总失重 Total loss			65.26	66.41
	残渣 Residue			Bi ₂ O ₃	34.70

由上述槲皮素铋的热分解实验,根据残渣的重量,可以计算出氧化铋中铋的含量(实验值):

$$\frac{M(2Bi)}{M(Bi_2O_3)} \times 100\% = \frac{209 \times 2}{209 \times 2 + 16 \times 3} \times 100\% = 89.7\%$$

槲皮素铋中铋的含量(实验值): 34.7% × 89.7% = 31.16%

槲皮素铋中铋的含量(理论值):

$$\frac{M(Bi)}{M(\text{槲皮素}-Bi)} \times 100\% = \frac{209}{302 + 209 + 17 + 18 \times 8} \times 100\% = 31.10\%$$

由上述计算结果可以看出,实验值与理论值误差很小。结合紫外光谱、红外光谱、氢谱和热分析图谱可以写出槲皮素铋配合物的结构为:

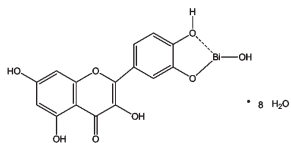


图 6 槲皮素铋的结构

Fig. 6 Chemical structure of quercetin-Bi complexes

2.5 槲皮素铋清除 DPPH 自由基的作用

DPPH 在有机溶剂中是一种稳定的自由基,其乙醇溶液在 517 nm 处有最大吸收,当有自由基清除剂存在时,由于 DPPH 自由基的单电子被配对,从而使得在 517 nm 处的吸光度减小,因此该法常被用来评价样品的抗氧化能力^[12]。

从图 7 可见,槲皮素和槲皮素铋都随着浓度的增大,对 DPPH 自由基的清除率也增大,但是很明显

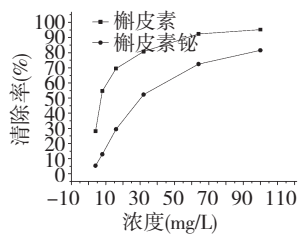


图 7 槲皮素和槲皮素铋对 DPPH 自由基的清除作用

Fig. 7 The scavenging effect of quercetin and quercetin-Bi complexes on on DPPH free radical

槲皮素与铋离子形成配合物后,其对 DPPH 自由基的清除能力略有降低。根据实验结果,槲皮素铋与槲皮素的 EC₅₀ 分别是 8.17 mg/L 和 14.07 mg/L,进一步说明槲皮素在与铋配位后,其清除 DPPH 自由基能力降低,这可能是形成配合物后,邻二酚结构的羟基与铋离子配位,使其接受质子的能力降低引起的。

3 结论

槲皮素与氯化铋在碱性条件下,可生成槲皮素铋配合物。通过紫外、红外、核磁、热分析等手段对槲皮素铋进行了结构表征。光谱数据阐明了配位的位点:槲皮素的 3' 位羟基与铋离子结合。通过 DPPH 法测定了槲皮素铋清除自由基的能力,通过实验显示,槲皮素铋清除 DPPH 自由基的能力弱于槲皮素。

参考文献

1 Yang N(杨楠), Sun HZ(孙红哲). Application of arsenic, Antimony and Bismuth in Medicine. *Prog Chem*, 2009, 21: 856-865.