

УДК 615.322 + 544.653.2/.3

## АНТИОКСИДАНТНЫЕ И ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МОНОСУКЦИНАТА ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА – НОВОГО ВОДОРАСТВОРИМОГО ПРОИЗВОДНОГО ПРИРОДНОГО ФЛАВОНОИДА

© *Б.Н. Баженов, Г.Д. Елисеева, Е.Е. Золотарев, А.В. Кашевский, А.Ю. Сафронов\**,  
*Б.Л. Финкельштейн*

*Иркутский государственный университет, ул. К. Маркса, 1, Иркутск, 664003  
(Россия), e-mail: dean@chem.isu.ru*

Моносукцинат дигидрокверцетина – синтезированное производное природного антиоксиданта дигидрокверцетина, имея более высокую растворимость в воде по сравнению с дигидрокверцетином, сохраняет при этом антиоксидантные свойства последнего, что подтверждается ТЕАС методом и данными вольтамперометрических измерений. Электрохимические превращения моносукцината дигидрокверцетина на графитовом электроде имеют при этом более сложную природу, чем у базового флавоноида.

*Ключевые слова:* моносукцинат дигидрокверцетина, антиоксидантная активность, циклическая вольтамперометрия.

### **Введение**

Биофлавоноиды в последние 2–3 десятилетия все более эффективно используются для создания лекарственных препаратов, биологически активных и пищевых добавок, обладающих антиоксидантными свойствами [1]. Способность нейтрализовать повреждающее действие активных форм кислорода на молекулярные структуры клеток живого организма, широкий спектр лечебного действия при весьма разнообразных патологиях, ставят эти природные соединения на одно из первых мест в современной фармацевтике.

Биофлавоноид дигидрокверцетин (ДКВ) (I) выделяется среди известных нескольких сотен представителей этого класса соединений своей высокой биологической активностью и широким комплексом надежно доказанных фармакологических применений и превосходит по своей антиоксидантной активности многие из из-

---

*Баженов Борис Николаевич* – доцент кафедры общей и неорганической химии, кандидат химических наук, старший научный сотрудник, e-mail: scorpio1956@mail.ru

*Елисеева Галина Дмитриевна* – научный сотрудник института нефте- и углехимического синтеза при ИГУ, кандидат химических наук

*Золотарев Егор Евгеньевич* – аспирант кафедры общей и неорганической химии, e-mail: egorzolotarev@yandex.ru

*Кашевский Алексей Валерьевич* – доцент кафедры общей и неорганической химии, кандидат химических наук, e-mail: caribcar@mail.ru

*Сафронов Александр Юрьевич* – заведующий кафедрой общей и неорганической химии, доктор химических наук, профессор, тел.: (3952) 52-10-79, факс: (3952) 42-59-35, e-mail: dean@chem.isu.ru.

*Финкельштейн Борис Львович* – доцент кафедры органической химии, кандидат химических наук

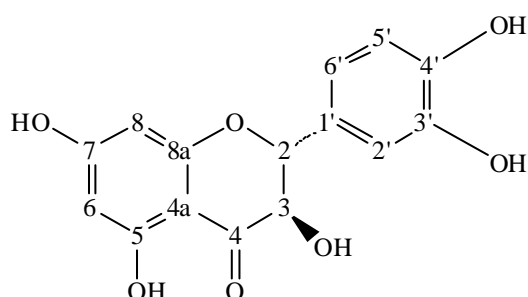
вестных препаратов, в том числе –  $\alpha$ -токоферол и аскорбиновую кислоту. ДКВ, выделяемый из древесины лиственницы сибирской или даурской (*Larix sibirica* Ledeb. и *L. dahurica* Turz.), входит в состав ряда фармацевтических препаратов и биологически активных пищевых добавок [2]. На его основе созданы и успешно применяются лекарственные средства, например, «Диквертин» [3]. ДКВ также широко используют в пищевой промышленности (производство шоколада, сухого молока других жиросодержащих продуктов) для придания лечебно-профилактических свойств продукции и для увеличения сроков ее хранения.

