

柚皮素-镉配合物的合成·表征及其抗氧化作用

臧永军, 赵焕 (皖西学院生物与制药工程学院, 安徽六安 237012)

摘要 [目的]合成柚皮素金属镉配合物,并比较配合物与柚皮素的抗氧化活性。[方法]以柚皮素和乙酸镉为原料在无水乙醇溶液中制备柚皮素-镉配合物,通过紫外(UV)、红外(IR)对配合物进行表征,并采用ABTS法研究其清除自由基的能力。[结果]紫外、红外数据证实柚皮素与镉离子成功配合,且在试验浓度下,配合物对 $ABTS^{\cdot+}$ 的清除能力随浓度增加而增强,且强于柚皮素。[结论]镉离子成功地与柚皮素形成配合物,其体外抗氧化活性较配体有所增强。

关键词 柚皮素;配合物;抗氧化;ABTS

中图分类号 S-3 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)29-0001-02

Synthesis, Characterization and Antioxidant Activity of Naringenin-Cadmium (II)

ZANG Yong-jun, ZHAO Huan (School of Biology and Pharmaceutical Engineering, West Anhui University, Luan, Anhui 237012)

Abstract [Objective] Naringenin-cadmium(II) complex (Nar-Cd) was synthesized and compared the antioxidant activity between naringenin and Nar-Cd. [Method] Nar-Cd complex was synthesized by using naringenin and $Cd(CH_3COO)_2$ in anhydrous ethanol solution and characterized by UV and IR. The antioxidant activity of Nar-Cd was evaluated by ABTS assays. [Result] The synthesized complex was coordinated with a Cd(II) ion by UV and IR. The scavenging activity of $ABTS^{\cdot+}$ of Nar-Cd complexes was increased with concentration, and exhibited more potent antioxidation effect than naringenin. [Conclusion] Cd^{2+} could coordinate with the naringenin, and the antioxidation effect of the complex was stronger than the ligand.

Key words Naringenin; Complex; Antioxidant; ABTS

柚皮素是一种天然黄酮类化合物,广泛分布在水果、蔬菜等食物中,大量研究表明柚皮素具有抗氧化、抗肿瘤、清除自由基、抗动脉粥样硬化、降血糖等生物活性,在医药、食品科学等方面具有较大的潜在应用价值^[1-2]。

镉是一种高毒性的重金属元素,环境系统中的镉主要来源于农药、染料、油漆及工业的废水,其迁移活跃,不易代谢,易积累于农作物及动物体内^[3]。研究表明,人体内镉的积累会导致内分泌紊乱、组织损伤和生殖器官功能障碍,并易诱发心血管疾病、癌症和肾脏病变等疾病^[4]。螯合治疗法是减缓该类重金属中毒的有效疗法,通过螯合剂与重金属离子形成的牢固的配合物,使其从体内排出,达到治疗解毒的目的^[5]。柚皮素结构中含有大 π 键共轭体系及强配位能力的氧原子,能与金属离子发生配位作用。笔者以柚皮素为配体与镉金属离子合成柚皮素-镉配合物,通过紫外光谱和红外光谱对结构进行了表征,并研究了其清除自由基的能力,以期柚皮素金属配合物的开发利用提供理论依据^[6]。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂。柚皮素,国药集团化学试剂有限公司;无水乙醇(分析纯);ABTS[2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐],阿拉丁生化科技股份有限公司;乙酸镉·二水合物,天津市光复精细化工研究所; $K_2S_2O_8$,国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器。TU-1901型紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器设备有限公司;iS50FT-IR傅里叶变换红外光谱仪(KBr压片),美国尼高力公司;FA1004A电子天平,上

海精天电子仪器有限公司;DF-19s集热式磁力加热搅拌器,金坛市岸头国瑞实验仪器厂;PHS-3S型酸度计,萧山市分析仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 配合物的合成。参考文献方法^[7-8],取0.544 g (2 mmol)柚皮素,加入10 mL无水乙醇搅拌至溶解,再加入0.216 g (2 mmol)无水碳酸钠搅拌1 h,将0.533 g (约2.0 mmol) $Cd(OAc)_2 \cdot 2H_2O$ 加入反应瓶中,在50℃恒温水浴锅中加热搅拌反应,同时缓慢滴加0.5 mol/L盐酸溶液至pH 7.5,溶液呈淡黄色,继续回流搅拌3 h,有大量棕黄色沉淀生成,放置、冷却、抽滤,沉淀用无水乙醇反复洗涤,抽干,室温真空干燥,得淡黄色粉。

