

СИНЕРГИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ БИНАРНЫХ КОМПОЗИЦИЙ КВЕРЦЕТИН–МОНОСАХАРИД В РЕАКЦИИ СО СВОБОДНЫМИ РАДИКАЛАМИ

Н.И. Белая, А.В. Белый, Г.А. Тихонова, Я.С. Удалов, Г.О. Андриенко

Наталья Ивановна Белая, Александр Владимирович Белый, Галина Анатольевна Тихонова,
Ярослав Сергеевич Удалов, Галина Олеговна Андриенко

Кафедра физической химии, Донецкий национальный университет, ул. Щорса, 17а, Донецк, Украина,
83001

E-mail: nat.iv.belaya@gmail.com

Установлено наличие синергического действия бинарных комбинаций кверцетин–моносахарид в модельной реакции с радикалом 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразилом в деоксигенированном этаноле. Показано, что изученные углеводы, относящиеся к группам тетроз, пентоз и гексоз проявляют синергическое действие, в той или иной мере усиливая антирадикальное действие кверцетина. Величина синергического эффекта смеси определяется количеством гидроксильных заместителей и наличием альдегидных или кетонных групп в молекулах углевода. Наиболее высокую антирадикальную активность проявили синергические композиции кверцетина с глюкозой и галактозой в соотношении 60:40%. При этом максимальный синергический эффект смеси составляет 75% и достигается за счет того, что, во-первых, при растворении в воде кверцетин переходит в таутомерную дикетоформу, где между ее карбонильными группами и гидроксигруппами моносахарида возникают водородные связи, способствующие образованию молекулярных комплексов, улучшению растворимости флавоноида в воде и проявлению синергического эффекта в смеси с углеводом. Во-вторых, редуцирующие углеводы способны восстанавливать окисленные формы кверцетина, что подтверждается большим синергическим эффектом альдоз по сравнению с кетозами независимо от числа гидроксигрупп в молекуле. Установленное в модельной реакции с гидразильным радикалом, синергическое действие композиций кверцетин–моносахарид сравнивали с таковым в процессе автоокисления хлопкового масла. В реакции с пероксирадикалами хлопкового масла синергический эффект композиций кверцетин–моносахарид возрастает до 300% только для сахаров, способных восстанавливать радикалы кверцетина и реагировать с кислородом воздуха, снижая стационарную концентрацию пероксильных радикалов в системе.

Ключевые слова: синергизм, антиоксидантная активность, моносахариды, флавоноид

SYNERGISTIC EFFECT OF BINARY QUERCETIN–MONOSACCHARIDE MIXTURES IN THE REACTION WITH FREE RADICALS

N.I. Belaya*, A.V. Belyi, G.A. Tikhonova, Ya.S. Udalov, G.O. Andriyenko

Natal'ya I. Belaya, Aleksandr V. Belyi, Galina A. Tikhonova, Yaroslav S. Udalov, Galina O. Andriyenko

Department of Physical Chemistry, Donetsk National University, Shchorsa st., 17a, Donetsk, 83001, Ukraine

E-mail: nat.iv.belaya@gmail.com*

The presence of a synergistic effect of binary mixtures of quercetin–monosaccharide in the model reaction with the 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical in deoxygenated ethanol was established. It was shown that the studied carbohydrates related to the tetrose, pentose and hexose groups exhibit a synergistic effect to some extent enhancing the anti-radical effect of quercetin. The synergistic effect of the mixture is determined by the number of hydroxyl substituents and by the presence of aldehyde or ketone groups in carbohydrate molecules. The synergistic compositions of

quercetin with glucose and galactose in the ratio of 60:40% showed the highest antiradical activity. The maximum synergistic effect of the mixture is 75%. It is achieved due to the fact that, firstly, when dissolved in water, quercetin transforms into a tautomeric diketo form where hydrogen bonds form between its carbonyl groups and hydroxy groups of the monosaccharide, promoting the formation of molecular complexes, improving solubility of flavonoid in water and the manifestation of a synergistic effect in a mixture with carbohydrate. Secondly, reducing carbohydrates are able to restore oxidized forms of quercetin, which is confirmed by the great synergistic effect of aldose in comparison with ketoses, regardless of the number of hydroxy groups in the molecule. The synergistic effect of the quercetin–monosaccharide compositions, established in a model reaction with a hydrazyl radical, was compared to that in the autoxidation process of cottonseed oil. In the reaction with the peroxy radicals of cottonseed oil, the synergistic effect of the quercetin monosaccharide compositions increases up to 300% only for sugars capable of reducing quercetin radicals and reacting with air oxygen, reducing the steady-state concentration of peroxy radicals in the system.