Низкая растворимость препарата (как в воде, так и в жирах) препятствует его более широкому использованию в составе инъекционных препаратов, капель, мазей, эмульсий. В связи с этим актуальным

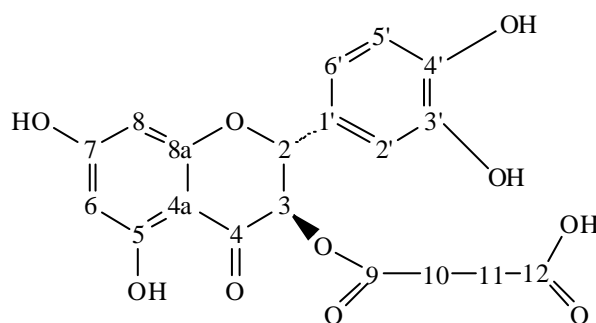
---

\* Автор, с которым следует вести переписку.

является получение водорастворимых производных ДКВ с сохранением его антиоксидантного потенциала, чего можно достичь введением гидрофильных структурных фрагментов в молекулу флавоноида, не затрагивающих ее участки, ответственные за антиоксидантные свойства. Одним из таких заместителей может быть остаток янтарной кислоты, связанный с молекулой ДКВ сложноэфирной связью (II).



Дигидрокверцетин (I)



Моносукцинат дигидрокверцетина (II)

Подобный подход к получению новых лекарственных форм в настоящее время уже используется. Например, известно полусинтетическое производное флавоноида силибина – бис-гемисукцината динатриевая соль – хорошо растворимое в воде и применяемое для внутривенного введения при тяжелых интоксикациях печени (торговое название – Легалон СИЛ) [4].

Янтарная кислота, способная образовываться в результате биотрансформаций таких препаратов *in vivo*, нетоксична и сама участвует в процессах метаболизма. Известны многие растворимые и нерастворимые лекарственные формы, например: «Янтарь-антитокс» – таблетки, «Цитофлавин» – раствор для внутривенного капельного введения и таблетки; «Капли Береш Плюс» – капли для приема внутрь, действующим началом которых является янтарная кислота [1].

Получение новых производных дигидрокверцетина и янтарной кислоты позволяет расширить возможности создания новых лекарственных препаратов, обладающих антиоксидантными, капиллярно-, гастро- и гепатопротекторными свойствами, а также используемых в комплексной терапии при лечении и профилактике ишемической болезни сердца и других заболеваний.

Электрохимическое поведение дигидрокверцетина изучают довольно активно [5–8], хотя основные особенности механизма его окислительно-восстановительных превращений до сих пор трактуются неоднозначно. Данных об электрохимических свойствах нового производного ДКВ, представленного в данной работе, естественно, обнаружить не удалось.

В связи с вышеизложенным основной целью представляемой работы явилось проведение сравнительного анализа антиоксидантной и электрохимической (окислительно-восстановительной) активности моносукцината дигидрокверцетина и базового исходного флавоноида дигидрокверцетина.

### Экспериментальная часть

В работе использовались реактивы:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (х.ч., перекристаллизованный из воды),  $\text{NaOH}$  (х.ч.). Дигидрокверцетин с содержанием > 95% был предоставлен ООО «Флавир» (Иркутск). Для приготовления рабочих растворов применялась бидистиллированная вода.

*Синтез моносукцината дигидрокверцетина (МСДКВ).* Соединение (II) – светло-желтый порошок – получено ацилированием дигидрокверцетина янтарным ангидридом (мольное соотношение 1 : 5) в ацетоне в присутствии основания с последующим препаративным выделением целевого продукта [9]. Методом ВЭЖХ (хроматограф HP 1050, колонка 4×150, Силасорб-8С<sub>18</sub>, элюент  $\text{MeCN} : \text{H}_2\text{O}$ , 1%  $\text{H}_3\text{PO}_4$  30 : 70 об.%) не обнаружено как исходных соединений, так и иных продуктов ацилирования.

Выход 35%. Т.пл. = 112–114 °С. Вычислено, %: С 56,43; Н 3,96. Найдено, %: С 57,00; Н 3,99, брутто-формула  $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{O}_{10}$ .

