

槲皮素与 Cu^{2+} 反应形成配合物的紫外-可见吸收光谱法研究

薛俊鹏¹, 李 萍^{1*}, 王齐明¹, 赵 伟¹, 吴大诚²

1. 四川大学原子与分子物理研究所, 四川 成都 610065

2. 四川大学轻纺与食品学院, 四川 成都 610065

摘 要 采用带有快门的增强型瞬态光谱探测系统 ICCD, 实时拍摄了槲皮素在中性和酸性条件下与 Cu^{2+} 反应形成配合物的紫外-可见吸收光谱。光谱每幅曝光时间为 0.1 ms, Cu^{2+} 与槲皮素的摩尔比分别为 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 和 10.0。实验结果表明不同摩尔比的反应物在其他条件相同时吸收光谱带的变化是相似的, 但摩尔比越大反应时间越短; 在中性和酸性条件下形成配合物的反应过程不一样, 在中性条件下有吸收峰值为 428 nm 的反应中间产物出现, 而在酸性条件下则直接反应生成最终产物, 但它们的最终产物都只有一个吸收峰值为 296 nm 的吸收带; 反应物暴露在空气中和隔离空气的反应过程没有差别。文章首次观测到槲皮素与 Cu^{2+} 反应形成配合物有中间产物出现, 且最终产物的吸收峰值为 296 nm。结果为研究槲皮素- Cu^{2+} 配合物的形成机理提供了实验依据。

关键词 槲皮素; Cu^{2+} ; 配合物; ICCD; 紫外-可见吸收光谱

中图分类号: O433.5 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2009)09-2539-04

引 言

槲皮素(Quercetin (Q); 3,5,7,3',4'-五羟基黄酮; 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$) 是典型的黄酮类化合物。它广泛存在于水果、蔬菜和茶叶等植物中^[1], 是人类饮食中黄酮类化合物的主要来源。研究表明黄酮类化合物有清除自由基和抗氧化的功能, 它们能抗癌、抗病毒、抗血小板凝聚、降血压、防治皮肤衰老以及增强血液循环和降低心律失常的发生率^[3]。研究还发现槲皮素上相邻的羟基或羰基能够螯合金属离子形成配合物, 从而阻止由金属离子诱发的氧化反应, 如人体内的 Fe^{2+} 和 Cu^{2+} 就是脂质过氧化反应的诱导剂; 而有的槲皮素-金属离子配合物比槲皮素自身具有更强的直接清除氧自由基的能力^[3,4]。所以研究槲皮素-金属离子配合物, 对深入了解槲皮素的性质和更好地利用它具有重要意义。

已有少数槲皮素与 Cu^{2+} 反应形成配合物的研究报道^[5-8], 但对配合物的结构和形成机理等方面的研究还很不完全。如文献^[8]报道槲皮素- Cu^{2+} 最终配合物的吸收峰值在 428 nm 处。但我们进行多次重复实验发现槲皮素- Cu^{2+} 最终稳定配合物只有一个吸收带, 峰值在 296 nm 处, 而在中性条件下反应过程中出现的中间产物的吸收带的峰值才为 428

nm。

对槲皮素与氢氧化钠反应的实时紫外-可见时间分辨吸收光谱研究发现, 槲皮素极易与氢氧化钠反应生成新物质, 即槲皮素在碱性条件下结构已发生变化。故本文采用紫外-可见吸收光谱方法, 只对槲皮素在中性和酸性条件下与 Cu^{2+} 反应形成配合物的过程进行研究。

1 实验方法

实验仪器主要由增强型光谱探测器 ICCD (PI-Max 1024RB 美国 Princeton Instruments), Spectra-Pro-275 光谱仪(美国 Acton Research Corp.), 四通道数字延迟发生器 DG535(美国 Stanford Research Systems)和氙灯光源室组成。

实验中所用槲皮素(Q)纯度为 99%, 为四川大学纺织研究所研制; 无水乙醇和 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 为成都科龙化工试剂厂生产, 均为分析纯; 水为去离子水。

实验样品的配制: 槲皮素用无水乙醇溶解, 配制成浓度为 $5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的中性和酸性(加 HCl, pH 2.5)两组槲皮素标准溶液; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 溶于去离子水中, 配制成标准溶液, 浓度分别为 $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $2.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $2.5 \times 10^{-3} \text{ mol}$