Key words: synergism, antioxidant activity, monosaccharide, flavonoid

Для цитирования:

Белая Н.И., Белый А.В., Тихонова Г.А., Удалов Я.С., Андриенко Г.О. Синергический эффект бинарных композиций кверцетин–моносахарид в реакции со свободными радикалами. *Изв. вузов. Химия и хим. технология.* 2019. Т. 62. Вып. 2. С. 38–42

For citation:

Belaya N.I., Belyi A.V., Tikhonova G.A., Udalov Ya.S., Andriyenko G.O. Synergistic effect of binary quercetin–monosaccharide mixtures in the reaction with free radicals. *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.* 2019. V. 62. N 2. P. 38–42

ВВЕДЕНИЕ

Флавоноиды как вторичные метаболиты растений [1-3] имеют широкий спектр биологического действия и выраженную антирадикальную активность (АРА) [4-7]. Расширить область их действия можно путем совместного применения с углеводами как основными компонентами пищи, принимающими участие в процессах жизнедеятельности живых организмов [8-10]. Известно [11], что моно- и полисахариды могут выступать в роли гидротропных агентов, способных образовывать с гидрофобными флавоноидами молекулярные комплексы, тем самым повышая их растворимость в воде и снижая рабочую концентрацию. По аналогии с гидротропным действием сахаридов можно предположить, что они могут выступать и в роли синергистов, усиливая АРА флавоноидов в реакциях со свободными радикалами.

Целью данной работы является исследование синергического действия двухкомпонентных смесей кверцетин–моносахарид в реакции с модельным радикалом 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразилом (DPPH^{*}) и при автоокислении хлопкового масла.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В работе без предварительной очистки использовали флавоноид – кверцетин (Flav–ОН), моносахариды (Sacch), относящиеся к группе тетроз (D-эритроза), пентоз (D-рибоза, D-арабиноза, D-рибулоза), гексоз (D-глюкоза, D-галактоза, D-фрук-

тоза, D-сорбоза) и модельный N-центрированный радикал DPPH^{*} (производства «Sigma-Aldrich»). Природные пероксильные радикалы генерировали в процессе автоокисления хлопкового масла (производства ООО «Абдулахад», республика Таджикистан). Реакция DPPH^{*} с Flav–ОН и его бинарными смесями с Sacch в разных соотношениях изучалась в деоксигенированном этаноле при T = 293 ± 2 К методом УФ-спектроскопии (Specord S300 UV–VIS) при λ_{max} = 517-520 нм [12-14]. Автоокисление хлопкового масла проводили при комнатной температуре, свободном доступе O₂ воздуха, в тонком слое, толщина которого оставалась постоянной и не превышала 0,4 см. Степень окисленности масла характеризовали перекисным числом (ПЧ), концентрацию пероксидов определяли методом йодометрии [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из полученных кинетических кривых расходования DPPH^{*} видно (рис. 1), что кверцетин активно реагирует с радикалом (реакция 1), превращая его в неактивное молекулярное соединение – 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразин (DPPH–H), и тем самым проявляет выраженную АРА.



Моносахариды не окисляются радикалом, но при этом в определенной концентрации в смеси с кверцетином способны усиливать его антирадикальное действие, проявляя тем самым функции синергиста.

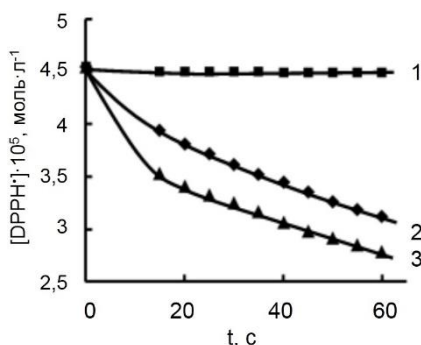


Рис. 1. Кинетические кривые расходования DPPH• в присутствии D галактозы ($1,82 \cdot 10^{-5}$ моль · л⁻¹) (1), кверцетина ($2,73 \cdot 10^{-5}$ моль · л⁻¹) (2) и их смеси (3) (40:60%). Растворитель – деоксигенированный этанол. T = 293±2 К