ЯМР  $^1\text{H}$  (500 МГц,  $\text{Me}_2\text{CO}-d_6$ , м.д., ТМС – 0, J/Гц): 5,34 (1H, д, J = 11, H-2), 5,79 (1H, д, J = 11, H-3), 5,98 (1H, д, J = 2, H-6), 6,00 (1H, д, J = 2, H-8), 7,04 (1H, д, J = 2, H-2'), 6,86 (1H, д, J = 8, H-5'), 6,87 (1H, дд, J = 8 и 2, H-6'), 2,52/2,59 (4H, м, H-10,11).

ЯМР  $^{13}\text{C}$  (125,1 МГц,  $\text{Me}_2\text{CO} - d_6$ ): (м.д.) 192,64 (C-4), 167,96 (C-7), 165,08 (C-8a), 165,54 (C-5), 145,8/146,8 (C-3'/4'), 128,25 (C-1'), 120,61 (C-6'), 115,4/116,04 (C-2'/5'), 102,03 (C-4a), 96,33/97,4 (C-6/8), 81,8 (C-2), 73,36 (C-3), 171,41 (C-9), 174,27 (C-12), 29,24/29,13 (C-10/11).

*Антиоксидантную активность* определяли модифицированным ТЕАС (Trolox Equivalent Antioxidant capacity) методом спектрофотометрически по подавлению поглощения радикал-катионов  $\text{ABTS}^+$  в максимуме при 730 нм, генерируемых взаимодействием  $\text{ABTS}$  с персульфатом калия в солевом фосфатном буфере (рН 7,4) по отношению к тролоксу, активность которого в данном методе принята за единицу [10]. Относительная стандартная ошибка, определенная по результатам нескольких параллельных измерений, составила не более 2,5%.

Для *электрохимических измерений* использовали установку на базе потенциостата IPC - pro M (Россия); трехэлектродную ячейку объемом 50 мл; графитовый рабочий электрод с площадью видимой поверхности  $0,39 \text{ см}^2$ , хлорсеребряный электрод сравнения BAS RE-1; платиновый вспомогательный электрод. Скорости развертки потенциала (v) варьировали от 1 до 500 мВ/с. Фосфатно-щелочной буферный раствор готовили из 0,1 М  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  добавлением 1 М раствора  $\text{NaOH}$ , величину рН определяли при помощи иономера ЭВ-74. Растворы исследованных веществ (все концентрации –  $10^{-3}$  моль/л) готовили растворением в фосфатном буфере и переносили в электрохимическую ячейку. Перед измерением вольтамперограмм, раствор в ячейке продували аргоном в течение 10 мин. Все эксперименты выполнены при комнатной температуре.

### Обсуждение результатов

Модификация дигидрохверцетина введением гидрофильного заместителя (остатка янтарной кислоты), как и ожидалось, привела к увеличению растворимости более чем в 40 раз: 1,7 г/л по сравнению с 0,04 г/л для исходного соединения.

Отсутствие гидроксильной группы в 3-м положении у соединения (II) могло бы повлиять на его антиоксидантную активность, однако измеренные величины ТЕАС практически не отличаются: 1,61 и 1,58, для (I) и (II), соответственно.

Так как способность к участию в окислительно-восстановительных реакциях является одним из важнейших проявлений антиоксидантных свойств, основные оценочные параметры антиоксидантной активности МСДКВ были получены методом циклической вольтамперометрии.

Циклические вольтамперограммы МСДКВ, ДКВ и янтарной кислоты представлены на рисунке 1.

