

Низкомолекулярные соединения

УДК 543.544:543.80:543.42:547.572.3:546.56

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОВ СИНТЕЗА, СТРОЕНИЯ И СВОЙСТВ КОМПЛЕКСОВ ФЛАВОНОИДОВ С ИОНАМИ МЕТАЛЛОВ. СООБЩЕНИЕ 3. ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ РЕАКЦИИ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ МЕДИ (II) С ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНОМ В ВОДНОЙ СРЕДЕ*

© Н.Н. Трофимова**, Е.В. Столповская, В.А. Бабкин

*Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского Сибирского отделения
Российской академии наук (ИрИХ СО РАН), ул. Фаворского, 1, Иркутск,
664033 (Россия), e-mail: natrof@irioch.irk.ru*

Целью работы явилось изучение кинетики реакции комплексообразования ионов меди (II) с (+)-2,3-дигидро-3,5,7-тригидрокси-2-(3,4-дигидроксифенил)-4Н-1-бензопиран-4-оном (дигидрокверцетином (ДКВ)) в водной среде при образовании комплексного соединения (КС) со стехиометрическим соотношением металл : флавоноидный лиганд (М : Fl) 1 : 1. Установлено, что соотношение М : Fl в составе комплексного соединения определяется после пятой минуты реакции и остается без значительных изменений в течение 60 мин (до конца проведения эксперимента). Реакция протекает быстро, в первые 15 минут синтеза образуется основная масса продукта.

Ключевые слова: комплексообразование, комплексные соединения, дигидрокверцетин, ионы меди (II), кинетика реакции.

Введение

Интерес к изучению реакций флавоноидов с ионами металлов отчасти объясняется особой биологической ролью отдельных металлических комплексов флавоноидов, способных выступать в роли «ловушек» свободных радикалов благодаря их антиоксидантной активности [1, 2], но сами механизмы комплексообразования флавоноидов с металлами, в том числе с ионами меди, и вопросы структурного освещения КС остаются недостаточно исследованными [2–8]. В ряде случаев это связано с отсутствием возможности определения молекулярной структуры комплексного соединения прямыми методами (РСА) из-за плохой растворимости флавоноидных металлопроизводных и получения вещества в кристаллическом состоянии. По этой же причине не всегда возможно использование метода спектрофотометрического титрования для определения стехиометрического соотношения М : Fl в составе КС [9, 10].

КС на основе ионов меди (II) и ДКВ, полученное нами ранее [11], нерастворимо в воде и органических растворителях, что затрудняет применение вышеперечисленных методов исследования для установления его строения. Однако изучение кинетики реакции образования КС в совокупности с данными физико-химических исследований (элементного анализа, термogravиметрии и некоторых других) позволяет достаточно надежно охарактеризовать стехиометрическое соотношение центрального иона и флавоноидного лиганда в структуре исследуемого соединения.

Трофимова Наталья Николаевна – старший научный сотрудник лаборатории химии древесины, кандидат химических наук, тел.: (395-2) 51-14-27, e-mail: natrof@irioch.irk.ru, natrof@inbox.ru
Столповская Елена Владимировна – инженер лаборатории химии древесины, тел.: (395-2) 51-14-27
Бабкин Василий Анатольевич – заведующий лабораторией химии древесины, доктор химических наук, профессор, тел./факс: (3952) 51-14-27, e-mail: babkin@irioch.irk.ru

* Предыдущие сообщения [11, 12].

** Автор, с которым следует вести переписку.

В данной работе изучена кинетика реакции взаимодействия ацетата меди с дигидрокверцетином в водном растворе при температуре кипения водяной бани. Проведение реакции в водной среде предопределяет экологическую безопасность эксперимента ввиду отсутствия токсичных и пожароопасных органических растворителей, соответствует требованиям безопасности, предъявляемым к производству медицинских и пищевых препаратов.

Экспериментальная часть

Общие методы. УФ-спектры получали на спектрофотометре СФ-26, в кюветах $l=1,0$ см и $l=5,0$ см. рН-Метрию проводили на приборе «Эксперт-рН» (ООО «Эконикс-Эксперт», Москва) с использованием электрода стеклянного комбинированного ЭСК-10601 и температурного датчика ТДС-3. Рентгеновский энергодисперсионный микроскопический анализ (РЭДМА) выполнен с помощью электронного микроскопа фирмы Hitachi марки ТМ 3000, датчик: X-ray детектор SDD XFlash 430-H.

