

文章编号: 1000-5013(2009)03-0280-04

# Trolox 及其酯化物与 DPPH 自由基的反应机理

杨 盈<sup>1</sup>, 刘 扬<sup>2</sup>, 聂 舟<sup>2</sup>, 胡高飞<sup>1</sup>, 严宝珍<sup>1</sup>

(1. 北京化工大学 理学院, 北京 100029;

2. 中国科学院 化学研究所, 北京 100190)

**摘要:** 通过<sup>1</sup>H 和<sup>13</sup>C 核磁共振及多种二维核磁共振谱, 确定水溶性维生素 E(Trolox) 及 Trolox 丙酯与 1,1-二苯基苦基肼自由基(DPPH<sup>·</sup>) 在二甲基亚砜(DMSO) 中反应的产物结构. 根据的产物结构分析可知, 两种抗氧化剂与 DPPH<sup>·</sup> 在 DMSO 中的反应机理有所不同. Trolox( 或 Trolox 正丙酯) 与 DPPH<sup>·</sup> 按相等浓度进行反应, 即 DPPH<sup>·</sup> 自由基单电子氧化色满醇基团生成色满醇自由基中间产物; 两个色满醇自由基进一步发生自歧化, 生成一分子色满醇和一分子氧化形式. Trolox 上的羧基与醌环相连生成环式的半醌结构, Trolox 正丙酯则因羧基酯化被占用而生成醌式结构.

**关键词:** Trolox; Trolox 正丙酯; DPPH<sup>·</sup>; 结构分析; 反应机理

**中图分类号:** O 656.4; Q 566

**文献标识码:** A

$\alpha$ 生育酚( $\alpha$ -Tocopherol, 维生素 E) 是生物体内最为重要的抗氧化剂之一. 作为一种链阻断自由基清除剂, 它构成了抵御生物膜内脂质过氧化的第 1 道防线<sup>[1]</sup>, 并在氧化应激有关疾病的临床治疗过程中起到重要作用, 因此得到越来越多的临床和流行病学研究结果的支持<sup>[2]</sup>. 由于其有效的抗氧化作用,  $\alpha$ 生育酚是一个新型高效抗氧化剂开发的理想初始结构. 其衍生物 Trolox 具有与  $\alpha$ 生育酚相同的抗氧化官能团, 因羧基的存在而具有水溶性, 应用更广泛. 同时也易于进行修饰, 比如将其修饰到纳米金颗粒的表面, 可以制得新型纳米抗氧化剂<sup>[3]</sup>. Trolox 也经常作为一种参照物, 来衡量其他抗氧化剂的抗氧化性<sup>[4]</sup>. DPPH<sup>·</sup> 检测方法是一种广泛应用的稳定自由基清除方法, 但是目前还没有关于  $\alpha$ 生育酚与 DPPH<sup>·</sup> 的反应产物的报道. 本文通过核磁共振分析 Trolox 与 DPPH<sup>·</sup> 在 DMSO 中的反应产物结构, 研究  $\alpha$ 生育酚类抗氧化剂与 DPPH<sup>·</sup> 的反应机理.

## 1 实验部分

### 1.1 试剂

DPPH<sup>·</sup> (美国 Alfa Aesar 公司); 氘代二甲基亚砜(DMSO-d<sub>6</sub>, 美国 CIL 公司); Trolox( 美国 Sigma-Aldrich 公司); Trolox 正丙酯; DMSO( 色谱纯, 使用前重蒸) .

### 1.2 核磁共振实验条件

以 DMSO-d<sub>6</sub> 为溶剂, 四甲基硅烷(TMS) 为内标, Trolox 和 Trolox 正丙酯分别与 2 倍的 DPPH<sup>·</sup> 反应 1 h. 在 Bruker AVANCE 600 上作一维 <sup>1</sup>H 谱、一维 <sup>13</sup>C 谱、DEPT135 谱、HMBC 谱、HSQC 谱检测.

## 2 结果与讨论

### 2.1 Trolox 与 DPPH<sup>·</sup> 在 DMSO 中的反应产物结构

进行检测的样品是 DPPH<sup>·</sup> 反应产物 DPPH<sub>2</sub> 和 Trolox 反应产物的混合物. 根据二维谱的结果以及文[5-6]中提供的 DPPH<sub>2</sub> 的 NMR 数据可将二者分开, 不会产生干扰. 因此, 采用核磁分析的方法对

收稿日期: 2008-06-02

通信作者: 严宝珍(1941-), 女, 教授, 硕士生导师, 主要从事波谱序的研究. E-mail: yanbz1941@163.com.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30570446)

Trolox 的反应产物进行鉴定, 如表 1 所示. 表 1 中,  $\delta_c$ ,  $\delta_H$  分别为<sup>13</sup>C NMR, <sup>1</sup>H NMR 的化学位移.