Из приведенных вольтамперограмм следует, что янтарная кислота не имеет характеристичных пиков тока в исследованной области потенциалов и, таким образом, электрохимической активности не проявляет. Электрохимическое поведение МСДКВ подобно поведению ДКВ, на что указывает форма и положение катодных и анодных пиков тока на кривых 1 и 2, однако величина тока в пиках окисления и восстановления ДКВ выше, чем у МСДКВ. Общее снижение величины тока на вольтамперограммах 1 и 2 при многократном циклировании незначительно и может быть связано как с изменениями параметров поверхности рабочего электрода, так и с частичной блокировкой поверхности электрода продуктами окисления исследованных веществ. В то же время наиболее характерной электрохимической особенностью МСДКВ, безусловно, является рост катодного тока на кривой 2 в области потенциалов  $E \sim -50 \div 150 \text{ мВ}$  и сопутствующее ему увеличение анодного тока в этой же области потенциалов, особенно заметное на фоне остальных приведенных на рисунке вольтамперограмм. Отсутствующий на всех остальных вольтамперограммах, этот подъем тока может свидетельствовать о возникновении еще одной редокс-пары, характерной только для МСДКВ и не проявляющейся при окислительно-восстановительных превращениях составных частей этого синтетического производного.

Анализ влияния скорости развертки потенциала на величину и положение редокс пиков широко применяется в методе циклической вольтамперометрии и позволяет, в частности, оценить электрохимическую обратимость исследуемых процессов [11]. В случае МСДКВ с ростом скорости развертки потенциала общий вид вольтамперограмм и положение пиков окисления-восстановления не претерпевают принципиальных изменений по сравнению с кривой, измеренной при  $v = 20 \text{ мВ/с}$  (рис. 1). При этом, однако, наблюдается рост величины  $\Delta E = E_p^a - E_p^k$  (где  $E_p^a$  и  $E_p^k$  – потенциалы анодного и катодного пиков, соответственно), пропорциональное возрастанию скорости развертки потенциала. Такая зависимость характерна для квазиобратимых процессов, и в этом, вероятно, проявляется еще одно отличие МСДКВ от его природного аналога, для которого в исследованной области потенциалов была предложена схема электрохимически обратимых окислительно-восстановительных превращений [5].

Из представленных на рисунке 2 зависимостей высоты пиков тока окисления и восстановления МСДКВ от скорости развертки потенциала следует, что окислительно-восстановительные превращения МСДКВ на графитовом электроде в исследуемых условиях имеют сложный характер и не отвечают ни одной из классических схем кинетического описания вольтамперометрических измерений [12]. Более того, симметричность представленных зависимостей исключает даже возможные предположения о превалировании одного механизма над другим, так как и кривые 1 и 2, и кривые 3 и 4 примерно в равной степени далеки от линейности. Таким образом, можно лишь предполагать одновременное влияние на процесс диффузии молекул МСДКВ из раствора к поверхности рабочего электрода и кинетического переноса электронов с участием молекул МСДКВ и, возможно, продуктов их редокс-превращений, находящихся непосредственно на электроде или в ближнем приэлектродном пространстве.

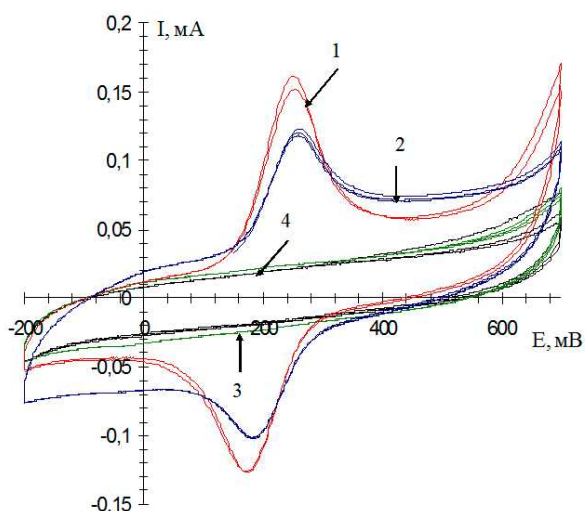


Рис. 1. Циклические вольтамперограммы, измеренные на графитовом электроде в растворах: 1 – ДКВ; 2 – МСДКВ; 3 – янтарной кислоты и 4 – в 0,1 М фосфатном буферном растворе; рН 7,0, концентрации исследованных веществ –  $10^{-3}$  М,  $v = 20$  мВ/с