收稿日期: 2008-05-29, 修订日期: 2008-09-02

基金项目: 国家自然科学基金项目(50473050)资助

作者简介: 薛俊鹏, 1984 年生, 四川大学原子与分子物理研究所硕士研究生 e-mail: junpengxue@163.com

* 通讯联系人 e-mail: lpscun@163.com

$\cdot \text{L}^{-1}$ 和 $5 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

从氙灯光源室发出的波长为 200~500 nm 的连续光经样品池被待测样品吸收后, 进入光谱仪分光, 然后被 ICCD 光谱探测器“多道”同时采集, 经软件分析处理后得到吸收光谱图。样品池为 $1 \times 1 \times 5 \text{ cm}$ 的石英比色皿, 它可透过紫外光。在动态光谱测量中, 由 DG535 控制系统的同步, 通过其内触发方式, 由它周期性地产生所需宽度的脉冲去打开 ICCD 的快门并控制快门开启时间。实验中, 为了测出较宽范围的吸收光谱, 光栅选用 $150 \text{ g} \cdot \text{mm}^{-1}$ 的, 中心波长设定为 330 nm, 一次拍摄光谱范围大于 300 nm, 整个测量系统光谱分辨率为 2 nm。

实验时, 在盛有 3 mL 中性或酸性槲皮素标准液的石英比色皿中, 用微型注射器将 0.3 mL 一定浓度的 Cu^{2+} 标准液注入, 以两种溶液接触的瞬间作为记时零点开始拍摄反应过程的瞬态紫外-可见吸收光谱。每幅光谱曝光时间 0.1 ms。前 50 幅每两幅间时间间隔为 1 min; 中间 100 幅, 间隔 10 min; 最后 50 幅, 间隔 20 min。

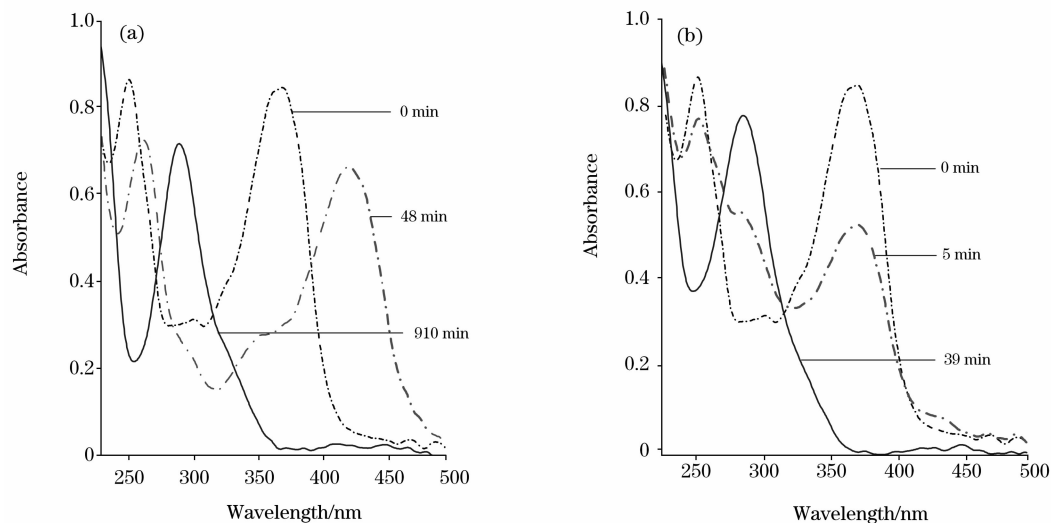


Fig. 1 UV-Vis absorption spectra of quercetin ($5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) reacting with Cu^{2+} ($\text{Cu}^{2+}/\text{Q}=0.5$) (a): Under neutral condition; (b): Under acid (pH 2.5) condition

图 1 中反应开始时刻的光谱为槲皮素自身的吸收光谱, 它有两个特征吸收峰 254 和 374 nm。从图 1(a) 可知, 在中性条件下有反应中间产物出现, 其吸收光谱带的峰值为 428 nm, 最终稳定配合物在 200~500 nm 范围内只有一个吸收带, 峰值为 296 nm。而图 1(b) 却表明, 在酸性条件下槲皮素- Cu^{2+} 直接反应生成最终产物, 其吸收带的峰值仍为 296

为了判断反应物暴露在空气中和隔离空气的反应过程是否有差别, 分别把摩尔比相同的反应溶液, 一组暴露在空气中, 另一组封闭于比色管中使其与外界空气隔绝。每隔一定时间取出部分反应溶液拍摄其紫外-可见吸收光谱, 比较它们反应过程中光谱的变化。

