

Zn(II)-槲皮素螯合机理的 紫外分光光度法研究^①

汤波 许明录 张裕平 许光日^②

(河南科技学院化学化工学院 河南省新乡市华兰大道 453003)

摘 要 采用紫外分光光度法研究 Zn²⁺ 离子与槲皮素在乙醇溶液中形成螯合物量配比及螯合机理。通过定量的槲皮素、山萘酚、柚皮素乙醇溶液与 Zn²⁺ 离子作用,在 426nm 处测其溶液的吸光度,从而确定 Zn²⁺ 离子与槲皮素的螯合比为 2:1。且螯合位置发生在槲皮素分子 3-羟基和 4-羰基上与 3',4'-OH 位置。

关键词 槲皮素; Zn²⁺; 紫外分光光度法

中图分类号: O657.32

文献标识码: A

文章编号: 1004-8138(2009)05-1068-05

1 前言

槲皮素(Quercetin)亦称槲皮素、槲皮黄素,是黄酮醇的一种代表性化合物,其化学名为 3,3',4',5,7-五羟基黄酮(3,3',4',5,7-Pentahydroxyflavone)。槲皮素进入体内可以与蛋白质发生相互作用,具有扩张冠状血管,降低血脂,抗血小板聚集,抗炎、抗过敏等多种生物活性及药理作用,中药配位化学是一门新兴的边缘科学。该学说认为:中药的有效成分不单纯是有机分子,也不单纯是微量元素,而是二者组成的配位化合物^[1,2]。槲皮素是在自然界中最常见的黄酮类化合物^[3,4]。由于槲皮素有抗氧化性且是常见的类黄酮,其在生物学和药学上的性能已经广泛的引起许多学者注意^[5]。虽然多羟基类黄酮能接受活性自由基,但是金属与之形成的配合物能提高其活性。槲皮素与自由基起抗氧化作用,同时也能与金属发生配合。槲皮素抗氧化过程中与金属离子接合在一起。如: Fe²⁺、Fe³⁺、Cu²⁺ 等离子存在的情况下,它们的抗氧化清除自由基的能力有所提高。黄酮类化合物在生物体的适应性与大多数金属的毒性方面起着至关重要的作用。槲皮素有三个活性点:分别是 3 羟基位,4 羰基位和 3',4'-二羟基位^[6]。槲皮素在用分光光度法测定之前,也能用荧光光度法测定它与金属离子形成的螯合物。槲皮素与金属的螯合物在光的激发下会有荧光反应,利用这个反应可以用来测定痕量的金属^[7]。目前工作就是:(1) 研究槲皮素分子和 Zn²⁺ 离子成螯合物时的化学计量关系。(2) 图 1 中三种物质分子结构表明,山萘酚、柚皮素分别在 3'位与 3,3'位比槲皮素少羟基。因此通过测定槲皮素(图 1.1)、山萘酚(4',5,7-三羟基黄酮醇图 1.2)和柚皮素(4',5,7-三羟基黄酮醇图 1.3)和 Zn²⁺ 离子形成络合物时吸光度变化来快速简捷地确定槲皮素与 Zn²⁺ 离子螯合位置。

① 河南省高校新世纪优秀人材资助课题(2006HANCET-01)

