

# 锆(IV)-槲皮素配合物的制备、表征及其抗氧化活性测定

谢伟玲<sup>1</sup> 杨培慧\*<sup>1 2</sup> 蔡继业<sup>1 2</sup>

<sup>1</sup>(暨南大学化学系, 广州 510632)

<sup>2</sup>(暨南大学光电信息与传感技术广东普通高校重点实验室, 广州 510632)

**摘要** 槲皮素(Qu)是一种天然的、具有抗氧化活性的黄酮类化合物。本研究通过优化合成条件,制备了配位比分别为 1:1 和 1:2(Qu/Ge)的 QuGe 和 QuGe<sub>2</sub> 两种配合物,并采用紫外、红外、核磁共振、元素分析、高效液相色谱、电化学等方法对配合物的结构进行表征。结果表明,QuGe 中的 Ge(IV)结合在 3'位和 4'位羟基的氧原子上,而 QuGe<sub>2</sub> 除了结合 3'位和 4'位羟基的位点外,还结合了 4 位 C=O 和 3 位羟基。利用 Fenton 反应与罗丹明 B 体系,研究了 Qu 及其配合物的抗氧化活性。结果表明,两种配合物的抗氧化活性均比单独的 Qu 配体明显增强,并探讨了配合物抗氧化活性的增强机制,对开发具有保健功能的新型锆化合物具有重要意义。

**关键词** 黄酮类; 槲皮素; 锆; 配合物; 抗氧化

## 1 引言

槲皮素(Quercetin, Qu)是一种具有多种生物活性的天然黄酮类化合物,具有抗炎、抗过敏、抗氧化、抗肿瘤等广泛的药理作用<sup>[1-3]</sup>。Qu 具有较高的超离域度,完整的大  $\pi$  键共轭体系及强配位氧原子,可作为多种金属离子的良好螯合配体。Qu 与某些金属离子的配合物具有很强的生物活性,是近年来的研究热点。目前,Qu 与 Cu<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cr<sup>3+</sup>, Al<sup>3+</sup> 等离子的配合物及其生物活性已有较多文献报道<sup>[4-9]</sup>,而 Qu 与锆(Ge(IV))的配合物研究较少<sup>[10]</sup>,且其抗氧化作用机制仍不清楚。锆是一种具有良好保健作用及多种生物学活性的微量元素<sup>[11]</sup>,有机锆化合物具有清除体内自由基等多种功效。利用 Qu 与 Ge(IV)的协同效应,有望合成出具有更高生物活性、低毒副作用的新型有机锆化合物。本研究以 Qu 为螯合配体,Ge<sup>4+</sup> 为配位金属离子制备配合物。通过紫外、红外、核磁共振、元素分析、高效液相色谱和电化学等方法对配合物的结构进行研究,并应用罗丹明 B 与 Fenton 反应体系<sup>[12]</sup>比较 Qu 及其锆配合物的抗氧化活性,探讨其作用机制,这对深入认识和开发此类药物具有重要意义。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器与试剂

TU-1901 双光束紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限公司);EQIOMOX55 红外光谱仪,AV-300 核磁共振仪(德国 BRUKER 公司);CH I660A 电化学工作站(美国 CHI 公司);LC-10A 高效液相色谱仪(日本岛津公司);PHS-3C 型精密 pH 计(上海雷磁仪器厂)。

Qu(生物纯,北京恒业中远公司);GeO<sub>2</sub>(99.999%,北京恒业中远公司);KBr(光谱纯,天津市标准科技有限公司);罗丹明 B、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、FeSO<sub>4</sub> 等试剂均为分析纯;水为超纯水。

