

УДК 547.973

RESEARCH OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF ANTHOCYANINS AS THE PERSPECTIVE COMPONENTS FOR FOODSTUFFS IN EXTREME CONDITIONS OF LIFE ACTIVITY

N. Stetsenko, G. Simakhina, I. Goyko, S. Khalapsina

National University of Food Technologies

Key words:

*Anthocyanins
Antioxidant activity
Computer chemistry
Modelling
Electronic structure*

Article history:

Received 04.04.2016
Received in revised form
15.04.2016
Accepted 05.05.2016

Corresponding author:

G. Simakhina
E-mail:
npnft@ukr.net

ABSTRACT

The article presents the results of computer modelling of composition and antioxidant properties peculiar for anthocyanins (pelargonidine, cyanidine, and delphinidine). The electronic structure of molecules of these substances and corresponding radicals, quinones and hydrated compounds has been researched. The higher antioxidant activity of pelargonidine in comparison with cyanidine and delphinidine was also proved and grounded.

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИОКСИДАНТНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ АНТОЦІАНІВ ЯК НЕОБХІДНИХ КОМПОНЕНТІВ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ В ЕКСТРЕМАЛЬНИХ УМОВАХ ЖИТТЄДІЯЛЬНОСТІ

Н.О. Стеценко, Г.О. Сімахіна, І.Ю. Гойко, С.В. Халапсіна

Національний університет харчових технологій

У статті представлено результати комп'ютерного моделювання будови й антиоксидантних властивостей антоціанів пеларгонідину, ціанідину та дельфінідину. Досліджено електронну будову молекулярних структур, відповідних радикалів, хінонів і гідратованих сполук. Обґрунтовано й підтверджено більш високу антиоксидантну активність пеларгонідину порівняно з ціанідіном і дельфінідіном.

Ключові слова: антоціани, антиоксидантна активність, комп'ютерна хімія, моделювання, електронна будова.

Постановка проблеми. Останнім часом значно підвищився інтерес до дослідження процесів вільнорадикального окислення і, як наслідок, до препаратів,

здатних впливати на інтенсивність цих процесів. Це пов'язано з тим, що в умовах погіршення екологічної обстановки, під впливом різних екстремальних чинників в організмі спостерігається значне підвищення концентрації активних форм кисню (АФК), таких як O^{\cdot} , OH^{\cdot} , H_2O_2 тощо, здатних ушкоджувати молекули білків, нуклеїнових кислот, інактивувати ферменти, руйнувати мембрани клітин, що, у свою чергу, призводить до розвитку різних патологічних станів організму. Тому особливо гостро стоїть питання про можливості блокування цих вільнорадикальних процесів, ініціаторами яких є АФК, на початкових стадіях розвитку.

Антиоксидантна активність є однією з найважливіших характеристик речовин, визначенню якої приділяється особлива увага в наукових працях з дослідження біологічно активних сполук. Головна функція антиоксидантів — перехоплення вільних радикалів, які виникають у результаті певних процесів у клітині живого організму і здатні атакувати життєво важливі мішені, якщо природний механізм їх нейтралізації виявляється недовідомим [1].

Антиоксиданти — це природні або ідентичні природним поліфункціональні речовини, які беруть участь у різних типах обміну речовин, синтезі та перетворенні біологічно активних метаболітів, здатні перешкоджати окисленню активних хімічних речовин у клітинах організму людини, забезпечують активність універсальної регулюючої системи, перешкоджають накопиченню токсичних продуктів окислення.

Переваги харчових і нетоксичних антиоксидантів природного походження порівняно з синтетичними очевидні. Відомо, що нетоксичні антиоксиданти містяться в рослинних оліях, екстрактах рослин, інших рослинних продуктах, тому багато науковців поряд із вивченням хімічного складу рослин повсякчас вивчають і вміст у них природних антиоксидантів та їхній вплив на механізм гальмування окислювальних процесів.

Антоціани — біологічно активні поліфенольні сполуки рослинного походження. Вони належать до великої і поширеної групи флавоноїдів (або фенольних глікозидів). Для них характерна капіляррозміцнююча, кардіотропна, спазмолітична, гіпотензивна, сечогінна, жовчогінна, гепатозахисна, кровоспинна, протизапальна дія [2—3].