② 联系人,手机:(0)13462204464;E-mail:xugr@hist.edu.cn

作者简介:汤波(1980—),男,河南省焦作市人,助理实验师,本科,主要从事光谱学、电化学研究工作。

许光日(1970—),男,朝鲜族,吉林省延边市人,教授,博士,主要从事光谱与电化学研究。

收稿日期:2009-03-21;接受日期:2009-04-25

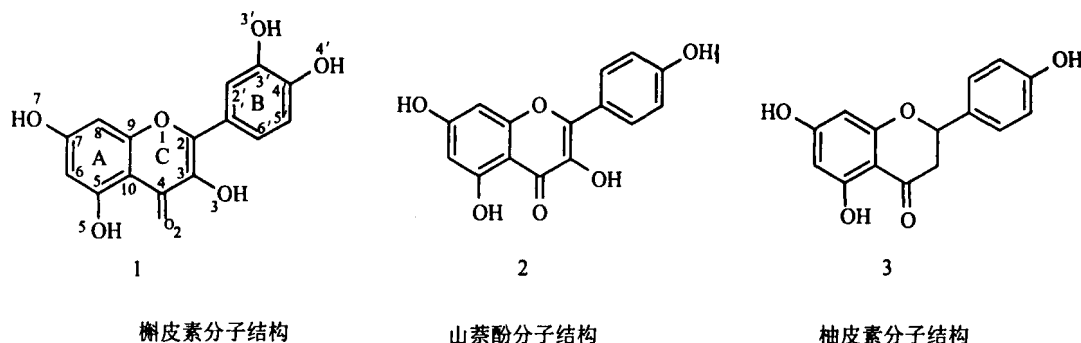


图 1 槲皮素、山萘酚、柚皮素三种物质的分子结构式

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

BS124S 电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);UV-2550 紫外分光光度计(日本岛津公司);SK1200H 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司)。

由于槲皮素、山萘酚、柚皮素(中国药品生物制品检定所)不溶于水,所以将其溶解在分析纯的无水乙醇溶液中。使用试剂分别如下:无水乙醇溶液,醋酸锌溶液浓度是 1.0mmol/L,槲皮素的浓度分别是 25 μ mol/L 和 50 μ mol/L,山萘酚和柚皮素浓度分别为 25 μ mol/L。

2.2 实验方法

分析天平准确称量 0.0151g 槲皮素,0.0143g 山萘酚,0.0136g 柚皮素,分别用无水乙醇溶解并定溶于 50mL 容量瓶中,浓度均为 1mmol/L。使用时再将其稀释成 50 μ mol/L 或 25 μ mol/L。再称量 0.0109g 醋酸锌用二次水溶解定容于 50mL 容量瓶中,浓度为 1.0mmol/L。用分光光度计在 200—600nm 下测量这 3 种物质与形成螯合物时吸收曲线,再定波长 426nm 进行分析。通过对比就可得出槲皮素与 Zn²⁺ 离子螯合位置及量配关系。

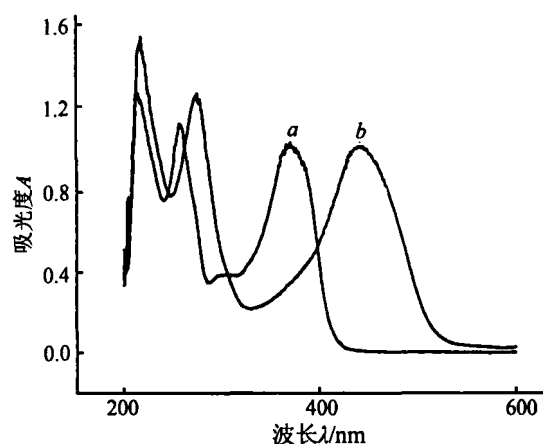
3 结果与讨论

3.1 槲皮素分子与 Zn²⁺ 离子的配位

将过量的 Zn²⁺ 离子与 50 μ mol/L 的槲皮素在乙醇溶液中充分作用,200—600nm 波长下分别扫描槲皮素与螯合物的吸光度随波长变化曲线。图 2 中曲线 a 槲皮素有 2 个主要吸收峰 258nm 与 374nm 处;曲线 b 为形成螯合物时的吸收曲线。426nm 吸收峰表明 Zn²⁺ 离子槲皮素的配位络合物的吸收峰由 374nm 转移到了 426nm。说明槲皮素分子可以与 Zn²⁺ 离子形成络合物。

3.2 槲皮素与 Zn²⁺ 离子形成螯合物化学计量研究

用 25 μ mol/L 槲皮素乙醇溶液分别与不同浓度的 Zn²⁺ 离子进行反应。随着 Zn²⁺ 离子槲皮素混合溶液中 Zn²⁺ 离子浓度增加,溶液吸光度在 374nm 处逐渐减少,而在 427 nm 逐渐增加。当 Zn²⁺ 离子与槲皮素的摩尔比少于 1 时,在 393nm 处出现一个等吸收点,表明二种物质在相互竞争,且生成一种

图 2 50 μ mol/L 槲皮素(曲线 a)及槲皮素与 Zn²⁺ 离子(曲线 b)乙醇混合液的吸收曲线

螯合物。 Zn^{2+} 离子与槲皮素摩尔比达到 2 的时候,吸收光谱增加的很少,几乎没有什么变化如图 3A。槲皮素配位 Zn^{2+} 离子达到饱和的程度,即槲皮素与 Zn^{2+} 离子的配位比是 1 : 2。