### 2.2 配合物的合成

称取 0.16 g Qu 加入 50.0 mL 无水乙醇,搅拌至完全溶解,分别按照一定的摩尔比加入 Ge(IV)标准溶液,并用 HCl 溶液调至 pH 6.0 左右,溶液很快产生黄色沉淀。室温下搅拌 2 h,离心分离,用无水乙醇和蒸馏水反复洗涤沉淀,40 °C 真空干燥 12 h,得到棕褐色固体粉末,对其进行元素分析测定。Anal. calcd. for C<sub>15</sub>H<sub>8</sub>GeO<sub>7</sub>(QuGe): C 48.3, H 2.15; Found: C 46.44, H 2.75。Anal. calcd. for C<sub>15</sub>H<sub>7</sub>Ge<sub>2</sub>O<sub>7</sub>(QuGe<sub>2</sub>): C 40.51, H 1.57; Found: C 40.94, H 1.83。

## 2.3 Qu 及 Ge(IV)配合物的抗氧化活性测定

具体方法参考文献 [12]。

## 3 结果与讨论

### 3.1 Qu 及 Ge(IV)配合物的紫外可见吸收光谱分析

Qu 在 364 和 255 nm 有两个紫外可见吸收峰,随着 Ge(IV)浓度的增大,Qu 的两个吸收峰分别红移至 400 和 267 nm,且吸光度降低(图 1)这是形成配合物的明显特征。以 Qu 作参比,其吸收峰位于 418 和 278 nm 处,且吸光度随 Ge(IV)浓度增加而增大,表明这两个峰是 Qu 与 Ge(IV)配合物的吸收峰。当 Qu 与 Ge(IV)的摩尔比为 1:2 时出现一个平台,说明此时配合反应达到平衡。

固定 Ge(IV)的浓度为  $2.0 \times 10^{-4}$  mol/L,改变 Qu 的用量,以不含 Ge(IV)的 Qu 溶液作参比,测其吸光度随 Qu 浓度的变化。结果发现,随着 Qu 浓度的增大,418 和 278 nm 处的两个吸收峰都随之增强。当 Qu 与 Ge(IV)的摩尔比为 1:1 时出现一个平台,说明此时配合反应达到平衡。

因此,根据摩尔比率法,Ge(IV)与 Qu 可形成两种配比的配合物。当 Ge(IV)与 Qu 浓度接近时,形成 Ge 与 Qu 摩尔比为 1:1 的配合物;当溶液中 Ge(IV)过量时,形成 Ge 与 Qu 摩尔比为 2:1 的配合物。

进一步用等摩尔连续变化法确定 Qu 与 Ge(IV)的配合比。固定 Qu 与锗(IV)的浓度为  $4.0 \times 10^{-4}$  mol/L,改变 Qu 所占的比率,在 0.33 和 0.50 时出现两个转折点(图 2),表明 Ge(IV)与 Qu 形成了两种配合物,配合比分别为 1:2 和 1:1(Qu:Ge),与摩尔比率法的结果吻合。

### 3.2 制备 Ge(IV)与 Qu 配合物的条件优化

**3.2.1 缓冲溶液与最佳酸度的选择** 比较了 Ge(IV)与 Qu 分别在 HAc-NaAc、BR 及磷酸盐缓冲溶液(pH = 5.0)中形成配合物的可行性和稳定性。实验表明,在磷酸盐缓冲溶液中形成的配合物最稳定。故本实验采用磷酸盐缓冲溶液为介质溶液。

考察了 pH 值在 2.0 ~ 11.0 范围内对 Ge(IV)与 Qu 配合的影响。随着 pH 值增大,配合物的波长红移,且吸光度增大。当 pH > 8.0 时,由于 Qu 发生自氧化作用,配合物的结构发生变化,在 325 nm 处出现新的吸收峰。因此,缓冲溶液的 pH 值选择 6.0 左右。

**3.2.2 Ge(IV)与 Qu 配合的最佳温度** 随着温度的升高(25 ~ 70 °C)配合物的吸收峰逐渐蓝移,且吸光度下降,表明温度升高,配合物的稳定性下降。因此,本实验选择在室温下制备 Qu 与 Ge(IV)的配合物。

### 3.3 Ge(IV)-Qu 配合物的表征

**3.3.1 红外光谱** 从表 1 可知,QuGe<sub>2</sub> 中的 C=O 特征吸收峰明显向低波数位移,表明 C=O 与 Ge(IV)配合,引起 C=O 成键电子密度更加偏离键的几何中心而移向氧原子,C=O 键的电子云降低,从而使 C=O 的伸缩振动吸收谱向低频移动。此外,由于配合物中形成了新环,其共轭效应增强,导致 Qu 的芳环骨架振动频率 C=C 吸收峰向低频移动。Qu 双酚羟基 1365 cm<sup>-1</sup> 移到 1326 和 1352 cm<sup>-1</sup>,

