

CZU: 547

DOI: 10.46727/c.v1.16-17-05-2024.p86-91

EVIDENȚA DFT A INTERACȚIUNII SINERGICE DINTRE UNELE FLAVANOIDE ȘI ACIZI FENOLICI ÎN REACȚIILE LOR COMUNE CU ABTS⁺

DFT EVIDENCE OF THE SYNERGISTIC INTERACTION BETWEEN SOME FLAVANOIDS AND PHENOLIC ACIDS IN THEIR JOINT REACTIONS WITH ABTS⁺

Gorbaciov Mihail, dr., cercet. șt. superior, USM, Institutul de Chimie
Gorincioi Natalia, dr., cercet. șt. coord., USM, Institutul de Chimie
Bălan Iolanta, dr., cercet. șt. superior, lector univ., USM, Institutul de Chimie

Gorbachev Mikhail, PhD, senior researcher, MSU, Institute of Chemistry
ORCID: 0009-0005-3058-5497

Gorinchoy Natalia, PhD, leading researcher, MSU, Institute of Chemistry
ORCID: 0000-0003-4529-9061

Balan Iolanta, PhD, senior researcher, lecturer, MSU, Institute of Chemistry
ORCID: 0000-0002-8704-1344, ibalan02@yahoo.com

Rezumat. În baza calculelor DFT s-a demonstrat că în cazul în care moleculele neutre ale acidului protocatecuic (APC) și quercetinei (Q) formează complecși cu ABTS⁺ (prin intermediul uneia dintre cele două grupe -SO₃H ale ABTS⁺) densitatea electronică a electronul nepereche al ABTS⁺ rămâne pe fragmentele sale structurale în acești complecși. Cu toate acestea, la rândul lor, acești complecși: [PCA - ABTS⁺] și [Q - ABTS⁺] pot interacționa cu ușurință cu anionii PCA⁻ și Q⁻ care apar ca urmare a deprotonării grupării -OH. Fragmentele structurale ale ABTS⁺ ale complecșilor rezultați [PCA - ABTS⁺ - Q⁻] și [Q - ABTS⁺ - PCA⁻] nu conțin electroni nepereche. Astfel, pe baza calculelor DFT, se poate concluziona că în cazul studiat va avea loc efectul sinergic antioxidant în reacția comună a APC și Q cu cation-radicalul ABTS⁺.

Cuvinte-cheie: activitate antioxidantă, flavanoide, ABTS⁺, efect sinergic, calcule DFT.

Abstract. On the basis of DFT calculations it was shown that in the case when neutral molecules of protocatechuic acid (PCA) and quercetin (Q) form their complexes with ABTS⁺ (by means of one of the two -SO₃H groups of the cation-radical ABTS⁺) the electronic density of the unpaired electron of ABTS⁺ remains mainly on the ABTS⁺'s structural fragments of these complexes. However, in their turn, these complexes: [PCA - ABTS⁺] and [Q - ABTS⁺] can easily interact respectively with the anions PCA⁻ and Q⁻ arising due to deprotonation of the -OH group. The ABTS⁺'s structural fragments of the resulting complexes [PCA - ABTS⁺ - Q⁻] and [Q - ABTS⁺ - PCA⁻] do not contain any unpaired electrons. Thus, basing on the DFT calculations, one can conclude that in the case under study the antioxidant synergistic effect in the joint reaction of PCA and Q with ABTS⁺ will take place.

Keywords: antioxidant activity, flavanoids, ABTS⁺, synergistic effect, DFT calculations.