Антоціани є сильними антиоксидантами, які забезпечують захист від шкідливого впливу ультрафіолетового випромінювання, окислення й ушкодження вільними радикалами. Механізм їхньої дії заснований на здатності обривати розгалуження ланцюгової реакції окислення: при взаємодії з вільним радикалом вони віддають протон, перетворюючи радикал на молекулярний продукт, а самі перетворюються на слабкий радикал, нездатний брати участь у продовженні ланцюгової реакції [3—4].

Антоціани можуть і повинні стати альтернативою синтетичним барвникам, які хоча і мають стійке яскраве забарвлення, технологічні у використанні, однак здатні викликати алергійні реакції та чинити інші патологічні впливи на організм людини.

На сьогодні відомо, що у вищих рослинах зустрічаються шість антоціанідинів: пеларгонідин-3-глікозид, пеонідин-3-арабінозид, ціанідин-3-арабінозид, мальвідин, петунідин, дельфінідин. Глікозиди трьох неметильованих антоціанідинів:

динів (пеларгонідину, ціанідину та дельфінідину) є найбільш розповсюдженими у природі: вони наявні у 80 % забарвленого листя, 69 % фруктів, 50 % пелюсток квітів [5—8], тому за ступенем їхньої біологічної активності можна загалом оцінити ефективність того чи іншого природного джерела антоціанів.

Метою дослідження є оцінка біологічної активності та реакційної здатності молекул пеларгонідину, ціанідину та дельфінідину на основі дослідження просторової й електронної будови методами комп'ютерної хімії з точки зору їх використання у технологіях харчових продуктів.

Матеріали і методи. Для регулювання вільнорадикальних процесів в організмі застосовують біологічно активні речовини (БАР), що проявляють антиоксидантні властивості. До них належать препарати як синтетичного, так і природного походження, серед яких неабияке значення мають ті рослинні препарати, до складу яких входять біофлавоноїди, каротиноїди, есенціальні жирні кислоти тощо. Використання подібних препаратів надзвичайно перспективне, оскільки вони, будучи природними антиоксидантами, легко й органічно вступають у метаболічні процеси в організмі і практично не дають побічних ефектів, властивих синтетичним препаратам. Лікарські рослини широко використовують у медицині, однак як антиоксиданти їх вивчено лише фрагментарно. У зв'язку з цим дослідження лікарських рослин як потенційних антиоксидантів, моделювання можливого механізму їхньої інгібуючої дії щодо певних стадій відновлення кисню в організмі викликають значний інтерес.

На властивості і реакційну здатність біологічно активних речовин суттєво впливає їхня просторова будова. Методи молекулярної механіки, квантової хімії надають можливість розрахувати геометричні параметри молекул, їхні енергетичні характеристики й електронну будову, які будуть адекватні експериментальним даним [9].

Завдання комп'ютерних програм, що реалізують методи молекулярної механіки й квантової хімії, полягає у розрахунку енергетичних характеристик молекули та у знаходженні її оптимальної геометричної будови шляхом пошуку мінімального значення енергії залежно від координат атомів. Отримана геометрична будова молекули є оптимізованою.

Одним із програмних комплексів, який дозволяє проводити дослідження просторової й електронної будови біологічно активних сполук, а також їх властивостей, є програма HyperChem. Вона зручна у використанні, має розвинений інтерфейс, дозволяє проводити обмін інформацією з іншими пакетами програм [9]. Усі розрахунки проведені в середовищі програми HyperChem у напівемпіричному валентному наближенні методом РМЗ, оскільки він є одним з найсучасніших квантово-хімічних параметричних наближень, результати розрахунків за допомогою якого надають можливість адекватно відтворити експериментальні дані. Перевагою використання методу комп'ютерного моделювання будови біологічно активних речовин є швидкість і простота отримання результатів, точність яких збігається з точністю експериментальних вимірювань [10].

Виклад основних результатів дослідження. У тканинах рослин антоціани зустрічаються, як правило, у вигляді глікозидів полігідрокси- та поліметокси- похідних солей 2-фенілбензопіріліуму або флавіліуму [6, 11]. Цукри зазвичай

приєднані в 3-положенні, також досить поширеними типами антоціанів є 3-глюкозиди та 3-рутинозиди (рис. 1).