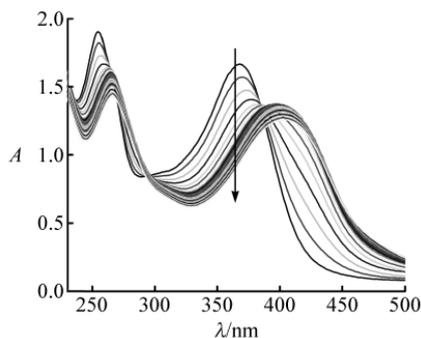


图 1 不同浓度 Ge(IV)与 Qu 作用的紫外可见吸收光谱  
Fig. 1 UV-vis spectra of interaction between quercetin (Qu) and Ge(IV)  
 $C_{\text{Qu}}: 1.0 \times 10^{-4}$  mol/L;  $C_{\text{Ge(IV)}}: (0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 \mu\text{mol/L})$ ; 以磷酸盐作参比(Against phosphate solution)。

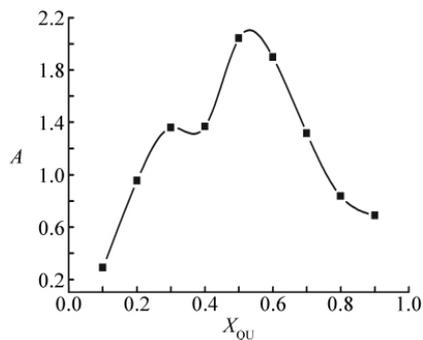


图 2 等摩尔连续变化法测定摩尔比(以不含锗的溶液为参比)  
Fig. 2 Determine molar ratio by continuous variation method  
 $X_{\text{Qu}}$ : Qu 所占的比率(Ratio of Qu)。

说明两种配合物的双酚氧也参与金属离子配位。两种配合物分子中的 C—O—C 键的振动频率基本不变,表明 C 环上的醚键未发生开环。815  $\text{cm}^{-1}$  是 O—Ge 的吸收峰。因此,红外光谱数据表明 QuGe 中的 Ge(IV)结合在 3'位和 4'位羟基的氧原子上,而 QuGe<sub>2</sub> 除了结合 3'位和 4'位羟基的位点外,还结合了 4 位 C=O。

表 1 Qu 及其配合物的主要红外吸收频率及归属

Table 1 Wavenumbers and assignments of the main IR bands of quercetin and its complexes

化合物 Compound	C=O	C=C	C—OH	C—C—C	O—H	O—M
Qu ( $\text{cm}^{-1}$ )	1655.2	1611.9	1365.8	1164.1	3417.9	—
QuGe ( $\text{cm}^{-1}$ )	1648.4	1490.7	1326.6	1160.9	3423.3	815.8
QuGe <sub>2</sub> ( $\text{cm}^{-1}$ )	1633.6	1490.5	1352.0	1160.4	3438.1	814.6

### 3.3.2 核磁共振谱 比较 QuGe 配合物与 Qu 的

<sup>1</sup>H NMR 谱(表 2)发现,Qu 于  $\delta$  9.31 (1H, 3'-OH) 的吸收峰在 QuGe 中消失,表明 B 环的 3'-OH 失去质子并通过氧原子与 Ge(IV)配位。而 Qu 于  $\delta$  9.60 (1H  $\beta$ -OH) 及 9.31 (1H  $\beta$ '-OH) 的吸收峰在 QuGe<sub>2</sub> 中消失,表明配位时 3'-OH 失去质子并通过氧原子与 Ge(IV)配位,且 B 环的 3'-OH 和 4'-OH 与 Ge(IV)也参与配位。