1.2.2 柚皮素及配合物对 $ABTS^{\cdot+}$ 的清除能力。参照文献方法^[9], $ABTS^{\cdot+}$ 在734 nm波长处有最大吸收波长,故可在734 nm波长处检测 $ABTS^{\cdot+}$ 的浓度,通过检测吸光度,判断 $ABTS^{\cdot+}$ 的清除情况。

$$\text{清除率} = (A_0 - A) / A_0 \times 100\%$$

1.2.2.1 ABTS工作液的配制。取7.4 mmol/L ABTS和2.6 mmol/L $K_2S_2O_8$ 各0.2 mL,混合均匀,在黑暗室温下放置12 h,用无水乙醇稀释50倍得到ABTS工作液。

1.2.2.2 A_0 的测定。取0.8 mL ABTS工作液,加入0.2 mL无水乙醇,振摇10 s,充分混匀,静置6 min后测定 A_0 。

1.2.2.3 A的测定。取6只比色皿,分别加入 1×10^{-5} g/mL待测样液0.04、0.08、0.12、0.16、0.20、0.24 mL,加入无水乙醇使总体积为2.00 mL,再加入8.00 mL ABTS溶液,混合,静置6 min,测定A。

2 结果与分析

2.1 柚皮素-镉金属化合物的表征 由图1可知,柚皮素和配合物在200~400 nm波长处均主要有2个吸收带,表明配合物的母体结构并未发生改变。柚皮素的2个主要吸收

基金项目 皖西学院自然科学基金青年项目(WXZR201613);安徽省大学生创新创业训练计划项目(201610376037)。

作者简介 臧永军(1990—),男,安徽六安人,助教,硕士,从事天然产物合成与修饰研究。

收稿日期 2017-07-28

带分别为吸收带 I 220 nm 和吸收带 II 278 nm;对比而言,配合物在吸收带 I 未发生明显改变,而吸收带 II 红移至 290 nm,同时吸收强度也随之降低,这是因为 Cd^{2+} 和柚皮素发生配位后,整个分子的共轭体系增长,电子的离域程度增大,致使电子跃迁时需要的能量降低,吸收峰发生红移^[10]。

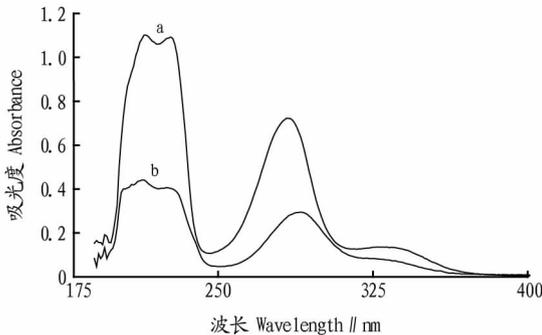


图1 柚皮素(a)和柚皮素-镉配合物(b)的UV-Vis光谱

Fig.1 The UV-Vis spectroscopy of naringenin (a) and its complex (b)

2.2 配合物的红外光谱 采用KBr压片,在4000~400 cm^{-1} 区间扫描柚皮素及其红配合物的红外光谱,如图2、3所示,其代表性基团迁移见表1。根据红外图谱,配合物的红外光谱与柚皮素相比有明显迁移。柚皮素的羰基($\text{C}=\text{O}$)振动频率在1680 cm^{-1} ,形成配合物后红移至1625 cm^{-1} ,向低波数方向移动了55 cm^{-1} ,说明配体的羰基氧参与了配位;苯环 π 键($\text{C}=\text{C}$)由配体的1618 cm^{-1} 下降到配合物的1558 cm^{-1} ,红移了60 cm^{-1} ,原因是配合物中形成了一个新环使得共轭效应增强;配体中的 $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ 形成配合物前后位置变化不大,表明它并未与金属离子发生作用;624 cm^{-1} 处的峰可认为是 $\text{O}-\text{M}$ 配位原子M的伸缩振动和弯曲振动引起的。红外结果显示,柚皮素与金属离子发生配位^[11]。