Общие методы и условия синтезов соединений представлены в [11].

Построение градуировочного графика для ДКВ, а также спектрофотометрическое определение содержания ДКВ в анализируемом растворе проводили аналогично [12].

Построение градуировочного графика для спектрофотометрического определения содержания ионов меди в анализируемом растворе. Для построения градуировочного графика были приготовлены эталонные растворы, концентрации ионов меди в которых составляли 0,04; 0,08; 0,12; 0,16 и 0,20 мг/мл. Для этого в мерные колбы емкостью 50 мл отмеряли 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 и 10,0 мл стандартного раствора ионов меди, добавляли по 10 мл раствора аммиака (1 : 1), доводили до метки дистиллированной водой и перемешивали.

Оптическую плотность приготовленных эталонных растворов измеряли через 5–7 мин после приготовления в максимуме поглощения при 590 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 0,5 см, начиная с минимальной концентрации.

По полученным значениям строили график зависимости $D=f(C)$. Уравнение зависимости имеет вид: $y=2,0455x$; $R^2=0,9916$.

Определение содержания иона меди в анализируемом растворе. Содержание иона меди (II) в анализируемом растворе в виде аммиачного комплексного соединения определяли спектрофотометрическим методом. В мерную колбу емкостью 50 мл отбирали аликвоту анализируемого раствора 1 мл, прибавляли 10 мл раствора аммиака 1 : 1, доводили водой до метки и тщательно перемешивали. Оптическую плотность полученных растворов измеряли на спектрофотометре в максимуме поглощения при 590 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 0,5 мм. По градуировочному графику определяли концентрацию иона меди (мг/мл) и рассчитывали содержание (мг) меди в анализируемом растворе по формуле

$$m(\text{Cu}^{2+})=C(\text{Cu}^{2+}) \cdot V_{\text{общ}} \cdot 50/V_{\text{ал}} \cdot 1000,$$

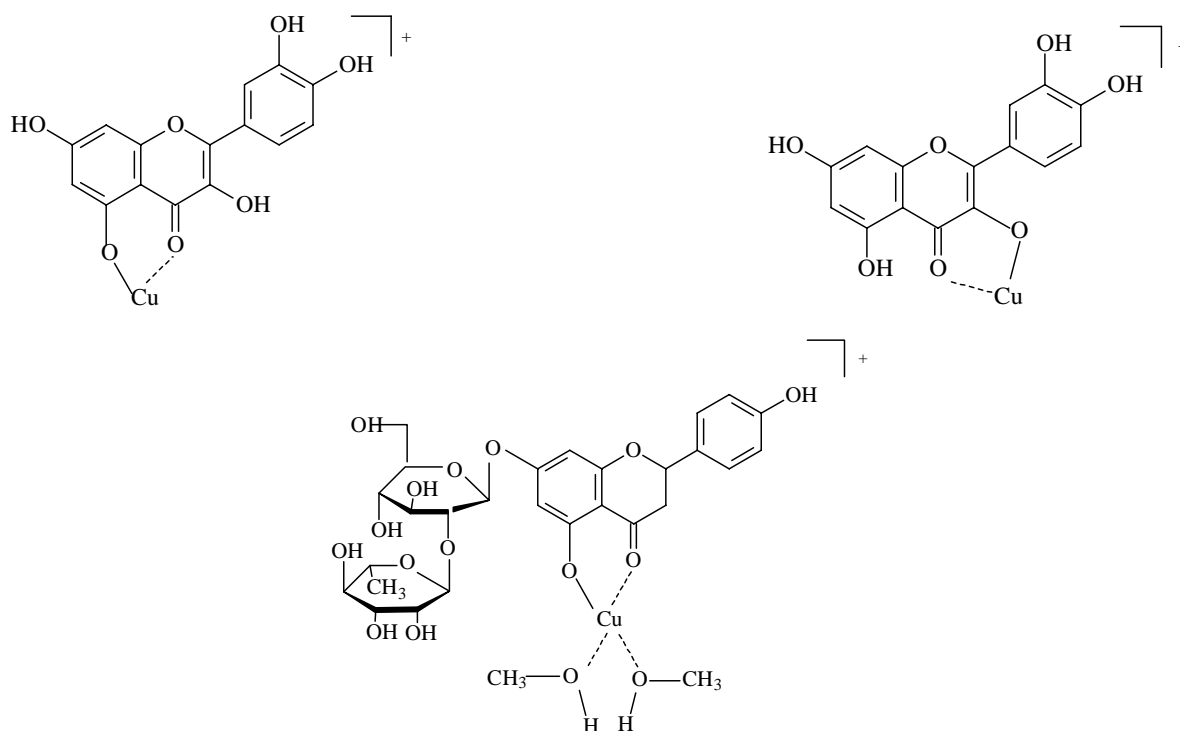
где $C(\text{Cu}^{2+})$ – концентрация ионов меди, мг/мл, $V_{\text{общ}}$ – объем анализируемого раствора, мл, $V_{\text{ал}}$ – объем аликвоты, мл.