2 实验结果和讨论

实验测得了在中性和酸性条件下, $\text{Cu}^{2+}:\text{Q}$ 摩尔比分别为 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 和 10.0 的配合物合成过程的紫外-可见吸收光谱。结果显示同为中性或同为酸性条件下, 不同 $\text{Cu}^{2+}:\text{Q}$ 摩尔比的反应过程, 其反应物的吸收光谱带的变化是相同的, 只是反应完成的时间随 Cu^{2+} 浓度的增大而变短; 但在酸性和中性条件下形成配合物的反应过程不一样, 如图 1 给出的反应物浓度 $\text{Cu}^{2+}:\text{Q}$ 为 0.5 时的反应过程的吸收光谱。

nm, 说明在中性和酸性条件下形成的最终配合物的吸收光谱是相同的。图 1 所示的两种条件下的反应时间表明, 在中性条件下反应完成的时间为酸性条件下的 20 多倍。表 1 给出了所有不同反应物浓度下反应中间产物和最终产物的吸光度达最大值的时间。从表中可见, 在酸性条件下各种反应物浓度的反应完成时间都大大快于在中性条件下。

Table 1 Chemical change rates of quercetin reacting with Cu^{2+} . R is the molar ratio of $\text{Cu}^{2+}:\text{Q}$. T_1 is the time at which the absorbance of intermediate product reached the maximum, T_2 is the time at which the absorption peak of final product reached the maximum

	R	0.2	0.5	1.0	2.0	5.0
T_1/min	Under acid condition					
	Under neutral condition	860	48	43	35	21
T_2/min	Under acid condition	970	38	25	14	5
	Under neutral condition	1 590	920	730	660	570

本文重复上述实验,观测到的 Cu^{2+} :Q 摩尔比分别为 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 和 10.0 的反应溶液在有空气状态下的吸收光谱表明,反应是否暴露在空气中不影响反应过程和反应结果,所测最终产物的吸收光谱之一见图 2。从图 2

可见,反应溶液密闭或暴露在空气中得到的最终产物的吸收光谱带峰值都是 296 nm。也说明在中性条件下反应生成的吸收带峰值为 428 nm 的中间产物的消失与空气氧化没有关系。

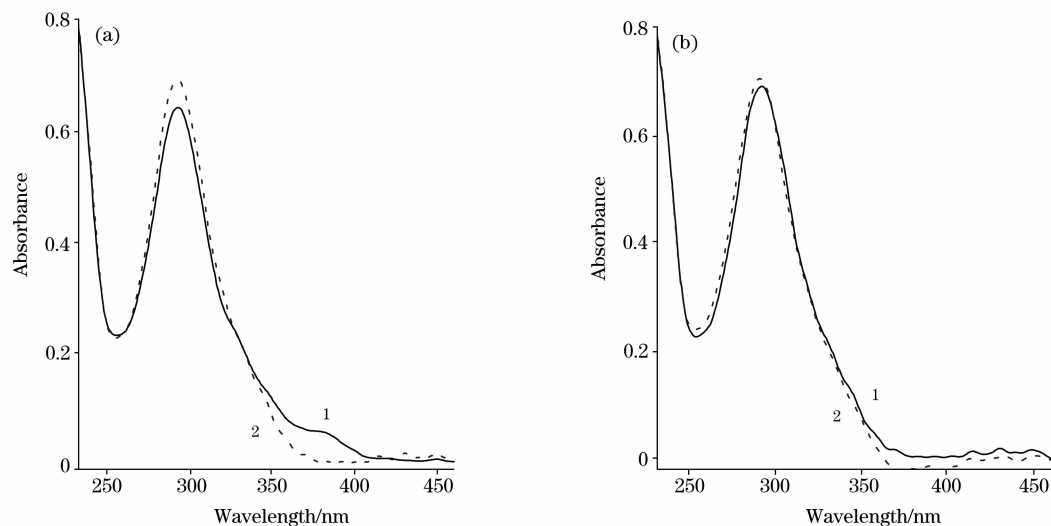


Fig. 2 Final absorption spectra of quercetin complex with Cu^{2+} ($\text{Cu}^{2+}/\text{Quercetin} = 1.0$)

(a): Under neutral condition; (b): Under acid (pH 2.5) condition; 1: Exposed in air; 2: Insolated from air

有文献报道槲皮素- Cu^{2+} 稳定配合物吸收光谱带峰值位于 428 nm^[9],而本文在不同 Cu^{2+} :Q 摩尔比时,各在中性或酸性条件下反复测量的结果却表明槲皮素- Cu^{2+} 稳定配合物吸收光谱带峰值都位于 296 nm,只是在中性条件下所形成的反应中间产物的吸收光谱带峰值恰好为 428 nm。由此推测文献[8]所拍光谱是在配合物还未稳定时测得的反应中间产物的吸收光谱。