表 1 Trolox 与 DPPH<sup>·</sup> 反应产物的 NMR 数据

Tab.1 NMR assignments of the product of Trolox reacted with DPPH<sup>·</sup>

序号	$\delta_c$	$\delta_H$	HSQC /DEPT	HMBC
1	142. 17	—	C	—
2	130. 01	—	C	—
3	183. 73	—	C	—
4	136. 35	—	C	—
5	142. 17	—	C	—
6	100. 04	—	C	—
7	10. 74	1. 80( s)	CH <sub>3</sub>	G 1, 2, 3
8	11. 94	1. 87( s)	CH <sub>3</sub>	G 3, 4, 5
9	12. 90	1. 93( s)	CH <sub>3</sub>	G 4, 5, 6
10	22. 52	2. 50( m) 2. 96( m)	CH <sub>2</sub>	G 1, 2, 6, 11, 12
11	30. 63	1. 93( m) 2. 04( m)	CH <sub>2</sub>	G 10, 12, 13 G 1, 9, 10
12	79. 98	—	C	—
13	174. 18	—	C	—
14	19. 89	1. 50( s)	CH <sub>3</sub>	G 11, 12, 13

化学位移  $\delta_H$  为 1. 80, 1. 87, 1. 93, 分别代表六元环上的 3 个甲基, 根据它们 H M B C 谱中的相关, 可以确定出环上的各个碳.  $\delta_c$ = 183. 73 与两个甲基相关, 且化学位移很高, 说明是环上和双键氧相连的 C<sub>3</sub>. C<sub>6</sub> 化学位移  $\delta_c$  为 100. 04, 比 C<sub>3</sub> 小得多, 说明该环是半醌.  $\delta_c$  为 22. 52 上的氢和 G 1, 2, 6 相关, 所以是和半醌环相连的 C<sub>10</sub>.  $\delta_c$ = 30. 63 是和 C<sub>10</sub>相连的另一个仲碳 C<sub>11</sub>.  $\delta_c$ = 174. 18 是酯羰基上的 C<sub>13</sub>. 由此可确定产物为环式结构, 如图 1 所示. 由图 1 可知, 该结构与 Trolox 被 Br<sub>2</sub><sup>-</sup> 氧化的产物结构<sup>[7]</sup> 相同, 表明 DPPH<sup>·</sup> 和 Br<sub>2</sub><sup>-</sup> 的氧化能力相似.

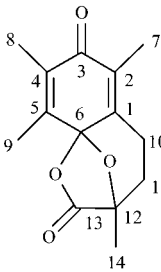


图 1 Trolox 反应产物结构

Fig. 1 The structure of the product of Trolox reacted with DPPH<sup>·</sup> in DMSO

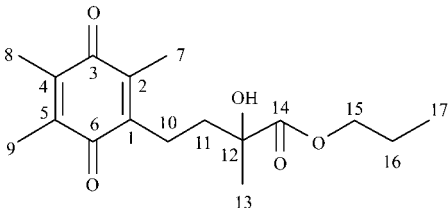


图 2 Trolox 正酯与 DPPH<sup>·</sup> 的反应产物结构

Fig. 2 The structure of the product of Trolox propyl ester reacted with DPPH<sup>·</sup> in DMSO

2. 2 Trolox 正丙酯与 DPPH<sup>·</sup> 在 DMSO 中的反应产物结构

Trolox 利用酯化反应或酰胺化反应进行修饰后, 羧基被占用, 无法形成 Trolox 反应产物那样的环式结构, 所以, 研究 Trolox 正丙酯与 DPPH<sup>·</sup> 的产物结构, 其核磁数据如表 2 所示. 分析核磁信息, 得到 Trolox 正丙酯与 DPPH<sup>·</sup> 的反应产物结构, 如图 2 所示. Trolox 正丙酯产物有 187. 43, 186. 75 两个化学位移(  $\delta_c$  )很高的碳(Trolox 产物只有 1 个), 这表明 Trolox 正丙酯产物是醌式结构而不是半醌.  $\delta_H$ = 1. 93 是六元环上 3 个甲基碳 C<sub>7</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>9</sub> 上的氢, 它的 H M B C 谱相关碳有  $\delta_c$ = 143. 65 和  $\delta_c$ = 140. 34, 由此可确定和甲基直接相连的碳.