Для определения скорости реакции образования медного комплекса дигидрокверцетина в разные моменты времени использовалось уравнение:

$$v=\Delta C/\Delta t=(C_0-C_i)/(t_i-t_0).$$

Обсуждение результатов

Основной биологической функцией меди в организме является ее участие в ферментативном катализе, где этот металл служит активатором многих жизненно важных реакций и входит в состав ферментов, катализирующих реакции биологического окисления [13]. Биологически доступной медь может быть в двух состояниях окисления: Cu(I) и Cu(II) с выраженными изменениями в координационной сфере [14]. При взаимодействии ионов меди (II) с флавоноидами медь в качестве комплексообразователя дает устойчивые флавоноидные комплексы. Лигандами могут быть как депротонированный флавоноид (Fl-H^+), так и другие анионы, присутствующие в реакционном растворе, а также вода или молекулы органических растворителей, например [3, 6–8]:



В литературе описаны синтезы комплексных соединений на основе ионов меди (II) с использованием в качестве органических лигандов доступных флавоноидов, таких как дигидрокверцетин, кверцетин, морин, нарингенин, лютеолин, кемпферол и некоторые другие. Условия реакции варьировались по температуре, pH, соотношению исходных реагентов и растворителям (реакционной среде). Оптимизация среды прежде всего связана с различной растворимостью флавоноидов в воде и органических растворителях. Так, в водной среде проводились реакции с ДКВ, кверцетином и морином [3–5], с нарингином в спиртовой среде [6, 7]. Реакции с лютеолином, кемпферолом, кверцетином, мирицетином, нарингенином и катехином проводились в водно-спиртовой среде [8].

Синтезированное нами медное производное дигидрокверцетина по данным спектроскопии ЭПР является комплексным соединением, в котором Cu^{2+} включен в координационную сферу в качестве центрального иона с квадратно-плоскостной геометрией [15].

Для определения стехиометрического соотношения Cu^{2+} и $(\text{ДКВ}-\text{H}^+)^-$ в составе комплексного соединения, полученного в водной среде в течение 1 ч при температуре кипения водяной бани, проведен мониторинг изменения содержания меди (II) и ДКВ в реакционной смеси (рис. 1). Соотношение исходных Cu^{2+} и ДКВ 2 : 1, т.е. использован двукратный избыток меди для уменьшения потери дигидрокверцетина и получения максимального выхода продукта.

Характер изменения кривых содержания ДКВ и ионов меди (II) в растворе в ходе реакции носит согласованный характер, что указывает на образование КС с определенным стехиометрическим соотношением $\text{M} : \text{Fl}$.

Для определения стехиометрического соотношения Cu^{2+} и $(\text{ДКВ}-\text{H}^+)^-$ в составе КС на основании данных расходования исходных реагентов в данный момент времени были получены расчетные данные по составу КС (табл. 1).