Introducere

Unele dintre cele mai puternice clase de compuși naturali antioxidanți sunt acizii fenolici alimentari și flavonoidele, ce se găsesc în multe produse vegetale sau extracte obținute din acestea. Ei sunt capabili să „stingă” (distrugă) radicalii liberi care amenință celulele corpului uman [1, 2]. Atunci când sunt prezente împreună, acizii fenolici și flavonoidele demonstrează frecvent un efect sinergic antioxidant semnificativ în cadrul reacțiilor lor comune cu anumiți radicali liberi. Interacțiunea sinergică între antioxidanți este un subiect de interes pentru cercetarea biomedicală,

deoarece poate oferi noi strategii pentru prevenirea sau tratarea unor boli asociate cu stresul oxidativ. Pentru a identifica mecanismele interacțiunii sinergice între diferite perechi de antioxidanți, este necesar să se realizeze studii experimentale atât *in vitro*, cât și *in vivo*, precum și prin metode teoretice, cum ar fi dinamica moleculară, teoria funcționalei de densitate (DFT) și alte metode din chimia cuantică, care pot oferi informații despre redistribuirea electronilor între reactanții reacțiilor antiradicalice.

Astfel, în lucrarea [3] dedicată interacțiunii sinergice dintre moleculele de acizi alimentari și flavonoide, s-a remarcat că, deși există cazuri confirmate experimental de astfel de efecte sinergice, totuși, nu se atestă studii teoretice ale acestor posibile mecanisme. Prin urmare, studiile teoretice a detaliilor particulare ale redistribuirii densității electronilor între reactanții reacțiilor antiradicalice studiate sunt de o valoare deosebită. Spre exemplu, astfel de investigații teoretice au fost efectuate în lucrările noastre [4-6], principalele etape ale mecanismului responsabil pentru efectul sinergic în reacția comună a acidului cafeic și glutatationului cu cation-radicalul $ABTS^{+}$ au fost identificate cuanto-chimic (folosind metoda DFT), s-au determinat factorii electronici și structurali care stau la baza acestui mecanism. Așadar, s-a demonstrat că, dintre toți acizii alimentari studiați, numai acidul cafeic (AC) prezintă un efect sinergic semnificativ cu glutatationul (GI). Principalele cauze ale acestui efect sinergic considerat sunt, în primul rând, prezența grupărilor hidroxil 3-OH și 4-OH în structura acidului cafeic, în al doilea rând, stabilitatea mai mare a anionului său care conține gruparea hidroxil 4-OH deprotonată. Mai mult ca atât, s-a demonstrat că anionii acidului cafeic și glutatationului sunt capabili să interacționeze cu complexii formați de $ABTS^{+}$, respectiv, cu molecule neutre de glutatation și acid cafeic, în care densitatea electronică a electronului desperecheat rămâne pe fragmentul structural $ABTS^{+}$. Totuși, după interacțiunea cu anionii acidului cafeic și glutatationului, care își donează electronii, are loc stingerea (dispariția) electronilor neîmperecheați de pe aceste fragmente $ABTS^{+}$ datorită transferului densității electronice de la acești anioni la $ABTS^{+}$. Astfel, calculele DFT [4-5] au făcut posibilă înțelegerea prezenței unui efect sinergic în reacția comună a acidului cafeic și glutatationului cu cation-radicalul $ABTS^{+}$. Mecanismul de interacțiune sinergică dintre acidul cafeic și glutatation – dezvăluit în lucrarea [4] – în timpul reacției lor comune cu cationul radical $ABTS^{+}$ a făcut posibilă explicarea datelor experimentale prezentate în lucrarea [7], în care s-a determinat că, din seria de acizi alimentari studiați în această lucrare, doar pentru perechea [AC – GI] există un efect sinergic semnificativ, exprimat clar în reacția lor comună cu cation-radicalul $ABTS^{+}$. Mai mult, deoarece în lucrarea [8] s-a stabilit experimental prezența unui efect sinergic în reacția comună a glutatationului și a quercetinei - Q (flavonoidă) cu $ABTS^{+}$, în legătură cu cele de mai sus, era logic să presupunem posibilitatea unui efect sinergic a perechii [Q – AC] în reacția lor comună cu $ABTS^{+}$ și să efectuăm un studiu teoretic (folosind metoda DFT) al acestui efect [9].