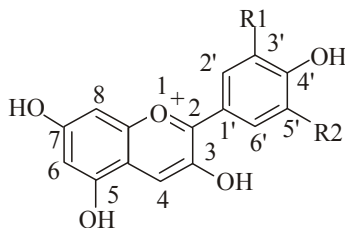


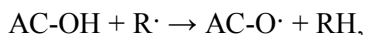
Рис. Флавіліум катіон — основа структури антоціанів

Індивідуальні антоціани розрізняються за кількістю гідроксильних груп, природою та кількістю приєднаних до молекули цукрів, за природою та кількістю аліфатичних або ароматичних кислот, приєднаних до цукру. В табл. 1 наведено порівняльну характеристику будови молекул досліджених антоціанів [12].

Таблиця 1. Радикали молекул антоціанідинів і місце їх приєднання в молекулі

Назва	Місце приєднання в молекулі						
	3	5	6	7	3'	4'	5'
Ціанідин	ОН	ОН	Н	ОН	ОН	ОН	Н
Дельфінідин	ОН	ОН	Н	ОН	ОН	ОН	ОН
Пеларгонідин	ОН	ОН	Н	ОН	Н	ОН	Н

Для прогнозування властивостей і реакційної здатності біологічно активних сполук можна застосовувати квантово-хімічні уявлення, враховуючи електростатичні (кулонівські) взаємодії між електронами і ядрами. На даному етапі дослідження було встановлено взаємозв'язок між електронною будовою антоціанів та їх здатністю вступати в одноелектронні реакції з вільними радикалами відповідно до рівняння:



де AC — антоціан; OH — гідроксильна група; R· — вільний радикал.

Найважливішою властивістю поліфенольних сполук з точки зору антиоксидантної активності є їхня здатність перетворюватися з окислених форм у відновлені, тобто з хінонних — у фенольні, що зумовлює їхню участь в окисно-відновних реакціях вільнорадикальних процесів. Молекули фенольних сполук, нейтралізуючи та інактивуючи радикал, самі перетворюються на малоактивні радикали. Антирадикальну активність мають тільки відновлені форми фенольних сполук, а хінонні форми є слабкими антиоксидантами. Хінонні форми відновлює, повертаючи їм таким чином антиокислювальні властивості, аскорбінова кислота. Перехід фенольних форм у хінонні є засобом регуляції вільнорадикального окислення мембран.

У літературі часто згадується про те, що аскорбінова кислота є потужним антиоксидантом, завдяки чому регулюються окисно-відновлювальні процеси в організмі, запобігаючи багатьом захворюванням радикального походження. Аскорбінова кислота не лише відновлює хінонні форми фенольних сполук, а й інші антиоксиданти, такі як вітаміни А і Е.

Аскорбінова кислота — це унікальна поліфункціональна сполука, здатна зворотно окислюватися та відновлюватися, завдяки чому вона бере участь у найважливіших процесах живої клітини.

Було досліджено електронну будову вихідних молекулярних структур, відповідних радикалів, хінонів і гідратованих сполук. Просторова будова речовин відповідала мінімуму загальної енергії, яку визначали шляхом її пошуку за координатами ядер. Значення загальної енергії сполук, яка оптимізована за координатами ядер, наведені у табл. 2.

Таблиця 2. Загальна енергія сполук

Сполука	Загальна енергія, -E, eV		
	пеларгонідин	ціанідин	дельфінідин
Молекулярна структура	3406,932	3700,677	3994,433
Радикал	3413,410	3707,223	4001,044
Гідратована сполука	3429,568	3723,373	4017,173
Хінон	3397,357	3691,149	3985,013

Встановлено, що з переходом від пеларгонідину до дельфінідину загальна енергія зменшується як для вихідних сполук, так і для радикалів, хінонів та гідратованих молекул. Такі зміни пов'язані зі збільшенням у цій послідовності кількості валентних електронів. Так, для вихідних сполук існує 100, 106 і 112 електронів відповідно для пеларгонідину, ціанідину та дельфінідину.

Найбільш стабільними є гідратовані сполуки антоціанів. Відповідні значення загальної енергії гідратованих сполук склали: пеларгонідин $-3429,57$ eV, ціанідин $-3723,37$ eV, дельфінідин $-4017,17$ eV. Для пеларгонідину, наприклад, загальна енергія з переходом від вихідного до гідратованого стану зменшується від $-3406,9$ до $-3429,6$ eV. Аналогічні зміни спостерігаються для ціанідину та дельфінідину. Навпаки, окиснення катіона молекули антоціану до стану хінону призводить до збільшення енергії (для ціанідину, наприклад, від $-3700,7$ до $-3691,1$ eV). Отже, хінон є менш стабільною сполукою порівняно з вихідним катіоном, його подальше перетворення, у тому числі й руйнування, сприяє утворенню стабільнішої структури.