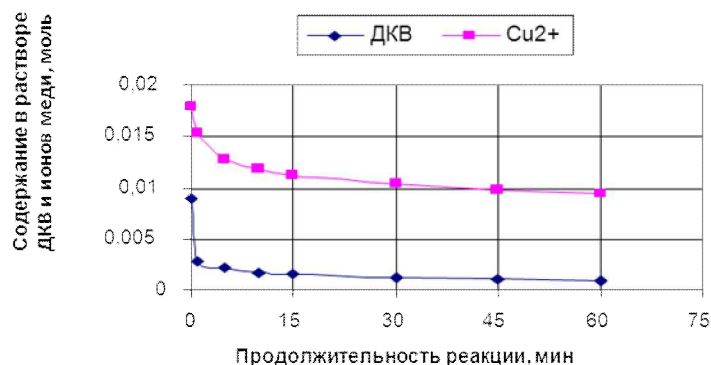


Рис. 1. Кривые изменения содержания ДКВ и ионов меди (II) в растворе в ходе реакции

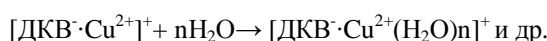
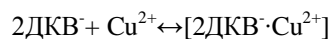
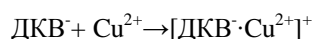
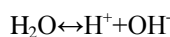
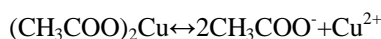
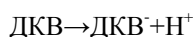
Таблица 1. Рассчитанные количества Cu^{2+} и $(\text{ДКВ}-\text{H}^+)^-$ ($\times 10^{-3}$ моль) в составе комплексного соединения

Время, мин	Cu^{2+} , моль	$\text{ДКВ}-\text{H}^+$, моль
1	2,7	6,1
5	5,2	6,8
10	6,2	7,2
15	6,8	7,4
30	7,6	7,7
45	8,2	7,9
60	8,6	8,0

В первую минуту синтеза мольное соотношение $\text{M} : \text{Fl}$ в составе КС близко к соотношению 1 : 2. Далее до пятой минуты синтеза это соотношение $\text{M} : \text{Fl}$ меняется с 1 : 2,2 до 1 : 1,2 моль. После пятой минуты синтеза соотношение Cu^{2+} и $(\text{ДКВ}-\text{H}^+)^-$ в составе комплекса устанавливается близким к 1 : 1 и остается без значительных изменений до конца проведения синтеза в условиях данного эксперимента (60 мин). Основная масса продукта (82,2%) образуется в первые 15 мин синтеза, а общий выход продукта составил 80,9%.

Полученные результаты свидетельствуют об образовании КС со стехиометрическим соотношением центрального иона и депротонированного флавоноида $(\text{ДКВ}-\text{H}^+)^-$ 1 : 1, вероятно, более устойчивого в данных условиях реакции. Соединение с соотношением $\text{M} : \text{Fl}$ 1 : 2, образующееся в первую минуту реакции, вероятно, менее устойчиво и претерпевает диссоциацию с отщеплением и/или замещением второго лиганда на воду.

В рассматриваемых нами условиях синтеза комплексного соединения из дигидрокверцетина и ацетата меди возможно протекание следующих реакций:



Включение в координационную сферу меди в качестве возможного второго лиганда воды следует из данных термогравиметрического анализа (ТГА) комплексного соединения меди с ДКВ в совокупности с данными количественного определения содержания меди. Расчет количества прочно связанной воды в составе комплексного соединения произведен на основании термогравиметрии по убыли массы образца при его нагревании в интервале температур от 25 до 600 °С. Так, наличие эндотермического пика при 248,5 °С свидетельствует о содержании прочно связанной воды, по элиминированию которой определено мольное содержание воды в составе КС, равное 1.

Содержание элементов в образцах КС, определенное по данным элементного анализа и РЭДМА (табл. 2), подтверждает структуру КС со стехиометрическим соотношением $\text{M} : \text{Fl}$ 1 : 1, в состав которого входит 1 молекула воды.

Известно, что большинство реакций комплексообразования относятся к быстрым реакциям. Изучены реакции образования комплексов переходных металлов с кверцетином и морином и отмечены их высокие скорости, а также устойчивость полученных соединений [16, 17].

Результаты определения скорости реакции образования медного комплекса дигидрокверцетина в разные моменты времени реакции представлены на рисунке 2.