**3.3.3 HPLC 测定** 以甲醇-0.3% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (55:45, V/V) 为流动相,检测波长为 370 nm (Qu) 和 395 nm (配合物)。采用 C<sub>18</sub> 柱,Qu 只有一个流出峰,保留时间约 9.2 min; 配合物也只有一个流出峰,由于极性减小,QuGe 的保留时间为 6.5 min, QuGe<sub>2</sub> 为 8.0 min,表明制备的配合物成分比较单一。

**3.3.4 配合物的电化学表征** 以金电极为工作电极,饱和甘汞电极为参比电极,铂丝电极为辅助电极,对配合物进行电化学表征。由于配合物中 Ge(IV)参与了配位,因此可以用电化学的方法来表征。Qu 在 -0.2 ~ -1.0 V 范围内没有电化学信号,而 Ge(IV)于 -0.626 V 处有一个还原峰。当 Ge(IV)与 Qu 形成配合物后,其还原峰负移至 -0.751 V 处,该峰为配合物中 Ge(IV)的还原峰。以上结果表明,Ge(IV)与 Qu 形成了配合物,而且有两种不同结构(图 3)。

### 3.4 Qu 及其配合物对羟自由基的清除作用及其抗氧化机制

采用罗丹明 B 和 Fenton 反应体系研究了 Qu 及其与锗两种配合物清除羟自由基的能力。实验表明,清除率随化合物浓度增加而增大,并且两种配合物均比单独的 Qu 配体具有更强的抗氧化活性(图 4)。Qu 与 Ge(IV)形成配合物后,在作为抗氧化剂的作用中,通过酚羟基与自由基反应,失去电子或供氢,产生一种新的基团酚基自由基,此基团通过芳香核的自旋作用以及邻位酚羟基供氢后形成分子内氢键被稳定下来,使自由基氧化链式反应的传导过程被中断,起到了抗氧化的作用。因此,Qu 化合物抗氧化活性的高低与酚基自由基的稳定性有密切的关系。Ge(IV)-Qu 配合物能提高酚基自由基稳定性,从而增强了 Qu 的抗氧化活性。此外,QuGe<sub>2</sub> 中 4 位 C=O 与 Ge(IV)形成 Qu 配合物后,分子的电子云分布离域,使配合物与  $\cdot\text{OH}$  作用后形成的酚基自由基更加稳定,因而 QuGe<sub>2</sub> 抗

表 2 Qu 及其配合物的 <sup>1</sup>H NMR 谱的部分归属

Table 2 Main <sup>1</sup>H NMR data of quercetin and its complexes

化合物 Compound	3-OH	4'-OH	3'-OH
Qu	9.60	9.39	9.31
QuGe	9.57	9.34	—
QuGe <sub>2</sub>	—	9.32	—