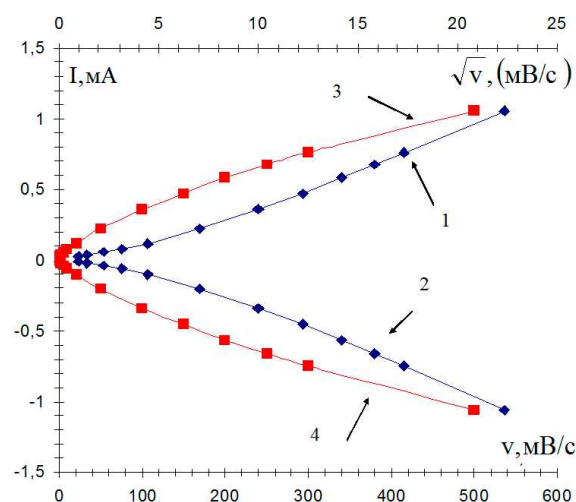


Рис. 2. Зависимость величины тока в катодных (1, 3) и анодных (2, 4) пиках на вольтамперограммах МСДКВ от: 1, 2 – корня квадратного из скорости развертки потенциала, 3, 4 – скорости развертки потенциала в первой степени

### Выводы

1. Новое синтезированное производное природного антиоксиданта дигидрокверцетина – его моносукцинат, имея серьезное преимущество перед исходным соединением – более высокую растворимость в воде по сравнению с ДКВ, сохраняет при этом антиоксидантные свойства последнего, что подтверждается ТЕАС-методом определения антиоксидантной активности и данными вольтамперометрических измерений.

2. Окислительно-восстановительные превращения моносукцината дигидрокверцетина на графитовом электроде, подтверждая его антиоксидантную активность, имеют при этом сложную природу, понимание которой позволит регулировать формальные электрохимические показатели редокс-активности МСДКВ для конкретных условий и сред.

### Список литературы

1. Интернет-версия Государственного реестра лекарственных средств. URL: <http://www.drugreg.ru/Bases/WebReestrQuery.asp> (дата обращения 03.05.2012).
2. Плотников М.Б., Тюкавкина Н.А., Плотникова Т.М. Лекарственные препараты на основе диквертина. Томск, 2005. 228 с.
3. Патент 2088256 (РФ). Средство для комплексной терапии заболеваний «Диквертин» и способ его получения / Н.А. Тюкавкина, В.А. Хуторянский, М.Ю. Сайботалов, Б.Н. Баженов, В.К. Колхир, И.А. Руленко, Ю.А. Колесник. 1997.
4. Patent 2167414A (UK). Silibinin derivatives / R. Braatz, K. Gorler, G. Halbach, H. Soicke, K. Schmidt. 1986.

5. Janeiro P., Conduneanu O., Brett A.M.O. Chrysin and ( $\pm$ ) – Taxifolin electrochemical oxidation mechanisms // *Electroanalysis*. 2005. Vol. 17, N12. Pp. 1059–1064.
6. Saito A., Sugisawa A., Umegaki K. Comparison of photometric, electrochemical and post-column fluorescence detection for the determination of flavonoids by HPLC // *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*. 2001. Vol. 42, N3. Pp. 174–178.
7. Jørgensen L., Madsen H., Thomsen M., Dragsted L., Skibsted L. Regeneration of phenolic antioxidants from phenoxyl radicals: an ESR and electrochemical study of antioxidant hierarchy // *Free Radical Research*. 1999. Vol. 30, N3. Pp. 207–220.
8. Матвеев Д.А., Арбузова Е.А., Крайкивский П.Б., Апрелькова Н.Ф., Хуторянский В.А., Крюкова К.М. Электрохимическое восстановление дигидрокверцетина на ртутном электроде // *Электрохимия*. 2011. Т. 47, №9. С. 1096–1102.
9. Финкельштейн Б.Л., Даниловцева О.С., Баженов Б.Н., Сайботалов М.Ю. Синтез водорастворимых производных дигидрокверцетина и янтарной кислоты и их антиоксидантная активность // Биотехнология растительного сырья, качество и безопасность продуктов питания: материалы докладов Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 80-летию ИргТУ. Иркутск, 2010. С. 79–83.
10. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay // *Free Radicals Biol. Med.* 1999. Vol. 26. Pp. 1231–1237.
11. Brett C.M.A., Brett A.M.O. *Electrochemistry: Principles, Methods and Applications*. Oxford, 1993. Pp. 174–198.
12. Compton R.G., Banks C.E. *Understanding Voltammetry*. London, 2011. Pp. 107–152.