Rezultate și discuții

Reieșind din cele expuse mai sus, este teoretic interesant și practic important să investigăm posibilitatea apariției unui efect sinergic în timpul interacțiunii quercetinei (precum și a altor flavonoide) cu acizii fenolici – antioxidanți ce conțin în fragmentele lor structurale fenolice două grupări hidroxil asociate la atomii de carbon vecini ai ciclului benzenic. În acest scop, pentru a studia principalele etape ale mecanismului molecular al efectului sinergic în amestecul binar de antioxidanți, s-a întreprins un studiu cuanto-chimic folosind metoda DFT/B3LYP [10] și baza 6-31G(d) pentru OA în programul Gaussian 09 [11]. Ca subiect de studiu s-a determinat amestecul binar „acid protocatecuic + quercetină” în reacția lor comună cu cation-radicalul liber $ABTS^{+}$.

Acidul protocatecic (APC) este un acid fenolic larg răspândit în mod natural, este unul dintre componentele biologice active ale unor plante medicinale [12-13], are similitudini structurale cu acidul galic, cafeic, vanilic și siringic, care sunt compuși antioxidanți bine cunoscuți și conține 2 grupări hidroxil 3-OH și 4-OH în fragmentul său polifenolic structural (Figura 1). Quercetina (Q), un flavonoid găsit în fructe și legume, are proprietăți biologice unice – de a îmbunătăți performanța mentală/fizică, de a reduce riscul de infecție și de a crește rezistența la boli [14]; este un aglicon, nomenclatura IUPAC este 3,3',4',5,7-pentahidroxiflvanonă, respectiv, quercetina are 5 grupe OH (Figura 2).

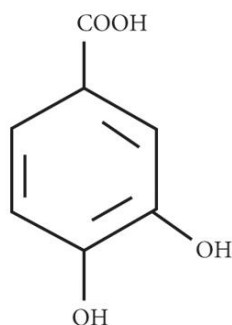


Fig. 1. Structura chimică a acidului protocatecic

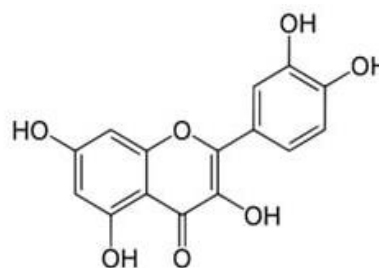


Fig. 2. Structura chimică a Quercetinei

Inițial au fost calculate posibilele sisteme moleculare rezultate din diferite interacțiuni binare individuale și comune ale acidului protocatecic și quercetinei (precum și cei mai stabili din punct de vedere energetic ai acestora – anionii) cu cation-radicalul $ABTS^{+•}$ în mediu etanolic (folosind opțiunea IEFPCM în programul Gaussian 09). Principalele rezultate ale calculului nostru DFT, care includ geometriile optimizate ale complexelor moleculare formate din molecule neutre APC și Q cu cation-radicalul $ABTS^{+•}$; precum și distribuția spațială a densității de electroni a electronilor neperechi ai acestor complecși, sunt prezentate în Figurile 3-4 de mai jos.

Se poate observa că, în cazurile moleculelor antioxidante neutre, interacțiunea cu cation-radicalul $ABTS^{+•}$ are loc prin una dintre grupările sale $-SO_3H$ (Figurile 3 și 4). În plus, în cazul acidului protocatecic, densitatea electronică a electronului nepereche rămâne aproape complet pe fragmentul structural al cation-radicalului (Figura 3), în timp ce în cazul quercetinei este transferată doar parțial la fragmentul structural al quercetinei (Figurile 4). Astfel, în timpul interacțiunii moleculelor neutre de acid protocatecic și quercetină cu $ABTS^{+•}$, electronul nepereche al $ABTS^{+•}$ nu se stinge.