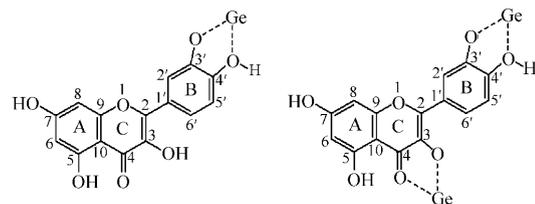


图 3 QuGe 及 QuGe<sub>2</sub> 的结构式

Fig. 3 Structures of QuGe and QuGe<sub>2</sub>

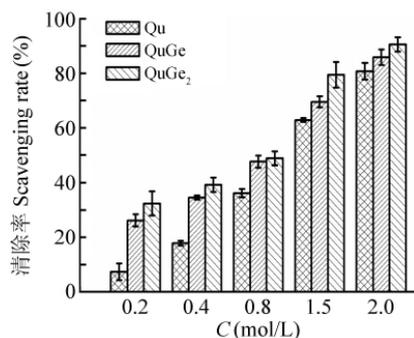


图 4 Qu 及其锗配合物对羟自由基的清除率

Fig. 4 Scavenging effect of quercetin and its complexes against hydroxy radical

• OH 自由基的活性高于 QuGe 和 Qu。

## 4 结 论

本研究通过优化实验条件,制备了配合比分别为 1:1 和 1:2(Qu:Ge)的 QuGe 和 QuGe<sub>2</sub> 两种配合物,并采用紫外、红外、核磁共振谱、元素分析、高效液相色谱、电化学方法对配合物的结构进行表征,同时探讨 Qu 及其配合物的抗氧化活性和可能的作用机制。实验结果表明,两种配合物均比 Qu 具有更强的清除自由基活性。因此,研究 Ge(IV)与 Qu 的配合物及其生物活性,对开发具有保健功能的新型锗化合物具有重要意义。

## References

- Havsteen B H. *Pharmacology and Therapeutics*, **2002**, 96(23): 67 ~ 202
- Boots A W, Haenen G R, Bast A. *European J. Pharmacology*, **2008**, 585(2~3): 325 ~ 337
- Kim Y J, Bae Y C, Suh K T, Jung J S. *Biochemical Pharmacology*. **2006**, 72(10): 1268 ~ 1278
- Bukhari S B, Memon S, Tahir M M, Bhanger M I. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **2009**, 71(5): 1901 ~ 1906
- Bukhari S B, Memon S, Tahir M M, Bhanger M I. *J. Molecular Structure*, **2008**, 89(1~3): 39 ~ 46
- Tan J, Wang B C, Zhu L C. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2009**, 17(2): 614 ~ 620
- Chen W J, Sun S F, Cao W, Liang Y, Song J R. *J. Molecular Structure*, **2009**, 918(1~3): 194 ~ 197
- LIN Tian-Le(林天乐), YAN Bao-Zhen(严宝珍), HU Gao-Fei(胡高飞). *Chinese J. Anal. Chem.*(分析化学), **2006**, 34(8): 1125 ~ 1128
- Zhou J, Wang L F, Wang J Y, Tang N. *J. Inorganic Biochemistry*, **2001**, 83(1): 41 ~ 48
- YAO Sheng-Kun(姚胜昆), HE Chun-Xiang(赫春香). *Chinese J. Spectroscopy Laboratory*(光谱实验室), **2008**, 25(4): 541 ~ 544
- YANG Li(杨利), HUANG Ren-Lu(黄仁录). *Studies of Trace Elements and Health*(微量元素与健康研究), **2005**, 22(3): 60 ~ 61
- Yu F, Xu D, Lei R, Li N, Li K A. *J. Agricultural Food Chemistry*, **2008**, 56(3): 730 ~ 735

## Synthesis, Characterization and Antioxidation Activity of Germanium(IV)-Quercetin Complex

XIE Wei-Ling<sup>1</sup>, YANG Pei-Hui<sup>\*1,2</sup>, CAI Ji-Ye<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>(Department of Chemistry of Jinan University, Guangzhou 510632)

<sup>2</sup>(Key Laboratory of Optoelectronic Information and Sensing Technologies of Guangdong Higher Education Institutes, Jinan University, Guangzhou 510632)

**Abstract** Quercetin (Qu) is a kind of natural flavonoids with diverse biological activities. By optimizing the experimental conditions, the quercetin and germanium(IV) complexes, QuGe and QuGe<sub>2</sub>, were synthesized. The structures of the complexes were characterized by UV/vis spectroscopy, IR spectroscopy, <sup>1</sup>H NMR, elemental analysis, HPLC, and electrochemistic method. The results showed that the chelation sites of QuGe complex were the 3' and 4' hydroxyl, while the QuGe<sub>2</sub> complex 4-carbonyl and 3-hydroxy except 3' and 4' hydroxyl. Moreover, the antioxidation activity and its mechanism of the complexes were also discussed. The result revealed that QuGe and QuGe<sub>2</sub> complexes exhibited more potent antioxidation effect than quercetin.

**Keywords** Flavonoid; Quercetin; Germanium; Complex; Antioxidation

(Received 3 February 2010; accepted 19 July 2010)