$\delta_c$ = 21. 42 是和环相连的亚甲基 C<sub>10</sub>, 它的氢和  $\delta_c$ = 143. 65 远程相关, 说明  $\delta_c$ = 143. 65 是 C<sub>1</sub> 和 C<sub>2</sub>, 相应的  $\delta_c$ = 140. 34 就是 C<sub>4</sub> 和 C<sub>5</sub>. H<sub>10</sub>和  $\delta_c$ = 186. 75 远程相关, 表明  $\delta_c$ = 186. 75 是 C<sub>6</sub>, 因此,  $\delta_c$ = 187. 43 是 C<sub>3</sub>.  $\delta_c$ = 38. 94 是和 C<sub>10</sub>相连的亚甲基 C<sub>11</sub>.  $\delta_c$ = 66. 32 对应  $\delta_H$ = 4. 01, 表明- OCH<sub>2</sub>- 是 C<sub>15</sub>. H M B C 谱中  $\delta_H$ = 4. 01 与  $\delta_c$  为 175. 89, 22. 03, 10. 72 相关, 通过 DEPT 谱可知, 这 3 个碳分别为季碳、

仲碳和伯碳,因此,  $\delta_{\text{C}} = 175.89$  为酯羰基上的  $\text{C}_{14}$ ,  $\delta_{\text{C}} = 22.03$ ,  $\delta_{\text{C}} = 10.72$  为与  $\text{C}_{15}$  相连的亚甲基、甲基和  $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ .

表 2 Trolox 正丙酯与 DPPH $\cdot$  反应产物的 NMR 数据

Tab.2 NMR assignments of the product of Trolox propyl ester reacted with DPPH $\cdot$

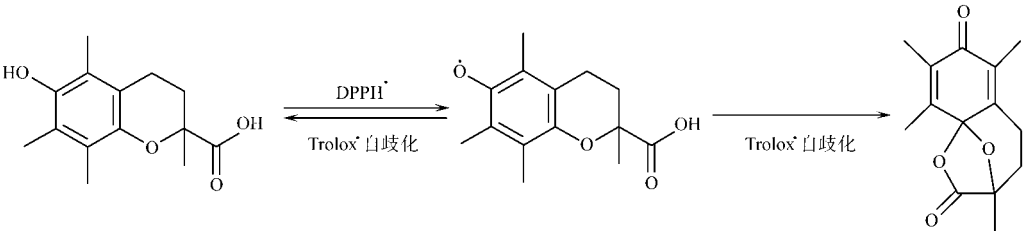
序号	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	HSQC /DEPT	HMBC
1,2	143.65	—	C	—
3	187.43	—	C	—
4,5	140.34	—	C	—
6	186.75	—	C	—
7,8,9	12.08	1.93(s)	$\text{CH}_3$	G-1,2,4,5,10,11
	12.55	2.30(m)		
10	21.42	2.54(m)	$\text{CH}_2$	G-1,2,6,11,12
		1.61(m)		
11	38.94	1.72(m)	$\text{CH}_2$	G-1,2,10,12,13,15
		—		
12	73.99	—	C	—
13	26.41	1.31(s)	$\text{CH}_3$	G-1,2,10,11,12,14
14	175.89	—	C	—
15	66.32	4.01(m)	$\text{CH}_2$	G-14,16,17
16	22.03	1.58(m)	$\text{CH}_2$	G-15,17
17	10.72	0.90(t)	$\text{CH}_3$	G-15,16

2.3 Trolox 和 Trolox 正丙酯与 DPPH $\cdot$  的反应机理

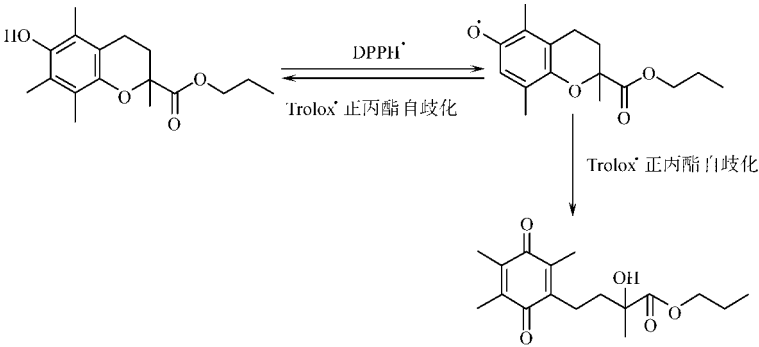
根据以上的产物结构分析,参考 Trolox 与  $\text{Br}_2$  的反应机理<sup>[7]</sup>和已知的  $\alpha$ 生育酚的氧化过程,得到 Trolox 和 Trolox 正丙酯与 DPPH $\cdot$  在 DMSO 中的反应机理,如图 3 所示. 反应过程可分为以下两步.