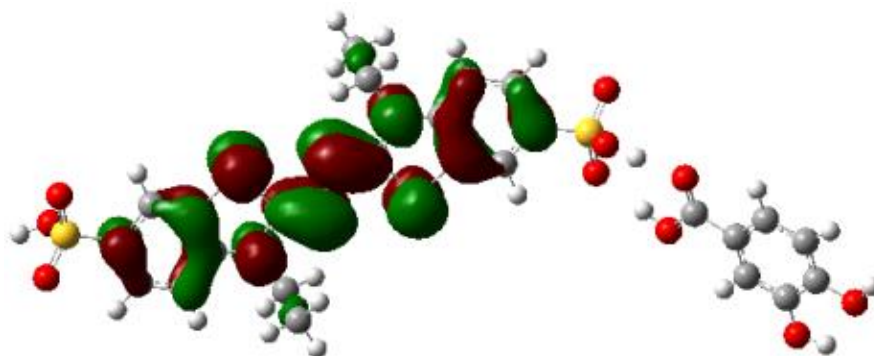


Fig. 3. Geometria optimizată și distribuția spațială a densității electronice a electronului nepereche în complexul [APC – ABTS^{+*}]

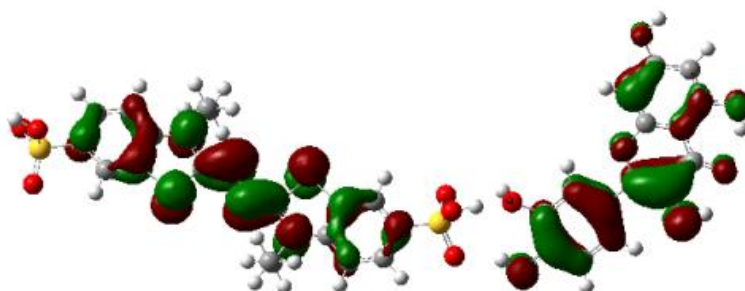


Fig. 4. Geometria optimizată și distribuția spațială a densității electronice a electronului nepereche în complexul [Q - ABTS^{+*}]

Mai mult ca atât, calculele DFT arată că, pentru cazurile în care anionii acidului protocatecic și quercetinei formează complecșii cu ABTS⁺, densitatea electronului nepereche al ABTS⁺ este „stins” practic complet datorită transferului de electroni de la acești anioni la cation–radicalul ABTS⁺. Cu toate acestea, cele mai interesante cazuri sunt realizate atunci când sistemele complexe binare [APC - ABTS^{+*}] și [Q - ABTS^{+*}], prezentate mai sus, interacționează cu anionii de quercetină (Q⁻) și acid protocatecic (APC⁻) (vezi Figurile 5 și 6).

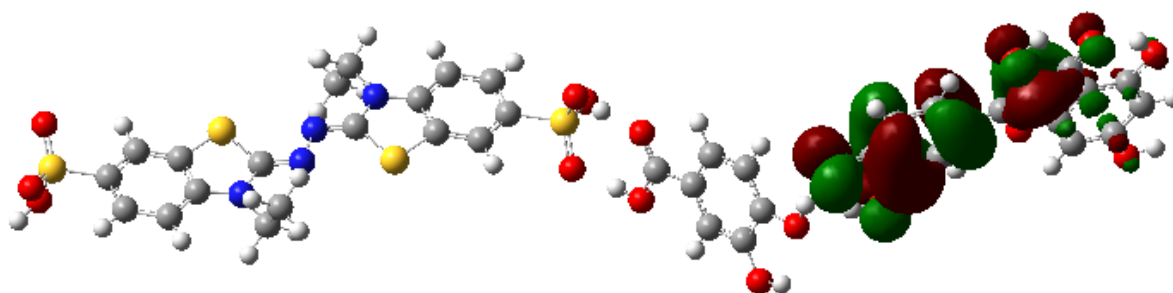


Fig. 5. Geometria optimizată și distribuția spațială a densității electronice a electronului nepereche în sistemul [APC – ABTS^{+*} – Q⁻]