Fig. 1. Kinetic curves of DPPH• consumption at the presence of D-galactose ($1,82 \cdot 10^{-5}$ mol · l⁻¹) (1), quercetin ($2,73 \cdot 10^{-5}$ mol · l⁻¹) (2) and their mixture (3) (40: 60%). Solvent – deoxygenated ethanol. T = 293 ± 2 K

Для определения наиболее эффективных композиций варьировали концентрации Flav–ОН и Sacch в широком диапазоне при постоянной суммарной концентрации смеси. Величину синергического эффекта (SE) оценивали по усилению антирадикального действия смеси по сравнению с аддитивным действием кверцетина и углевода:

$$SE = \left(\frac{v_{mix} - v_{add}}{v_{add}} \right) = \left(\frac{\Delta v}{v_{add}} \right) \cdot 100\%,$$

где v_{mix} – начальная скорость реакции DPPH• со смесью кверцетина и моносахарида; $v_{Flav-OH}$ и v_{Sacch} – начальная скорость реакции DPPH• с кверцетином и моносахаридом, соответственно; $v_{add} = v_{Flav-OH} + v_{Sacch}$ – величина начальной скорости в предположении, что действие смеси аддитивно.

Анализ зависимости максимального синергического эффекта $SE_{max} = (\Delta v/v_{add})_{max}$ от состава смеси кверцетина с моносахаридом показал (таблица), что все изученные углеводы проявляют синергическое действие, в той или иной мере усиливая антирадикальное действие кверцетина.

При этом величина SE определяется количеством гидроксильных заместителей и наличием альдегидных или кетонных групп в молекуле углевода. Так, композиции кверцетина с редуцирующими сахарами ряда тетроз и пентоз – D-эритрозой, D-рибозой и D-арабинозой проявили незначительный синергический эффект от 10% до 30% (табл.). С ростом же числа О–Н групп величина SE возрастает у глюкозы до 50% и галактозы – до 75%. Таким образом, чем больше гидроксигрупп в молекулах редуцирующих Sacch, тем более эффективно они усиливают антирадикальную активность (АРА) кверцетина по отношению к DPPH•: D-эритроза < D-рибоза < D-арабиноза < D-глюкоза < D-галактоза. Причем при достижении максималь-

ного синергического эффекта доля Sacch в синергической композиции уменьшается при переходе от тетроз к гексозам (таблица).

Таблица

Величины максимального синергического эффекта (SE_{max}) бинарных композиций кверцетин–моносахарид в реакции с DPPH•

Table. The values of the maximal synergistic effect (SE_{max}) of the binary composition quercetin–monosaccharide in the reaction with DPPH

Композиция (Flav–ОН: Sacch)	SE_{max} , %	
Тетрозы		
Кверцетин – эритроза (40%:60%)	10	
Пентозы		
Кверцетин – рибоза	50:50	31
Кверцетин – арабиноза	50:50	26
Кверцетин – рибулоза	40:60	8
Гексозы		
Кверцетин – галактоза	60:40	75
Кверцетин – глюкоза	60:40	50
Кверцетин – фруктоза	60:40	29
Кверцетин – сорбоза	60:40	25

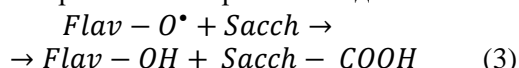
Причина синергизма может заключаться в том, что при растворении в воде кверцетин переходит в таутомерную дикетоформу (Flav=O), где между ее карбонильными группами и гидроксигруппами моносахарида возникают водородные связи, способствующие стабилизации дикетона за счет образования молекулярных комплексов ([Flav=O...Sacch]) (реакция 2), улучшению растворимости флавоноида в воде и проявлению синергического эффекта в смеси с углеводом.



Тогда в ряду исследуемых моносахаридов гексозы с большим числом гидроксильных заместителей должны эффективно образовывать нековалентные конъюгаты с кверцетином, усиливая его растворимость, и соответственно АРА при заданной концентрации, что и подтверждается максимальным синергическим эффектом композиций кверцетин – глюкоза (60:40%) и кверцетин – галактоза (60:40%) (таблица).