图 3B 中 426nm 处吸光度与摩尔比曲线中也可以看到吸光度在接近 1 : 2 的摩尔比时达到最高点,随着 Zn^{2+} 离子浓度增加斜率变化很小,也说明槲皮素与 Zn^{2+} 离子化学计量关系为 1 : 2。

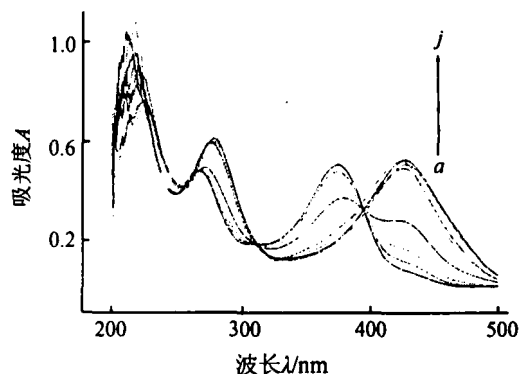


图 3A 不同摩尔比槲皮素与 Zn^{2+} 离子螯合后溶液的吸光曲线

a—j: 10 : 1; 5 : 1; 2 : 1; 1 : 1; 1 : 2; 1 : 3; 1 : 4; 1 : 5; 1 : 6; 1 : 7.

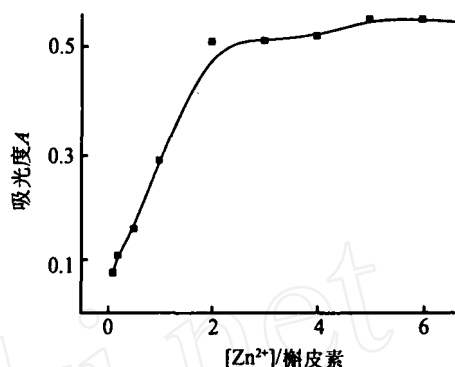


图 3B 螯合物吸光度随摩尔比变化曲线

3.3 槲皮素与 Zn^{2+} 离子配位活性位置研究

由 3.2 得知槲皮素与 Zn^{2+} 离子螯合化学计量比为 1 : 2,通过山萘酚和柚皮素(分子结构见图 1)作为对比研究对象。一个槲皮素分子中含有 5 个羟基官能团,而山萘酚含有 4 个羟基官能团,比槲皮素分子式少一个 3-羟基。而柚皮素比槲皮素少了 3-羟基及 3'-羟基。通过这 2 种物质与 Zn^{2+} 离子形成螯合物的光谱图,确定槲皮素分子结构中 Zn^{2+} 离子螯合的活性位置。

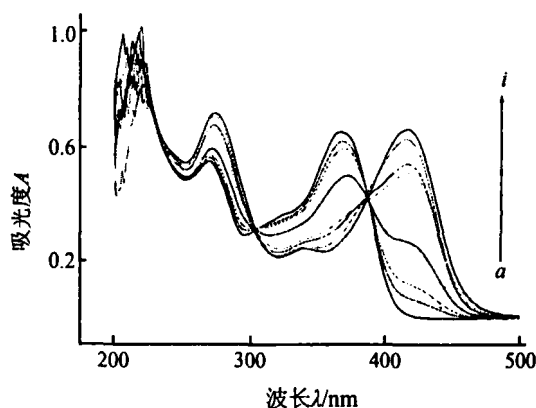


图 4A 不同摩尔比山萘酚与 Zn^{2+} 离子螯合后溶液的吸光曲线

a—i: 10 : 0; 10 : 1; 5 : 1; 2 : 1; 1 : 1; 1 : 2; 1 : 3; 1 : 4; 1 : 5.