У табл. 3 наведені енергія переходу (A_1) вихідного катіона до радикалу, енергії приєднання до радикалу атома водню (H_{ad}), а також переходу від катіона до відповідного хінону (H_q).

Таблиця 3. Енергії спорідненості вихідного катіона до електрона (A_1), приєднання атома водню до радикала (H_{ad}) і утворення хінону (H_q) для антоціанідинів

Природа переходу	Енергія, eV		
	пеларгонідин	ціанідин	дельфінідин
A_1	6,48	6,55	6,61
H_{ad}	16,16	16,15	16,13
H_q	-9,57	-9,53	-9,42

Порівняння наведених у табл. 3 даних свідчить, що спорідненість вихідного антоціанідину до електрона у послідовності від пеларгонідину до дельфінідину збільшується від 6,48 до 6,61 eV. Навпаки, енергія приєднання атома водню зменшується приблизно на 0,03 eV. Ці зміни пов'язані з дією гідроксильних груп, кількість яких у фенольному кільці антоціанідинів збільшується від

пеларгонідину до дельфінідину. Отже, електронно-донорний ефект гідроксильних груп, які беруть участь у π -кон'югації, зумовлює збільшення значення A_1 і зменшення N_{ad} .

Також було досліджено зв'язок між електронною будовою антоціанідинів та їх здатністю вступати в одноелектронні реакції з вільними радикалами. Для цього визначили розподілення електронних зарядів на атомах, що утворюють гідроксильні групи, здатні взаємодіяти з неспареним електроном вільних радикалів. У табл. 4 представлені результати квантово-хімічних напівемпіричних розрахунків величин відповідних електронних зарядів на атомах оксигенів гідроксильних груп.

Таблиця 4. Величини електронних зарядів на атомах гідроксильних груп антоціанідинів

Положення атома	Електронний заряд (q), eV		
	Пеларгонідин	Ціанідин	Дельфінідин
O ₃	-0,212	-0,200	-0,212
O ₅	-0,219	-0,219	-0,218
O ₇	-0,215	-0,203	-0,218
O _{3'}	Не існує	-0,247	-0,244
O _{4'}	-0,224	-0,223	-0,232
O _{5'}	Не існує	Не існує	-0,218

За даними табл. 4 можна зробити висновок, що в молекулі пеларгонідину найбільшою є ймовірність відщеплення протона спочатку від атома оксигену в положенні O₃, потім — O₇, O₅ і в останню чергу O_{4'}. Про це свідчить зростання абсолютного значення електронного заряду.

На відміну від пеларгонідину, в молекулі ціанідину міститься на одну гідроксильну групу більше. Це означає більшу кількість точок приєднання вільних радикалів. Ймовірність відщеплення протонів від існуючих гідроксильних груп відповідає такій послідовності: спочатку від атома оксигену в положенні O₃, потім O₇, O₅, O_{4'} і O_{3'}.

Порівняно з пеларгонідином, у молекулі дельфінідину міститься на дві гідроксильні групи більше. Ймовірність відщеплення протонів від існуючих гідроксильних груп відповідає такій послідовності: O₃, O₅, O_{5'}, O_{5'}, O_{4'} і O_{3'}.

У молекулі пеларгонідину ймовірність відщеплення протона від гідроксильних груп є найбільшою, на що вказують електронні заряди на атомах оксигену. Отже, молекула пеларгонідину буде швидше та легше вступати в реакції з вільними радикалами за рахунок відщеплення протонів гідроксильних груп. Це зумовлює більш високу антиоксидантну активність зазначеної сполуки. Найміцніше утримуються протони в гідроксильних групах дельфінідину. Розрахунки електронної будови молекул трьох антоціанів надали можливість пояснити і підтвердити більш високу антиоксидантну активність пеларгонідину порівняно з ціанідином і дельфінідином.

Висновки

У результаті проведених досліджень встановлено, що з трьох проаналізованих молекул антоціанів, а саме: пеларгонідину, ціанідину та дельфінідину, найбільш стабільною є молекула дельфінідину. Всі гідратовані сполуки є більш стабільними порівняно з їхніми вихідними форми. Найменш стійкими є хінон-

ні форми досліджених молекул, що свідчить про можливість їх легкого перетворення і руйнування. Логічно передбачити, що молекула пеларгонідину буде швидше та легше вступати в реакції з вільними радикалами за рахунок відщеплення протонів гідроксильних груп, що зумовлює вищу антиоксидантну активність зазначеної сполуки.