槲皮素分子结构上的 B 环是肉桂酰,特征吸收峰 374 nm 由该生色团产生;特征吸收峰 254 nm 则由另一为苯甲酰的 A 环生色团产生^[9]。有研究报道槲皮素的 3 个可能配位点分别是 B 环 3',4'-二羟基、C 环 3-羟基-4 酮和 A 环 5-羟基-4 酮^[10]。通过分析所拍摄的紫外-可见吸收光谱,本文推测槲皮素- Cu^{2+} 在中性和酸性条件下形成配合物的反应过程可能是:在中性条件下 Cu^{2+} 和 B 环 3',4'-二羟基以及 A 环 5-羟基-4 酮同时反应,与 B 环 3',4'-二羟基反应形成吸收峰为 428 nm 的基团,与 A 环 5-羟基-4 酮则反应形成吸收峰为 296 nm 的基团,但是 Cu^{2+} 与 3',4'-二羟基生成的反应产物不稳定,会分解,故峰值为 428 nm 的吸收带随着反应的进

行不断消失,最终只剩下峰值为 296 nm 的吸收带存在;在酸性条件下因为有大量的 H 离子存在, Cu^{2+} 不与 B 环 3',4'-二羟基配合,且促使 B 环烯醇式结构发生变化,使得 B 环发色团的吸收带不再存在,但是 Cu^{2+} 却与 A 环 5-羟基-4 酮配合形成峰值为 296 nm 吸收带的基团,所以最终的结果是 B 环和 A 环的特征吸收峰消失,也只剩下吸收峰值为 296 nm 的最终产物。上述两个反应过程均不受空气氧化作用的影响。

本文研究表明:槲皮素与 Cu^{2+} 反应形成配合物时,不同摩尔比的反应物同在中性或同在酸性条件下,它们的吸收光谱带的变化是相似的;中性条件下有吸收峰值为 428 nm 的反应中间产物出现,但在酸性条件下则直接反应生成最终产物,即在中性和酸性条件下形成配合物的反应过程不一样,但最终产物都是只有一个峰值为 296 nm 吸收带的稳定配合物,这是本文首次观测到的结果;空气不影响配合物的形成过程。

本文结果为研究槲皮素- Cu^{2+} 配合物的形成机理提供了实验依据。

参 考 文 献

- [1] Cornard J P, Boudet A C, Merlin J C. *Spectrochimical Acta Part A*, 2001, 57: 591.
- [2] Deng H T, Berkel G J V. *J. Mass Spectrom.*, 1998, 33: 1080.
- [3] Murota K, Terao J. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2003, 417: 12.
- [4] Bravo A, Anaconda J R. *Transition Metal Chemistry*, 2001, 26: 20.
- [5] Torreggiani A, Trincherio A, Tamba M, et al. *J. Raman Spectrosc.*, 2005, 36: 380.
- [6] Makris D P, Rossiter J T. *J. Sci. Food and Agric.*, 2002, 82: 1147.
- [7] Aytac G, Burcu T, Makris D P. *Eur. Food Res. Technol.*, 2007, 225: 435.

- [8] Brown J E, Khodr H, Hider R C, et al. *Biochem. J.*, 1998, 330: 1173.
- [9] HUANG Liang, YU De-quan(黄 量, 于德泉). *Application of UV-Spectrum in the Organic Chemistry(紫外光谱在有机化学中的应用)*. Beijing: Science Press(北京: 科学出版社), 1998. 281.
- [10] Cornard J P, Merlin J C. *Journal of Molecular Structure*, 2003, 651: 381.

Study on Complex Formation of Quercetin Reacting with Cu^{2+} Using UV-Vis Absorption Spectroscopy

XUE Jun-peng¹, LI Ping^{1*}, WANG Qi-ming¹, ZHAO Wei¹, WU Da-cheng²

1. Institute of Atomic and Molecular Physics, Sichuan University, Chengdu 610065, China

2. Textile and Food College, Sichuan University, Chengdu 610065, China

Abstract Using an intensified spectroscopic detector ICCD, the real-time UV-Vis absorption spectra of quercetin (Q) reacting with Cu^{2+} under neutral and acid conditions were acquired. The exposure time was 0.1 ms for each spectrum, and the molar ratio of $\text{Cu}^{2+} : \text{Q}$ was 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 and 10.0, respectively. Results indicate that the changes in absorption bands of reaction solutions with different ratio of $\text{Cu}^{2+} : \text{Q}$ were similar if other conditions were the same, and the greater the molar ratio, the shorter the reaction time; the reaction processes of complex formation were different under neutral and acid conditions. There was an intermediate product with the absorption peak at 428 nm that occurred during the reaction under neutral condition, but the final product was directly formed under acid condition, and the final products under both conditions had the same absorption bands centered at 296 nm; reaction processes with air and without air showed no difference. The present work first observed that there was an intermediate product formed during the complex formation of quercetin reacting with Cu^{2+} and the absorption band of the final complex was centered at 296 nm. Results obtained here provide useful experimental evidence for the study of complex mechanism of quercetin with Cu^{2+} .

Keywords Quercetin; Cu^{2+} ; Complex; ICCD; UV-Vis absorption spectra

(Received May 29, 2008; accepted Sep. 2, 2008)

* Corresponding author