Характер кривой, показывающий резкое уменьшение скорости реакции после первой минуты синтеза и практически постоянную скорость с пятнадцатой до последней минуты эксперимента, показывает, что изучаемую реакцию можно отнести к быстрым реакциям.

Таблица 2. Данные элементного анализа и РСЭДМА для комплексного соединения

Образцы КС	Содержание в образце, %					
	Элементный анализ			РСЭДМА		
	С	Н	Сu	С	О	Сu
1	46,2	3,5	16,7	47,5	38,7	16,9
2	45,6	3,5	17,4	45,6	39,0	17,5

Важным фактором, оказывающим влияние на реакцию комплексообразования металлов с флавоноидами в водной среде, является рН.

Поскольку дигидрокверцетин, обладая свойствами слабой органической кислоты, вступает в реакцию комплексообразования в депротонированной форме, следует ожидать некоторого снижения значения рН реакционного раствора. Действительно, наблюдение за изменением рН раствора в ходе реакции показывает такое снижение рН от 4,8 до 4,2 с первой до 45 мин эксперимента (рис. 3).

При этом максимальное уменьшение рН наблюдается в первые 5 мин реакции, что хорошо согласуется с представленным выше предположением об установлении стехиометрического состава КС к пятой минуте синтеза (табл. 1).

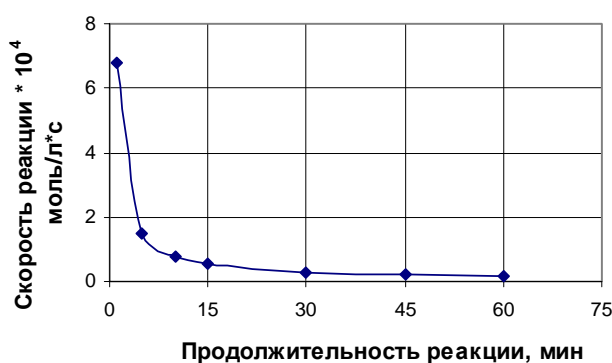


Рис. 2. Изменение скорости реакции образования медного комплекса ДКВ во времени

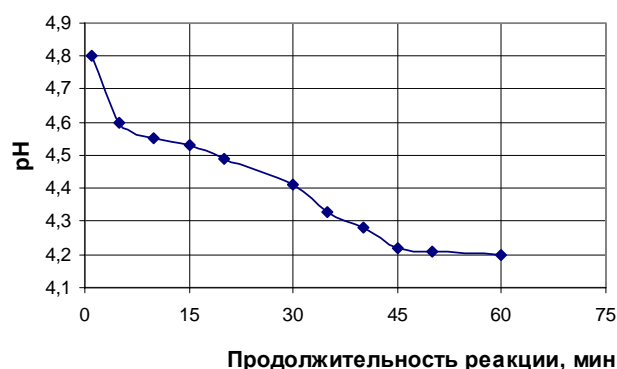


Рис. 3. Зависимость рН реакционного раствора от продолжительности реакции

Выводы

Изучена кинетика реакции комплексообразования ионов меди (II) с 2,3-дигидро-3,5,7-тригидрокси-2-(3,4-дигидроксифенил)-4H-1-бензопиран-4-оном (дигидрокверцетином (ДКВ)) в водной среде. Показано, что стехиометрическое соотношение М : Fl – 1 : 1 в составе комплексного соединения при взаимодействии ацетата меди и дигидрокверцетина в водной среде определяется после пятой минуты синтеза и остается без значительных изменений до конца реакции.