*Поступило в редакцию 22 мая 2012 г.*

*После переработки 21 ноября 2012 г.*

*Bazhenov B.N., Eliseeva G.D., Zolotarev E.E., Kashevskii A.V., Safronov A.Y.\**, Finkelshtein B.L. THE ANTIOXIDANT AND ELECTROCHEMICAL PROPERTIES OF THE NOVEL WATER SOLUBLE BIOFLAVONOID DERIVATIVE – DIHYDROQUERCETIN MONOSUCCINATE

*Irkutsk State University, ul. K. Marksa, 1, Irkutsk, 664003 (Russia), e-mail: dean@chem.isu.ru*

The native antioxidant dihydroquercetin has a wide spectrum of pharmacological properties, however its low solubility make sense for getting the water soluble derivatives maintaining a high antioxidant activity. A possible strategy to get this result could be a hydrophilic moiety (such as succinic acid residue) insertion into the flavonoid molecule. Being more soluble in water the novel synthetic derivative of the bioflavonoid – dihydroquercetin monosuccinate maintains a high antioxidant activity confirmed by means of TEAC method and the voltammetry data. Dihydroquercetin monosuccinate redox transformations on a graphite electrode proving the high antioxidant activity of the studied compound, at the same time demonstrate a complex character. Better understanding of this character is a possible way to the dihydroquercetin monosuccinate redox parameters control under different conditions and/or in the different environments.

*Keywords:* dihydroquercetin monosuccinate, antioxidant activity, cyclic voltammetry.

#### **References**

1. *Internet-versiia Gosudarstvennogo reestra lekarstvennykh sredstv*. [Internet-version of the State register of medicines]. URL: <http://www.drugreg.ru/Bases/WebReestrQuery.asp>. (in Russ.).
2. Plotnikov M.B., Tiukavkina N.A., Plotnikova T.M. *Lekarstvennye preparaty na osnove dikvertina*. [Medications based on Diquertin.]. Tomsk, 2005. 228 p. (in Russ.).
3. Patent 2088256 (RU). 1997. (in Russ.).
4. Patent 2167414A (UK). 1986.

---

\* Corresponding author.

5. Janeiro P., Conduneanu O., Brett A.M.O. *Electroanalysis*, 2005, vol. 17, no. 12, pp. 1059–1064.
6. Saito A., Sugisawa A., Umegaki K. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, 2001, vol. 42, no. 3, pp. 174–178.
7. Jørgensen L., Madsen H., Thomsen M., Dragsted L., Skibsted L. *Free Radical Research.*, 1999, vol. 30, no. 3, pp. 207–220.
8. Matveev D.A., Arbuzova E.A., Kraikovskii P.B., Aprelkova N.F., Khutorianskii V.A., Kriukova K.M. *Elektrokhimiia*, 2011, vol. 47, no. 9, pp. 1096–1102. (in Russ.).
9. Finkel'shtein B.L., Danilovtseva O.S., Bazhenov B.N., Saibotalov M.Iu. *Biotekhnologiiia rastitel'nogo syr'ia, kachestvo i bezopasnost' produktov pitaniia: materialy dokladov Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posviashchennoi 80-letiiu IrGTU*. [Biotechnology of plant material, the quality and safety of food products: Materials of All-Russian scientific-practical conference dedicated to the 80th anniversary of Irkutsk State Technical University]. Irkutsk, 2010, pp. 79–83. (in Russ.).
10. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. *Free Radicals Biol. Med.*, 1999, vol. 26, pp. 1231–1237.
11. Brett C.M.A., Brett A.M.O. *Electrochemistry: Principles, Methods and Applications*, Oxford, 1993, pp. 174–198.
12. Compton R.G., Banks C.E. *Understanding Voltammetry*, London, 2011, pp. 107–152.

*Received May 22, 2012*

*Revised November 21, 2012*