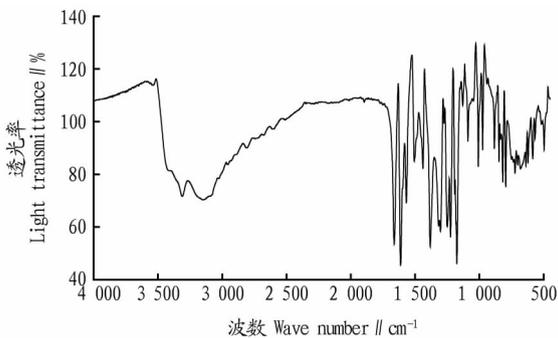


图2 柚皮素的红外光谱

Fig.2 IR spectrum of naringenin

2.3 柚皮素及配合物对 $\text{ABTS}^{\cdot+}$ 的清除能力 根据试验吸光度计算出清除率,并作出浓度-清除率关系图。由图4可知,柚皮素和配合物在测试的浓度范围内,均是先随着浓度的增大,对 $\text{ABTS}^{\cdot+}$ 的清除率呈上升趋势;且配合物对 $\text{ABTS}^{\cdot+}$ 的清除能力明显高于柚皮素。提示日常生活中多食含该类物质的食物,一方面可以清除体内的自由基,减少相关疾病发生的可能性,另一方面可以与体内的重金属离子螯

合,对降低人体内重金属离子含量起着重要作用。

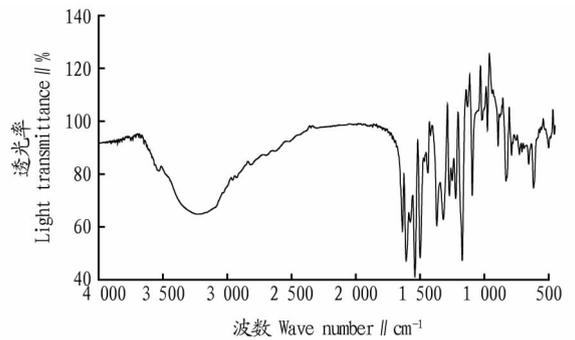


图3 柚皮素配合物的红外光谱

Fig.3 IR spectrum of Nar-Cd

表1 柚皮素及镉配合物的主要红外吸收频率

Table 1 Principal IR absorption frequency of naringenin and its complex

基团 Radical group	柚皮素 Naringenin	配合物 Complex
$\text{C}=\text{O}$	1 680	1 625
$\text{C}=\text{C}$	1 618	1 558
$\text{C}-\text{O}-\text{C}$	1 168	1 166
$\text{O}-\text{M}$	—	624

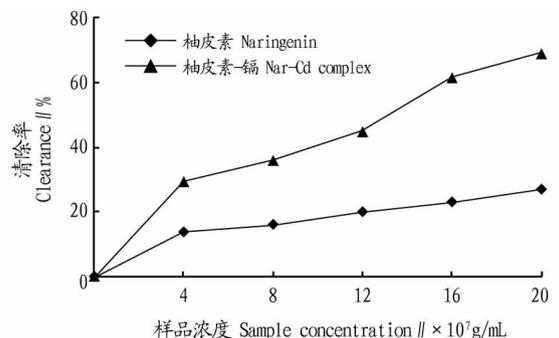


图4 柚皮素和配合物对 $\text{ABTS}^{\cdot+}$ 的清除率

Fig.4 Scavenging activities of naringenin and Nar-Cd complex on $\text{ABTS}^{\cdot+}$