Однако, более сильное влияние на синергический эффект сахаров в смеси с кверцетином оказывает не число гидроксильных заместителей, а наличие в составе моносахарида альдегидной или кетонной группы. Так, все редуцирующие сахара (альдозы) проявили намного больший синергический эффект, чем нередуцирующие (кетозы) независимо от числа гидроксигрупп (таблица). Это, по-видимому, связано со способностью альдоз окис-

ляться до сахарных кислот (Sacch-COOH), восстанавливая окисленные формы кверцетина (Flav-O^{*}) и тем самым проявляя синергическое действие:



Кетозы не могут вступать в подобные реакции восстановления, что и подтверждается их низкой синергической активностью в смеси с кверцетином (таблица).

Синергическое действие композиций кверцетина с некоторыми моносахаридами, определенное в модельной реакции с гидразильным радикалом, было проверено в процессе автоокисления рафинированного недезодорированного хлопкового масла как реального субстрата радикально-цепного окисления [16].

По величине накопления ПЧ видно (рис. 2), что при добавлении в систему кверцетина, как известного акцептора свободных радикалов [17-20], закономерно наблюдается торможение процесса окисления за счет его реакции (4) с пероксильными радикалами ROO^{*} масла:

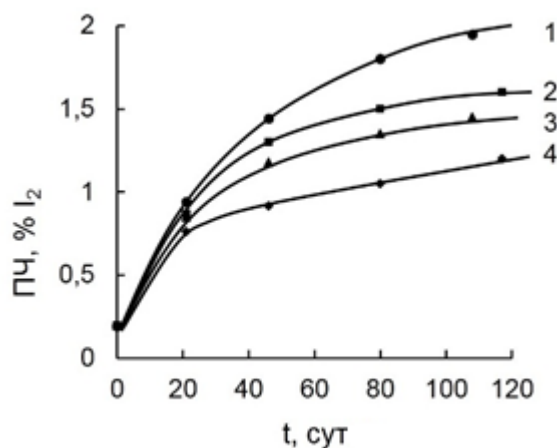


Рис. 2. Кинетика накопления ПЧ в процессе автоокисления хлопкового масла при $T_{ком}$ в присутствии: 1 – без добавок; 2 – глюкозы ($2 \cdot 10^{-3}$ моль·л⁻¹); 3 – кверцетина ($3 \cdot 10^{-3}$ моль·л⁻¹); 4 – смеси кверцетин-глюкоза (60:40%) (суммарная концентрация смеси $5 \cdot 10^{-3}$ моль·л⁻¹)

Fig. 2. Kinetics of peroxide value accumulation in the process of cottonseed oil autooxidation at T_{room} in the presence of: 1 – without additives; 2 – glucose ($2 \cdot 10^{-3}$ mol·l⁻¹); 3 – quercetin ($3 \cdot 10^{-3}$ mol·l⁻¹); 4 – mixtures of quercetin-glucose (60:40%) (total concentration of the mixture is $5 \cdot 10^{-3}$ mol·l⁻¹)

Моносахариды не реагируют с DPPH^{*} (рис.1), но при этом редуцирующие сахара, например глюкоза, тормозят процесс окисления хлопкового масла (рис. 2). Это может быть связано со способностью альдоз окисляться кислородом до соответствующих сахарных кислот, что будет способ-

ствовать общему снижению стационарной концентрации ROO^{*}, а значит, замедлению процесса окисления. Этот факт согласуется с полным отсутствием ингибирующего эффекта у фруктозы как нередуцирующего моносахарида (рис. 2). При добавлении в систему смеси кверцетин-глюкоза наблюдается замедление процесса окисления масла по сравнению с аддитивным действием смеси:

$$SE = ((\tau_{mix} - \tau_{add})/\tau_{add}) = (\Delta\tau/\tau_{add}) \cdot 100\%,$$

где $\tau_{mix} = \tau_{mix} - \tau_{oil}$ – время, в течение которого ПЧ достигает значения 1% I₂ при автоокислении хлопкового масла кислородом воздуха при $T_{ком}$ в присутствии смеси кверцетин-моносахарида; $\tau_{add} = \tau_{Flav-OH} + \tau_{Sacch}$ – время, в течение которого ПЧ достигает значения 1% I₂, в предположении, что действие смеси аддитивно; $\tau_{Flav-OH} = \tau_{Flav-OH} - \tau_{oil}$ и $\tau_{Sacch} = \tau_{Sacch} - \tau_{oil}$ – время, в течение которого ПЧ достигает значения 1% I₂ при автоокислении хлопкового масла кислородом воздуха при $T_{ком}$ в присутствии кверцетина и моносахарида, соответственно; τ_{oil} – время, в течение которого ПЧ достигает значения 1% I₂ при автоокислении хлопкового масла кислородом воздуха при $T_{ком}$.