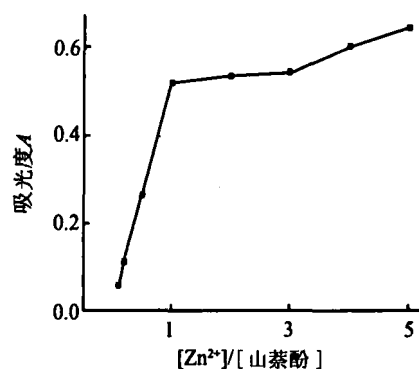


图 4B 螯合物吸光度随摩尔比变化曲线

3.3.1 Zn^{2+} 离子和山萘酚实验

25 $\mu\text{mol/L}$ 山萘酚乙醇溶液用紫外分光光度计在 200—400nm 波长下扫描吸收光谱作为空白来进行对比研究。图 4A 曲线 a 是山萘酚 2 个主要的吸收峰,分别为 275nm、374nm。图 4A 曲线 b—i 分别表示山萘酚与 Zn^{2+} 离子的摩尔比是 10 : 1; 5 : 1; 2 : 1; 1 : 1; 1 : 2; 1 : 3; 1 : 4; 1 : 5 等 8 组不

同浓度的乙醇混合溶液吸光度变化曲线,当摩尔比达到 1:1 时溶液的吸光度基本不变。即在绘制 426nm 处不同摩尔比与吸光度变化曲线量比为 1:1 时斜率变小,表明螯合达到饱和如图 4B。槲皮素分子中的 3',4'-羟基官能团为 Zn^{2+} 离子螯合活性点。

3.3.2 Zn^{2+} 离子和柚皮素实验

用 $25\mu\text{mol/L}$ 的柚皮素乙醇溶液作为对比参照。图 5 中,柚皮素与 Zn^{2+} 离子分别以 1:50; 1:100; 1:200 的摩尔比在乙醇溶液中混合。通过波长扫描混合溶液吸收峰没有发生任何变化。表明槲皮素分子中 3-羟基,4-羰基官能团与 Zn^{2+} 离子发生螯合反应。

实验证明在乙醇溶液中槲皮素与 Zn^{2+} 离子螯合位置为 3-羟基与 4-羰基和 3',4'-二羟基位上的络合力最强。槲皮素络合 Zn^{2+} 离子由于 3',4'-羟基官能团的氧可以提供孤对电子而 Zn^{2+} 离子提供空轨道使羟基官能团与 Zn^{2+} 离子形成配位键;槲皮素分子中 A 环的 3-羟基 4-羰基官能团与 Zn^{2+} 离子的络合机理相同于 B 环的机理。槲皮素 5,7-羟基官能团不与 Zn^{2+} 离子发生络合是因为空间位阻过大的结果,再者羟基与羰基之间存在着强的氢键,所以在 4 位和 5 位以及 5 位和 7 位发生络合生成其他配位络合物的情况非常困难^[8]。

4 结论

利用紫外分光光度法研究结果表明金属 Zn^{2+} 离子与槲皮素可以进行络合。 Zn^{2+} 离子与槲皮素的络合摩尔系数比是 2:1。并证明了槲皮素分子中羟基的络合位置是 3 位羟基、4 位羰基位和 3',4'-二羟基位。是研究槲皮素与金属螯合机理与量配关系及活性位置判断的一种简捷迅速方法。

参考文献

- [1] 林天乐,严宝珍,胡高飞等.由槐米中提取槲皮素的光谱学表征[J].光谱实验室,2006,23(3):431—434.
- [2] 姚胜昆,赫春香.锆(IV)-槲皮素配合物的分光光度法研究[J].光谱实验室,2008,25(4):541—544.
- [3] Xu G R, In M Y, Kim S. In Situ Spectroelectrochemical Study of Quercetin Oxidation and Complexation with Metal Ions in Acidic Solutions[J]. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 2007, 28(5): 889—892.
- [4] Holiman P C H, Hertog M G L, Katan M B. Analysis and Health Effects of Flavonoids[J]. *Food Chemistry*, 1996, 57(1): 43—46.
- [5] Yoshino M, Murakami K. Interaction of Iron with Polyphenolic Compounds; Application to Antioxidant Characterization[J]. *Analytical Biochemistry*, 1998, 257(1): 40—44.
- [6] De Souza R F V, De Giovanni W F. Synthesis, Spectral and Electrochemical Properties of Al(III) and Zn(II) Complexes with Flavonoids[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2005, 61(9): 1985—1990.
- [7] Jaiswal A K. Nrf2 Signaling in Coordinated Activation of Antioxidant Gene Expression[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2004, 36(10): 1199—1203.
- [8] Cornard J P, Merlin J C. Spectroscopic and Structural Study of Complexes of Quercetin with Al(III)[J]. *Journal of Inorganic*