Список литературы

1. Костюк В.А., Потапович А.И. Биорадикалы и биоантиоксиданты. Минск, 2004. 174 с.
2. Malesev D., Kuntic V. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via flavonoid complexing reactions (review) // J. Serb. Chem. Soc. 2007. Vol. 72, N10. Pp. 921–939.
3. Мельникова Н.Б., Иоффе И.Д., Царева Л.А. Взаимодействие биофлавоноидов с ацетатом меди (II) в водном растворе // Химия природных соединений. 2002. №1. С. 26–31.
4. Мельникова Н.Б., Иоффе И.Д. Взаимодействие дигидрокверцетина с ионами металлов в водных растворах их солей и в изотонических медицинских средах // Химия растительного сырья. 2001. № 4. С. 25–33.
5. Желтоухова Е.П., Ковальчукова О.В., Зайцев Б.Е., Страшнова С.Б. Комплексные соединения некоторых металлов с кверцетином // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: мат. IV Всерос. научн. конф. Барнаул, 2009. Книга 2. С. 217–218.
6. Mello L.D., Pereira R.M.S., Sawaya A.C.H.F., Eberlin M.N., Kubota L.T. Electrochemical and spectroscopic characterization of the interaction between DNA and Cu(II)-naringin complex // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2007. N45. Pp. 706–713.
7. Pereira R.M.S., Andrades N.E.D., Paulino N., Sawaya A.C.H.F., Eberlin M.N., Marcucci M.C., Favero G.M., Novak E.M. and Bydowski S.P. Synthesis and Characterization of a Metal Complex Containing Naringin and Cu, and its Antioxidant, Antimicrobial, Antiinflammatory and Tumor Cell Cytotoxicity // Molecules. 2007. N12. Pp. 1352–1366.

8. Fernandes M.T., Mira M.L., Florencio M.H., Jennings K.R. Iron and copper chelation by flavonoids: an electrospray mass spectrometry study // *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2002. N92. Pp. 105–111.
9. Porter L.J., Markham K.R. The Aluminium (III) Complexes of Hydroxyflavones in Absolute Methanol. Part I. Ligands containing only One Chelating Site // *J. Chem. Soc.* 1970. Pp. 344–349.
10. Porter L.J., Markham K.R. The Aluminium (III) Complexes of Hydroxyflavones in Absolute Methanol. Part II. Ligands containing More than One Chelating Site // *J. Chem. Soc.* 1970. Pp. 1309–1313.
11. Трофимова Н.Н., Бабкин В.А., Вакульская Т.И., Чупарина Е.В. Исследование методов синтеза, строения и свойств комплексов флавоноидов с ионами металлов. Сообщение 1. Синтез и установление строения комплексов и солей дигидрокверцетина с цинком, медью (II) и кальцием в водных растворах // *Химия растительного сырья*. 2012. №2. С. 51–62.
12. Трофимова Н.Н., Столповская Е.В., Бабкин В.А. Исследование методов синтеза, строения и свойств комплексов флавоноидов с ионами металлов. Сообщение 2. Оптимизация реакции комплексообразования цинка с дигидрокверцетином в водной среде // *Химия растительного сырья*. 2013. в печати.
13. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементы человека (этиология, классификация, органопатология). М., 1991. 496 с.
14. Биометаллоорганическая химия. Ред. Ж. Жауэн; пер с англ. (под редакц. Е.Р. Милаевой). М., 2012. 494 с.
15. Gonzalez-Alvarez M., Alzuet G., Borrás J., Macías B., del Olmo M., Liu-Gonzalez M., Sanz F. Nuclease activity of [Cu(sulfathiazolato)2benzimidazole]2MeOH. Synthesis, properties and crystal structure // *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2002. Vol. 89. Pp. 29–35.
16. Макашев Ю.А., Шаронов В.П., Миронов В.Е., Макашева И.Е., Блохин В.В. О скоростях образования кверцетиновых и мориновых комплексов переходных металлов // *Журнал общей химии*. 1975. Т. 45, №12. С. 2748.
17. Макашев Ю.А., Шаронов В.П., Грачев С.А., Миронов В.Е., Макашева И.Е. Кинетика комплексообразования некоторых переходных металлов с кверцетином и морином // *Известия АН СССР. Сер. Химическая*. 1976. С. 907–909.

Поступило в редакцию 1 августа 2013 г.

После переработки 25 сентября 2013 г.