Максимальный синергический эффект смеси кверцетин-глюкоза наблюдается (рис. 3), как и в реакции с DPPH^{*}, в соотношении 60:40%. При этом значение SE достигает 300%, что значительно выше, чем при взаимодействии смеси с гидразильным радикалом в среде деоксигенированного спирта. По-видимому, это связано как со способностью глюкозы восстанавливать окисленные формы кверцетина, так и реагировать с O₂, понижая тем самым концентрацию ROO^{*} в системе. Фруктоза в композиции с кверцетином фактически не проявила SE (рис. 3), поскольку не относится к редуцирующим сахарам, а способность проявлять гидротропные свойства за счет образования межмолекулярных комплексов с кверцетином в органической среде, как видно, не играет существенной роли в определении синергизма.

Сравнительный анализ максимального синергического эффекта смесей кверцетина с глюкозой и фруктозой в реакции с DPPH^{*} и ROO^{*} хлопкового масла показал (таблица, рис. 3), что при переходе от модельного гидразильного радикала к ненасыщенному органическому субстрату синергическое действие редуцирующих сахаров возрастает, а нередуцирующих – полностью нивелируется. Доминирующую роль в действии моносахаридов как синергистов играет их восстанавливающая способность, которая определяется наличием альдегидной группы.

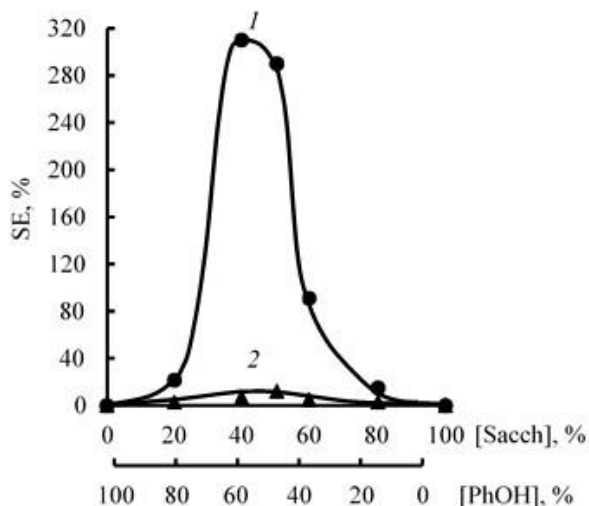


Рис. 3. Зависимость синергического эффекта (SE, %) в процессе автоокисления кислородом воздуха при $T_{ком}$. от состава смеси кверцетин-моносахарид: 1 – глюкоза; 2 – фруктоза
Fig. 3. Dependence of the synergistic effect (SE, %) in the process of autooxidation by air at T_{room} on the composition of the quercetin-monosaccharide mixture: 1 – glucose; 2 – fructose

ВЫВОДЫ

В модельной реакции с DPPH наиболее высокую антирадикальную активность проявили синергические композиции кверцетина с глюкозой и галактозой в соотношении 60:40%. Синергический эффект достигает 75% и определяется способностью всех изученных моносахаридов образовывать межмолекулярные комплексы с кверцетином, повышая его растворимость, а также со способностью редуцирующих углеводов восстанавливать окисленные формы флавоноида. В реакции с пероксирадикалами хлопкового масла (ROO^{\cdot}) синергический эффект комбинаций кверцетин-моносахарид возрастает до 300% только для сахаров, способных восстанавливать радикалы кверцетина и реагировать с кислородом воздуха, снижая стационарную концентрацию ROO^{\cdot} в системе.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Vermerris W., Nicholson R. Phenolic Compound Biochemistry. Dodrecht: Springer. 2006. 275 p.
2. Andersen M., Markham K.R. Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications. New York: CRC Press. 2006. 1197 p.
3. Agati G., Azzarello E., Pollastri S., Tattini M. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Sci.* 2012. V. 196. P. 67-76. DOI: 10.1016/j.plantsci.2012.07.014.
4. Yang J.-G., Liu B.-G., Liang G.-Zh., Ning Zh.-X. Structure - Activity relationship of flavonoids active against hard oiloxidation based on quantum chemical analysis. *Molecules.* 2009. V. 14. N 1. P. 46-52. DOI: 10.3390/molecules14010046.