3 结论与讨论

该研究合成了柚皮素-镉配合物,通过紫外光谱、红外光谱分析手段确定了配合物的形成。体外清除自由基试验表明,柚皮素-镉配合物清除自由基的能力强于柚皮素。目前关于柚皮素配合物抗氧化活性比较的研究报道较少,该研究为柚皮素配合物的研究开发提供了参考。该研究确定了配合物的形成,但对配合物的具体结构还需进一步通过核磁共振、元素分析及热分析等方法来确定。

参考文献

- [1] 韩果萍,江元汝,陈双莉,等. 柚皮素-钴(II)配合物的合成与表征[J]. 西安科技大学学报,2011,31(5):626-630.
- [2] 张燕,杨珊珊,何吕学,等. 柚皮素-铜(II)配合物的合成与表征[J]. 周口师范学院学报,2013,30(2):53-55.
- [3] 陈虎,郭笃发,郭峰. 作物吸收富集镉研究进展[J]. 中国农学通报,2013,29(3):6-11.
- [4] 李裕,张强,王润元,等. 镉的致癌性与食品中镉的生物有效性[J]. 生命科学,2010,2(2):179-184.

(下转第17页)

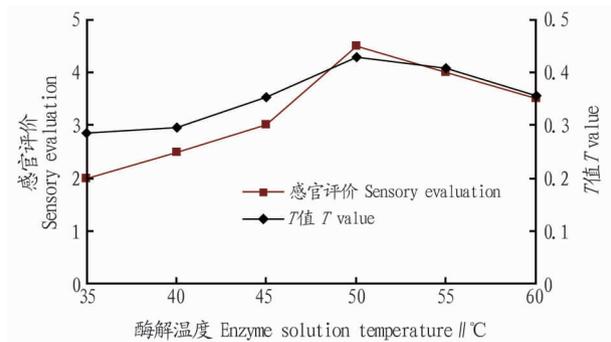


图5 感官评价、 T 值与酶解温度的关系

Fig. 5 The relationship between sensory evaluation, T value and enzyme solution temperature

表2 感官评价与 T 值

Table 2 The sensory evaluation and T value

稀释倍数 Diluted multiples	感官评价 Sensory evaluation	T 值 T value
0 (无稀释) No dilution	4.5	>3
5	—	>3
10	—	>3
50	—	>3
125	—	0.430 1

注:—表示液体稀释倍数过大,无法进行感官评价; >3 表示液体浓度过大,无法进行紫外测定

Note: “—” indicated that diluted multiples were larger, so the sensory evaluation couldn't be carried out; >3 indicated that the concentration of liquid was too large, so the ultraviolet spectrophotometry couldn't be carried out

2.2.3 方法的稳定性。50 °C 酶解条件下的相对标准偏差 ($n=6$) 为 0.061 4%, 说明试验重复性良好。

2.2.4 方法的精密度。6 次平行试验的相对标准偏差为 0.043%, 说明试验精密度良好。

3 结论与讨论

目前对陈皮酶解程度的研究大多是研究橙皮苷的提取率。而该研究的创新性是借鉴微生物学上微生物生长曲线中吸光度与微生物浓度的关系,通过紫外分光光度法研究 T

值与酶解效果的关系。对该方法进行方法学研究,得出该方法有一定的可行性,方法的重复性好、精密度高。目前,采用紫外分光光度法测定酶解效果的研究鲜见报道,大多研究采用的是感官评价^[6-7]或提取率^[17]进行酶解效果评价,但是感官评价本身存在很大的误差,容易影响判断结果,采用提取率研究的方法成本较高、操作复杂,而紫外分光光度法操作简便且精确度高,弥补了上述 2 种试验方法的不足。