Дослідження хімічного складу, фізіологічних властивостей антоціанів лікарської сировини та сільськогосподарських культур, сумарних фітокомпозицій та індивідуальних речовин, у даному разі антоціанідинів, обґрунтовують конструювання й виробництво нових високоефективних дієтичних добавок, функціональних інгредієнтів, натуральних збагачувачів різних харчових середовищ і відкривають їхні нові природні джерела.

Таким чином, використання в харчових технологіях рослинних матеріалів з підвищеним вмістом антоціанідинів, передусім пеларгонідину, можна розглядати як перспективний шлях отримання напівфабрикатів і харчових продуктів антиоксидантного спрямування. Вони є необхідною складовою харчового раціону для осіб, життєдіяльність яких здійснюється в умовах несприятливих екологічних чинників, наприклад військовослужбовців, особливо в зоні бойових дій, рятувальників тощо.

Література

1. *Анисимович И.П.* Параметры антиоксидантной активности соединений / И.П. Анисимович, В.И. Дейнека, Л.А. Дейнека, П.А. Фролов, П.А. Мясникова // Научные ведомости БелГУ. Серия: Естественные науки. — 2010. — № 11. — С. 104—110.
2. *Запрометов М.Н.* Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях / М.Н. Запрометов. — М.: Наука, 1994. — 240 с.
3. *Шкарина Е.И.* О влиянии биологически активных веществ на антиоксидантную активность фитопрепаратов / Е.И. Шкарина, Т.В. Максимова, И.Н. Никулина и др. // Химико-фармацевтический журнал. — 2001. — Т. 35. — № 6. — С. 40—47.
4. *Синютина С.Е.* Экстракция флавоноидов из растительного сырья и изучение их антиоксидантных свойств / С.Е. Синютина, С.В. Романцова, В.Ю. Савельева // Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки. — 2011. — № 1. — С. 345—347.
5. *Лапин А.А.* Антиоксидантные свойства продуктов растительного происхождения / А.А. Лапин, М.Ф. Бортников, А.П. Карманов // Химия растительного сырья. — 2007. — № 2. — С. 79—83.
6. *Mazza G.* Anthocyanins in fruits, vegetables and grains / G. Mazza, E. Miniati. — Boca Raton: CRC Press Inc., 1993. — 362 p.
7. *Anthocyanins and other flavonoids* / J.B. Harborne [et al.] // Natural Product Reports. — 2001. — Vol. 18. — P. 310—333.
8. *Wang H.* Anthocyanin Transformation in Cabernet Sauvignon Wine during Aging / H. Wang // J. Agric. Food. — 2003. — Vol. 51. — P. 7989—7994.
9. *Соловьев М.Е.* Компьютерная химия / М.Е. Соловьев, М.М. Соловьев. — Москва: СОЛОН-Пресс, 2005. — 536 с.
10. *Бутырская Е.В.* Компьютерная химия: основы теории и работа с программами Gaussian и GaussView / Е.В. Бутырская. — Москва: СОЛОН-ПИРЕСС, 2011. — 244 с.
11. *Brouillard R.* Chemical structure of anthocyanins. / R. Brouillard // Anthocyanins as food colors / ed. by P. Markakis. — New York: Academic Press, 1982. — Ch. 1. — P. 1—40.
12. *Макаревич А.М.* Функции и свойства антоцианов растительного сырья / А.М. Макаревич, А.Г. Шутова, Е.В. Спиридович, В.Н. Решетников // Труды БГУ. — 2010. — Т. 4, выпуск 2. — С. 1—11.

**ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ
АНТОЦИАНОВ КАК НЕОБХОДИМЫХ КОМПОНЕНТОВ
ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ
УСЛОВИЯХ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ**

Н.А. Стеценко, Г.А. Симахина, И.Ю. Гойко, С.В. Халапсина
Национальный университет пищевых технологий

В статье представлены результаты компьютерного моделирования строения и антиоксидантных свойств антоцианов пеларгонидина, цианидина и дельфинидина. Исследовано электронное строение молекулярных структур, соответствующих радикалов, хинонов и гидратированных соединений. Обоснована и подтверждена более высокая антиоксидантная активность пеларгонидина по сравнению с цианидином и дельфинидином.

Ключевые слова: антоцианы, антиоксидантная активность, компьютерная химия, моделирование, электронное строение.