5. Farkas O., Jakus J., Heberger K. Quantitative structure – antioxidant activity relationships of flavonoids compounds. *Molecules.* 2004. V. 9. N 12. P. 1079-1088. DOI: 10.3390/91201079.
6. Seyoum A., Asres K., El-Fiky F.K. Structure - radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry.* 2006. V. 67. N 18. P. 2058-2070. DOI: 10.1016/j.phytochem.2006.07.002.
7. Vagánek A., Rimarčík J., Dřopková K., Lengyel J., Klein E. Reaction enthalpies of O–H bonds splitting-off in flavonoids: The role of non-polar and polar solvent. *Comput. Theor. Chem.* 2014. V. 1050. P. 31-38. DOI: 10.1016/j.comptc.2014.10.020.
8. Osorio-Macias D.E., Vasquez P., Carrasco C., Bergenstahl B., Penarrieta J.M. Resveratrol, phenolic antioxidants, and saccharides in South American red wines. *Internat. J. Wine Res.* 2018. V. 10. P. 1-11. DOI: 10.2147/IJWR.S152026.
9. Tomasik P. Chemical and functional properties of food saccharides. New York: CRC Press. 2006. 426 p.
10. Xiao J., Jiang H. A review on the structure-function relationship aspect of polysaccharides from tea materials. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2015. V. 55. P. 930-938. DOI: 10.1080/10408398.2012.678423.
11. Pogodaeva N.N., Medvedeva S.A., Sukhov B.G., Larina L.I. Spectroscopic study of the reaction of a natural arabinogalactan polysaccharide with 3-hydroxyflavones in aqueous solutions. *Chem. Nat. Comp.* 2012. V. 48. N 5. P. 723-727. DOI: 10.1007/s10600-012-0368-0.
12. Marinova G., Batchvarov V. Evaluation of the methods for determination of the free radical scavenging activity by DPPH. *Bulg. J. Agric. Sci.* 2011. V. 17. N 1. P. 11-24.
13. Alam Md.N., Bristi N.J., Rafiqzaman Md. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharm. J.* 2013. V. 21. P. 143-152. DOI: 10.1016/j.jsps.2012.05.002.
14. Ionita P. Is DPPH stable free radical a good scavenger for oxygen active species? *Chem. Pap.* 2005. V. 59. N 1. P. 11-16.
15. Kaleem A., Aziz S., Iqtadar M., Abdullah R., Aftab M., Rashid F., Shakoori F.R., Naz R. Investigating changes and effect of peroxide values in cooking oils subject to light and heat. *Fuust J. Biol.* 2015. V. 5. N 2. P. 191-196.
16. Arslan F.N., Sapci A.N., Duru F., Kara H. A study on monitoring of frying performance and oxidative stability of cottonseed and palm oil blends in comparison with original oils. *Internat. J. Food Prop.* 2017. V. 20. N 3. P. 704-717. DOI: 10.1080/10942912.2016.1177544.
17. Alrawaiq N.S., Abdullah A. A Review of flavonoid quercetin: metabolism, bioactivity and antioxidant properties. *Int. J. Pharm. Tech. Res.* 2014. V. 6. N 3. P. 933-941.
18. Zheng Y.-Z., Deng G., Liang Q., Chen D.-F., Guo R., Lai R.-C. Antioxidant activity of quercetin and its glucosides from propolis: a theoretical study. *Sci. Reports.* 2017. V. 7. P. 1-11. DOI: 10.1038/s41598-017-08024-8.
19. Marković Z.S., Dimitrić Marković J.M., Doličanin Č.B. Mechanistic pathways for the reaction of quercetin with hydroperoxy radical. *Theor. Chem. Acc.* 2010. V. 127. P. 69-80. DOI: 10.1007/s00214-009-0706-x.
20. Trouillas P., Marsal P., Siri D., Lazzaroni R., Duroux J.L. A DFT study of the reactivity of OH groups in quercetin and taxifolin antioxidants: the specificity of the 3-OH site. *Food Chem.* 2006. V. 97. P. 679-688. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.05.042.

Поступила в редакцию (Received) 07.05.2018
Принята к опубликованию (Accepted) 29.11.2018