Trofimova N.N.* , Stolpovskaya E.V., Babkin V.A. THE STUDY OF SYNTHESIS, STRUCTURE AND PROPERTIES OF FLAVONOID COMPLEXES WITH METAL IONS. 3. THE STUDY OF KINETICS OF COMPLEXATION COPPER (II) WITH DIHYDROQUERCETIN IN AQUEOUS SOLUTIONS

A.E. Favorsky Institute of Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Favorsky St. 1, Irkutsk, 664033 (Russia), e-mail: natrof@irioch.irk.ru

The aim of this investigation was to kinetics study of the complexation copper (II) with dihydroquercetin (DHQ) in aqueous solutions with formation of complex with the stoichiometric ratio of metal to ligand flavonoid (M : Fl) 1 : 1. It was found that the stoichiometric ratio of M : Fl in the complex is determined after the fifth minutes of reaction and remains a without significant change for 60 minutes (until the end of the experiment). The reaction proceeds rapidly in the first 15 minutes of synthesis formed the bulk of the product.

Keywords: dihydroquercetin, complex formation, flavonoids, copper ions, kinetics of the reaction.

References

1. Kostiuk V.A., Potapovich A.I. *Bioradikaly i bioantioksidanty*. [Bioradicals and bioantioxidants.]. Minsk, 2004, 174 p. (in Russ.).
2. Malesev D., Kuntic V. *J. Serb. Chem. Soc.*, 2007, vol. 72, no. 10, pp. 921–939.
3. Mel'nikova N.B., Ioffe I.D., Tsareva L.A. *Khimiia prirodnykh soedinenii*, 2002, no. 1, pp. 26–31. (in Russ.).
4. Mel'nikova N.B., Ioffe I.D. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2001, no. 4, pp. 25–33. (in Russ.).
5. Zheltoukhova E.P., Koval'chukova O.V., Zaitsev B.E., Strashnova S.B. *Novye dostizheniia v khimii i khimicheskoi tekhnologii rastitel'nogo syr'ia: mat. IV Vseros. nauchn. konf.* [New advances in chemistry and chemical engineering plant materials: Materials of the IV Scientific Conference.]. Barnaul, 2009, Part 2, pp. 217–218. (in Russ.).
6. Mello L.D., Pereira R.M.S., Sawaya A.C.H.F., Eberlin M.N., Kubota L.T. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2007, no. 45, pp. 706–713.
7. Pereira R.M.S., Andrades N.E.D., Paulino N., Sawaya A.C.H.F., Eberlin M.N., Marcucci M.C., Favero G.M., Novak E.M., Bydlowski S.P. *Molecules*, 2007, no. 12, pp. 1352–1366.
8. Fernandes M.T., Mira M.L., Florencio M.H., Jennings K.R. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2002, no. 92, pp. 105–111.
9. Porter L.J., Markham K.R. *J. Chem. Soc.*, 1970, pp. 344–349.
10. Porter L.J., Markham K.R. *J. Chem. Soc.*, 1970, pp. 1309–1313.
11. Trofimova N.N., Babkin V.A., Vakul'skaia T.I., Chuparina E.V. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2012, no. 2, pp. 51–62. (in Russ.).
12. Trofimova N.N., Stolpovskaia E.V., Babkin V.A. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2013, no. 3, pp. 91–97. (in Russ.).
13. Avtsyn A.P., Zhavoronkov A.A., Rish M.A., Strochkova L.S. *Mikroelementy cheloveka (etiologiya, klassifikatsiia, organopatologiya)*. [Micronutrients person (etiology, classification, organopathology)]. Moscow, 1991, 496 p. (in Russ.).
14. *Biometalloorganicheskaya khimiia*. Ed. Zh. Zhauen [Biometalloorganicheskaya chemistry]. Moscow, 2012, 494 p. (in Russ.).
15. Gonzalez-Alvarez M., Alzuet G., Borrás J., Macías B., del Olmo M., Liu-Gonzalez M., Sanz F. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2002, vol. 89, pp. 29–35.
16. Makashev Iu.A., Sharonov V.P., Mironov V.E., Makasheva I.E., Blokhin V.V. *Zhurnal obshchei khimii*, 1975, vol. 45, no. 12, pp. 2748. (in Russ.).
17. Makashev Iu.A., Sharonov V.P., Grachev S.A., Mironov V.E., Makasheva I.E. *Izvestiia AN SSSR. Seriya Khimicheskaya*, 1976, pp. 907–909. (in Russ.).

Received August 1, 2013

Revised September 25, 2013

* Corresponding author.