参考文献

- [1] 白伟. 桔皮苷对糖水桔子罐头工艺品质的影响[J]. 青海大学学报, 2011, 29(5): 36-38.
- [2] 宋雪华. 糖水桔子罐头白油现象的成因及其防止办法[J]. 广西轻工业, 2006(5): 43-44.
- [3] 王建成, 褚岳高. 原汁桔子罐头的研制[J]. 食品开发与研究, 2004, 25(5): 47-49.
- [4] 张建军, 孙冬梅, 曾晓会, 等. 二陈汤配方颗粒除杂工艺研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2009, 29(7): 47-49.
- [5] 胡海娥, 张金桃, 肖南, 等. 复合酶辅助水浸提九制陈皮的工艺研究[J]. 农产品加工, 2015(12): 28-31, 35.
- [6] 毕蕾. 鸡骨架生物脱骨技术浅探[J]. 肉类工业, 2016(8): 7-9.
- [7] 罗伟, 段振华, 刘小兵. 蛤贝煮汁酶解液美拉德反应条件优化及其产物氨基酸组成分析[J]. 食品科学, 2014, 35(24): 40-44.
- [8] 游元元, 李晨, 张丹, 等. 不同品种川陈皮中黄酮类物质的含量比较[J]. 食品科学, 2013, 34(2): 212-216.
- [9] XIAO Y J, JIANG Z Z, YAO J C, et al. Investigation of picroside II's impacts on the P450 activities using a cocktail method[J]. Chinese J Nat Med, 2008, 6(4): 292-297.
- [10] 赵榆林, 杨亚玲, 林文添, 等. 分光光度法测定桔皮中橙皮苷含量[J]. 光谱实验室, 2003, 20(3): 353-355.
- [11] 唐远江, 雷帮星, 康冀川, 等. 缺陷假单胞菌 HD13 发酵过程中生物量和抗菌活性的变化[J]. 贵州农业科学, 2016, 44(4): 92-95.
- [12] 高琳, 高聚林, 阚干朝鲁, 等. 玉米秸秆低温降解菌系的生长特性及其降解效果的研究[J]. 内蒙古农业科技, 2015, 43(5): 7-9, 13.
- [13] 李学贵, 袁生. 微生物转化过程中利用 OD 值实时监测细菌生物量变化的研究[J]. 南京师大学报(自然科学版), 2003, 26(4): 90-93.
- [14] 杨冬爱, 陈琳琳. 治疗药物监测的方法学研究进展[J]. 中国医药科学, 2016, 6(8): 38-40, 113.
- [15] 刘静, 刘秀朋. 埃索美拉唑钠中间体清洁验证残留限度检查方法学研究[J]. 北方药学, 2016, 13(8): 1-2.
- [16] 陈志刚, 山光强, 谭玉琴, 等. 紫外分光光度法测定槲皮素含量方法的建立[J]. 动物医学进展, 2016, 37(1): 122-124.
- [17] 宁娜, 韩建军, 薛东芳, 等. 酶解辅助提取陈皮中橙皮苷的工艺优化[J]. 中国兽药杂志, 2016, 50(3): 24-29.

(上接第 2 页)

- [5] DEGHAN G, KHOSHKAM Z. Tin (II)-quercetin complex; Synthesis, spectral characterisation and antioxidant activity [J]. Food chemistry, 2012, 131(2): 422-426.
- [6] RAVICHANDRAN R, RAJENDRAN M, DEVAPIRIAM D. Antioxidant study of quercetin and their metal complex and determination of stability constant by spectrophotometry method[J]. Food chemistry, 2014, 146(3): 472-478.
- [7] 郭星, 蔡正洪, 唐静. 丁香酸金属铜配合物的合成·表征及其抗内毒素作用研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(1): 6-7.
- [8] SARRIA A L F, VILELA A F L, FRUGERI B M, et al. Copper(II) and zinc(II) complexes with flavanone derivatives: Identification of potential cholinesterase inhibitors by on-flow assays[J]. Journal of inorganic biochemistry, 2016, 164: 141-149.

- [9] LI X C, LIN J, GAO Y X, et al. Antioxidant activity and mechanism of *Rhizoma Cimicifugae*[J]. Chemistry central journal, 2012, 6(1): 140.
- [10] TU L Y, PI J, JIN H, et al. Synthesis, characterization and anticancer activity of kaempferol-zinc(II) complex[J]. Bioorganic & medicinal chemistry letters, 2016, 26: 2730-2734.
- [11] BUDZISZ E, KEPPLER B K, GIESTER G, et al. Synthesis, crystal structure and biological characterization of a novel palladium(II) complex with a coumarin-derived ligand[J]. European J Inorg Chem, 2004, 22: 4412-4419.