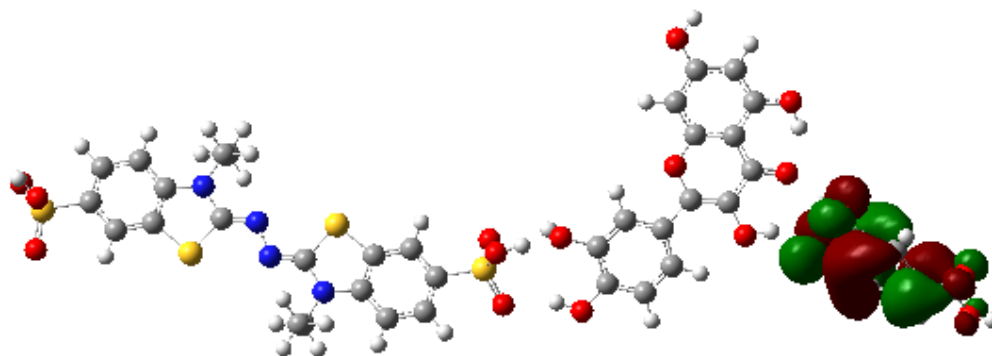


Fig. 6. Geometria optimizată și distribuția spațială a densității electronice a electronului nepereche în sistemul [Q – ABTS^{+*} – APC⁻]

Astfel, studiile noastre teoretice, prezentate în Figurile 3-6, demonstrează că, în reacția comună cu ABTS⁺, anionii quercetinei vor spori activitatea antioxidantă a acidului protocatecic și, la rândul lor, anionii acidului protocatecic vor spori activitatea antioxidantă a quercetinei. Rezultă că între ambii antioxidanți are loc un efect sinergic clar. Mai mult, rezultatele obținute în prezenta lucrare arată că interacțiunea quercetinei cu acizii fenolici - antioxidanți care conțin în fragmentele lor structurale două grupări hidroxil asociate cu atomii de carbon vecini ai ciclului benzenic poate duce într-adevăr la apariția unui efect sinergic între aceste substanțe în reacțiile lor comune cu radicalii liberi. Unele rezultate preliminare ale ultimelor noastre calcule indică faptul că un efect sinergic poate avea loc și în cazul în care, în reacția cu ABTS⁺, quercetina este înlocuită cu epicatehinul (flavonoid). Cazul legat de această înlocuire va fi luat în considerare în următoarea noastră lucrare.

Concluzii

Astfel, studiile noastre teoretice demonstrează că în reacția comună a acidului protocatecic și quercetinei cu cation-radicalul ABTS^{+•} are loc intensificarea reciprocă a activităților antiradicalice a ambilor antioxidanți, adică între ele are loc un efect sinergic. Acest efect se realizează numai datorită prezenței grupărilor hidroxil în structura acidului protocatecic și formării anionului acidului protocatecic datorită deprotonării grupării hidroxil. Prezentul studiu oferă o perspectivă asupra altor acizi fenolici, a căror structură conține astfel de grupări hidroxil.

Referințe:

1. COSMULESCU, S.; TRANDAFIR, I.; NOUR, V. Phenolic Acids and Flavonoids Profiles of Extracts from Edible Wild Fruits and Their Antioxidant Properties. *International Journal of Food Properties*, 2017, 20 (12), pp. 3124– 3134. DOI: <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1274906>
2. GU, C.; HOWELL, K.; DUNSHEA, F.R.; SULERIA, H.A.R. LC-ESI-QTOF/MS Characterization of Phenolic Acids and Flavonoids in Polyphenol-Rich Fruits and Vegetables and Their Potential Antioxidant Activities. *Antioxidants*, 2019, 8 (9), pp. 405-420. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox8090405>
3. OLSZOWY-TOMCZYK, M. Synergistic, Antagonistic and Additive Antioxidant Effects in the Binary Mixtures. *Phytochemistry Reviews*, 2020, 19 (1), pp. 63-103. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11101-019-09658-4>
4. GORBACHEV, M.; GORINCHOY, N.; BALAN, I., Electronic Aspects of the Synergistic Antioxidant Interaction of Various Pairs "Phenolic Food Acid and Glutathione" in Their Reactions with the Stable Radical Cation ABTS⁺. *International Journal of Organic Chemistry*, 2023, 13 (3), pp. 96-108. DOI: <https://doi.org/10.4236/ijoc.2023.133008>

5. GORBACHEV, M.; GORINCHOY, N.; BALAN, I.; ARSENE, I. Studiul cuantochimic al relației structura electronică - acțiune antioxidantă a unor compuși chimici. In: *Procese redox cu transfer de electroni și protoni*. Gh. Duca (Ed.), Ch.5, Editura USM: Chișinău, 2023, pp. 98-122. DOI: https://doi.org/10.59259/PRTEP_05
6. GORBACHEV, M.; GORINCHOY, N.; BALAN, I.; ARSENE, I. Relationships Electronic Structure-Antioxidant Action for Chemical Compounds: A Quantum Chemical Study. Gheorghe Duca, Ashok Vaseashta (Eds.) *Handbook of Research on Fundamental and Biomedical Aspects of Redox Processes*. IGI Global, USA, 2023, Ch.6, pp. 143-158. DOI: <https://doi.org/10.4018/978-1-6684-7198-2.ch006>
7. RAN, L.; CHIA, Y.; HUANGA, Y.; HE, Q.; REN, Y. Synergistic antioxidant effect of glutathione and edible phenolic acids and improvement of the activity protection by coencapsulation into chitosan-coated liposomes. *LWT - Food Science and Technology*, 2020, 127, article 109409, pp. 1-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109409>
8. ILYASOV, I.; BELOBORODOV, V.; ANTONOV, D. et al. Flavonoids with Glutathione Antioxidant Synergy: Influence of Free Radicals Inflow. *Antioxidants*, 2020, 9 (8), pp. 695-715. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox9080695>
9. GORBACHEV, M.; GORINCHOY, N.; BALAN, I. DFT Study of Structural Features of Caffeic Acid and Quercetin Responsible for Realization of Possible Synergistic Effect in Their Joint Reaction with the Cation-Radical ABTS*+. *Scientific seminar: Advanced Materials to Reduce the Impact of Toxic Chemicals on the Environment and Health*, Chisinau, 21 September, 2023, pp. 25. DOI: <http://dx.doi.org/10.19261/admateh.2023.ab17>
10. LEE, C.; YANG, W.; PARR, R.G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density, *Physical Review B*, 1988, 37 (2), pp. 785-789. DOI: <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.37.785>
11. FRISCH, M.J.; TRUCKS, G.W.; SCHLEGEL, H.B.; et al., Gaussian 09, Gaussian, Inc.: Wallingford, CT, 2009. <https://gaussian.com/glossary/g09/>
12. ZHANG, S.; GAI, Z.; GUI, T.; et al., Antioxidant Effects of Protocatechuic Acid and Protocatechuic Aldehyde: Old Wine in a New Bottle. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, Article ID 6139308, pp. 1-19. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/6139308>
13. KAKKAR, S.; BAIS, S.A. Review on Protocatechuic Acid and Its Pharmacological Potential. *International Scholarly Research Notices*, 2014, Article ID 952943, pp. 1-9. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/952943>
14. LI, Y.; YAO, J.; HAN, C.; et al. Quercetin, Inflammation and Immunity. *Nutrients*, 2016, 8(3), pp. 167-181. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu8030167>