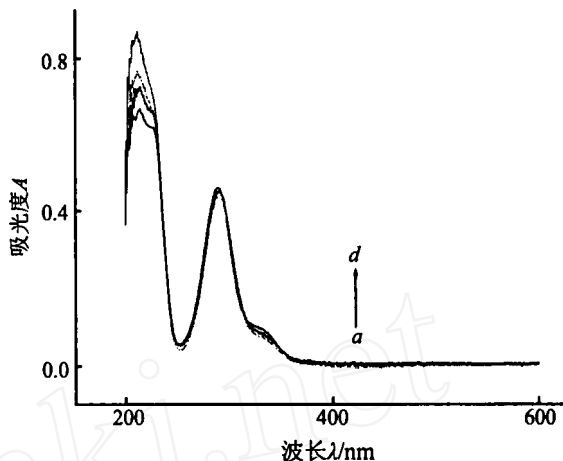


图 5 在 $25\mu\text{mol/L}$ 浓度下,柚皮素与 Zn^{2+} 离子的乙醇溶液吸收曲线图

曲线 a, $25\mu\text{mol/L}$ 柚皮素;曲线 b—d 柚皮素与 Zn^{2+} 摩尔比 1:50;1:100;1:200。

Biochemistry, 2002, 92(1): 19-27.

Study on the Complexation Mechanism of Zn^{2+} -Quercetin by UV Spectrophotometry

TANG Bo XU Ming-Lu ZHANG Yu-Ping XU Guang-Ri

(School of Chemistry & Chemical Engineering, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang, Henan 453003, P. R. China)

Abstract The complex formation and stoichiometry in ethanol between of Zn(II)-quercetin were studied by UV-spectrophotometry. Zn(II) reacts with quercetin, and kaempferol to form complexes, the absorbance of complexes at 426nm was determined. The molar ratio of the complex is Zn(II) : Qu = 2 : 1 with one chelating site: 3-hydroxy and 4-carbonyl and the other 3', 4'-dihydroxy.

Key words Quercetin; Zn^{2+} ; UV Spectrophotometry

封四：“保质、高效——《光谱实验室》主要特色”的附件 1

主编不编与主编不主

闲下翻阅地方杂志，有标明主编也有不标的。这倒各随其规而悉听其便。但也有令人疑惑的事，比如记忆中某人在某部门任行政要职，突然间成为一个地方杂志的主编（并非顾问或名誉主编）。是同名还是改了行？无意中渐渐知道，有一些确系既未改行也未重名的，是在“遥控”机制中兼了职。

兼职这事不好妄论，但主编要编，却可以论定。因为，抛开真正的编辑者或者为了某人之名而拉大旗，或者为了某部门捐赠拨款之利而钓大鱼，暂且不去论它。那些遥兼主编的同志真的能够切切实实地履行主编的职责吗？如果并不能切切实实地履行，还是以不挂虚名为好，免得闹出盗名欺世的笑话。

说白一些，“空头主编”并没有看到主编也是一种重要的专职业务岗位，来不得任何一点“名存实亡，失其所业”。这正像企业家不敢贸然兼之，科学家和学者不敢贸然兼之一样，编辑尤其是总其成的主编，同样不好贸然兼之，因为，这是有责、权、利的问题，有术业专长的的问题，也还有“法人”而不是声名徒自远扬的问题。

由此还想到“期刊衙门”与“编辑官”。由于体制方面的原因，编辑部门机关化的倾向颇严重，而编辑头们把自己首先当成“官员”而后才是编辑的意识，也很根深蒂固。人们觉得“处级和尚”可笑，局级企业也不妥，殊不知局级处级报刊杂志大约也不那么顺理成章啊！

大概是那个所谓的“官本位”或曰“行政级本位”作祟，刊物升级之风曾经有些洋洋乎盈耳。也是这样一个原因，不仅出现生拉硬扯“空头主编”的事，也还出现了“主编不主”的现象：当主编而不主编务，干吗非要挂这个衔呢？

主编，“是名也，止于是实也”。随着行政机关同企事业单位的逐渐分开，编辑终究会成为编辑。此前，主编不编与主编不主，首先应当纳入革除之列。一些人一定还要去当“空头主编”而不干实事，不妨赠以孟子的一句话：“先生之志则大矣，先生之号则不可”。

其实，主编挂名，这种杂志原本也不该核准的。从法律角度上思量，不是这样么？

（原载 1988 年 1 月 6 日《新闻出版报》，作者：冯并）