(1) Trolox(或 Trolox 正丙酯)与 DPPH $\cdot$  按相等浓度进行反应,即 DPPH $\cdot$  自由基单电子氧化色满醇基团生成色满醇自由基中间产物. 这一步, Trolox 和 Trolox 正丙酯是相同的.

(2) 两个色满醇自由基进一步发生自歧化,生成一分子色满醇和一分子氧化形式<sup>[8]</sup>. 此时, Trolox 上的羧基与醌环相连生成环式的半醌结构, Trolox 正丙酯则因羧基酯化被占用而生成醌式结构. 两种抗氧化剂结构的不同,造成与 DPPH $\cdot$  反应后的氧化产物结构不同,反应机理有差异.



(a) Trolox 与 DPPH $\cdot$  的反应机理



(b) Trolox 正丙酯与 DPPH $\cdot$  的反应机理

图 3 Trolox 和 Trolox 正丙酯与 DPPH $\cdot$  的反应过程

Fig. 3 The reaction process of Trolox and Trolox propyl ester reacted with DPPH $\cdot$

### 3 结束语

通过核磁共振方法指认, Trolox 和 Trolox 正丙酯分别与 DPPH<sup>·</sup> 自由基在 DMSO 中反应的产物结构, 并讨论这两种抗氧化剂在 DMSO 中与 DPPH<sup>·</sup> 自由基的反应机理. 结果发现, 两者机理有所不同. 本文为  $\alpha$ -生育酚类抗氧化剂的机理研究, 以及为文[3]中所述的纳米金抗氧化剂的研究提供思路.

#### 参考文献:

- [1] BRIGELIUS-FLOHE R, TRABER M G. Vitamin E: Function and metabolism[J]. FASEB J, 1999, 13: 1145-1155.
- [2] TUCKER J M, TOWNSEND D M. Alpha-tocopherol: Roles in prevention and therapy of human disease[J]. Biomed Pharmacother, 2005, 59: 380-387.
- [3] ZHOU Nie, LIU Ke-jian, ZHONG Huan-jian, et al. Enhanced radical-scavenging activity by antioxidant-functionalized gold nanoparticles: A novel inspiration for development of new artificial antioxidant[J]. Free Radic Bio Med, 2007, 43: 1243-1254.
- [4] 杨锦华, 李 博, 籍保平. 我国常见食用和药用植物的抗氧化性研究[J]. 食品科学, 2006, 27(6): 87-91.
- [5] RABDT L T, JOHN A W. Effect of Solvent on intramolecular reorientation in 2, 2-diphenyl- (2, 4, 6-trinitrophenyl) hydrazine[J]. J Phys Chem, 1990, 94: 3951-3958.
- [6] CONSTANTIN L, PETRE I, MIRON T C, et al. Interphase processes involving hydrazine derivatives (Ⅴ)[J]. Revue Roumaine de Chimie, 1998, 43(1): 25-30.
- [7] MICHAEL J T, BENON H J B. Oxidation and reaction of trolox C, a tocopherol analogue, in aqueous solution: A pulse-radiolysis study[J]. J Am Chem Soc, 1989, 111: 3315-3319.
- [8] WENDEL A, FAUSEL M, SAFAYHI H, et al. A novel biologically active seleno-organic compound (Ⅵ): Activity of PZ 51 in relation to glutathione peroxidase[J]. Biochem Pharmacol, 1984, 33: 3241-3245.

## Reaction Mechanism of Trolox and Its Ester Derivative Reacted with DPPH<sup>·</sup> Radical

YANG Ying<sup>1</sup>, LIU Yang<sup>2</sup>, NIE Zhou<sup>2</sup>,  
HU Gao-fei<sup>1</sup>, YAN Bao-zhen<sup>1</sup>

(1. School of Science, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100092, China;

2. Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190)

**Abstract:** The reaction products of water-soluble  $\alpha$ -tocopherol (Trolox) and Trolox propyl ester treated with 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH<sup>·</sup>) in DMSO was detected by <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR and 2D NMR. Structure analysis shows the reaction mechanisms of these two kinds of antioxidants with DPPH<sup>·</sup> are partly different. As Trolox (or Trolox propyl ester) react with DPPH<sup>·</sup> at same concentration, chromanol groups are oxidized to intermediate products-chromanol radicals. Then disproportionation of two chromanol radicals produces a chromanol and an oxidized molecular. The products of Trolox are found as semiquinone, and that of trolox propyl ester are quinone.

**Keywords:** Trolox; Trolox propyl ester; DPPH<sup>·</sup>; structure analysis; reaction mechanism

(责任编辑: 钱 筠 英文审校: 陈国华)