



DOI:10.22144/ctu.jvn.2019.007

CƠ CHẾ KHÁNG OXY HÓA CỦA CÁC POLYPHENOLS

Phạm Vũ Nhật

Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Phạm Vũ Nhật (email: nhat@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 02/08/2018

Ngày nhận bài sửa: 03/10/2018

Ngày duyệt đăng: 27/02/2019

Title:

Antioxidant mechanism of polyphenols

Từ khóa:

Antioxidant mechanism, B3LYP, baicalein, DFT, polyph

Keywords:

Antioxidant mechanism, B3LYP, baicalein, DFT, polyphenol

ABSTRACT

Quantum-chemical calculations based on density functional theory (DFT) at the B3LYP/6-311++G(d,p) level are employed to study the radical scavenging activity of baicalein, a polyphenol characterized as flavonoid. All calculations are performed in gas-phase and in some other solvents with different degree of polarity. Current results contribute to elucidating the antioxidant mechanism of polyphenols and also may provide us with basic theories for related studies in futures.

TÓM TẮT

Lý thuyết phiếm hàm mật độ (DFT) với phiếm hàm B3LYP và bộ cơ sở 6-311++G(d,p) được sử dụng để đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa của baicalein, một polyphenol thuộc nhóm flavonoid. Những tính toán được thực hiện trong pha khí và trong một số dung môi có tính phân cực khác nhau như benzene, ethanol và nước. Các kết quả thu được góp phần làm sáng tỏ cơ chế kháng oxy hóa của các polyphenol đồng thời cung cấp lý thuyết cơ sở cho các nghiên cứu có liên quan trong tương lai.

Trích dẫn: Phạm Vũ Nhật, 2019. Cơ chế kháng oxy hóa của các polyphenols. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(1A): 54-58.

1 GIỚI THIỆU

Xã hội ngày càng phát triển, bên cạnh những thành tựu đạt được, chúng ta phải đối mặt với nhiều mối đe dọa khác. Cùng với thiên tai, chiến tranh và ô nhiễm môi trường, bệnh tật trở thành mối quan tâm hàng đầu. Trong nhiều nguyên nhân gây ra bệnh tật thì sự hiện diện quá mức và mất cân đối của các gốc tự do (free radical) có thể gây ra nhiều bệnh lý nguy hiểm. Gốc tự do rất không ổn định, hoạt động mạnh và luôn có xu hướng chiếm đoạt điện tử của các cấu trúc lân cận, tạo ra hàng loạt gốc tự do mới, quá trình diễn ra theo một phản ứng dây chuyền. Sự tấn công của các gốc tự do gây ra rất nhiều bệnh khác nhau, thí dụ như thoái hóa thần kinh, đau nửa đầu, đột quỵ, thoái hóa võng mạc, điểm vàng, đục thủy tinh thể, lão hóa da, ảnh hưởng tới hệ miễn dịch, xơ hóa cơ tim, mạch máu, cao huyết áp, rối loạn chức năng tế bào nội mô (Abheri *et al.*, 2010; Halliwell, 2011).

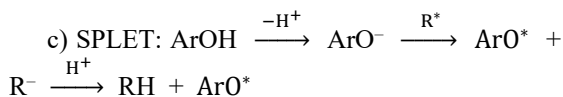
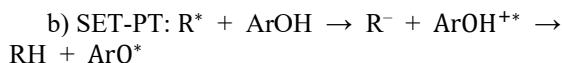
Thông thường, cơ thể chúng ta có khả năng điều hòa quá trình oxy hóa và duy trì hàm lượng gốc tự do ở mức độ cho phép nên cơ thể vẫn khỏe mạnh. Nhưng sự gia tăng đột ngột các tác động từ bên ngoài sẽ phá vỡ sự ổn định quá trình oxy hóa và khả năng tự “thu dọn” các gốc tự do của cơ thể, và do đó sẽ dẫn tới các tình trạng bệnh lý. Bên cạnh khả năng tự chống oxy hóa của cơ thể, từ lâu, con người đã biết và sử dụng bổ sung các vitamin A, C, E và đặc biệt là các polyphenol tự nhiên như những chất chống oxy hóa hữu hiệu. Sự tương tác giữa các gốc tự do và chất kháng oxy hóa là yếu tố quan trọng trong việc duy trì sức khỏe. Sự tăng các gốc tự do dẫn đến sự mất cân bằng oxy hóa trong cơ thể, nếu quá trình tạo ra gốc tự do vượt quá tác dụng bảo vệ của các chất kháng oxy hóa sẽ dẫn đến các bệnh liên quan đến lão hóa (Khalid, 2007).

Khả năng kháng oxy hóa của các polyphenol do đó thu hút sự quan tâm đặc biệt của các nhà khoa

học về thực phẩm cũng như dược phẩm. Hiện nay, hoạt tính kháng oxy hóa thường được đánh giá dựa vào khả năng làm mất màu gốc tự do bền như 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Phản ứng với DPPH rất nhạy cảm với điều kiện thí nghiệm, thí dụ như nồng độ của DPPH cũng như của chất kháng oxy hóa, bản chất của dung môi, nhiệt độ, thời gian và pH dung dịch. Sự thiếu đồng nhất trong việc chuẩn bị mẫu, điều kiện phản ứng, qui trình phân tích làm cho việc so sánh, đánh giá kết quả thu được từ những phòng thí nghiệm hoặc những lần thí nghiệm khác nhau gặp rất nhiều khó khăn (Chen *et al.*, 2015). Trong khi đó, về nguyên tắc, hoạt tính kháng oxy hóa của một hợp chất có thể được đánh giá một cách định lượng dựa vào các mô hình tính toán hóa học lượng tử. Hơn nữa, thông qua các mô hình tính toán, chúng ta sẽ có cái nhìn sâu hơn về các cơ chế, bản chất của mỗi cơ chế và các đại lượng nhiệt động đặc trưng cho mỗi cơ chế.

2 CÁC CƠ CHẾ KHÁNG OXY HÓA

Theo Leopoldini *et al* (2011), quá trình kháng oxy hóa của các hợp chất phenolic có thể diễn ra theo cơ chế (i) HAT (hydrogen atom transfer); (ii) SET-PT (single electron transfer followed by proton transfer) hoặc (iii) SPLET (sequential proton loss electron transfer). Các quá trình trên được tóm tắt như sau:



Trong cơ chế chuyển nguyên tử HAT, chất kháng oxy hóa (ArOH) phản ứng trực tiếp với gốc tự do (R^*) tạo phân tử bền RH thông qua quá trình phân ly liên kết O–H. Hoạt tính của ArOH do đó được quyết định bởi năng lượng phân ly liên kết O–H. Cơ chế chuyển electron – chuyển proton (SET-PT) gồm hai giai đoạn: tách electron cho $ArOH^{+*}$, theo sau là quá trình trao đổi proton. Trong trường hợp này, hợp chất có năng lượng ion hóa và năng lượng tách proton càng nhỏ, hoạt tính kháng oxy hóa càng mạnh. Đối với cơ chế mất proton – chuyển electron (SPLET), ái lực proton và enthalpy trao đổi electron của anion ArO^- đóng vai trò quyết định. Như vậy, hoạt tính kháng oxy hóa của một hợp chất có thể được đánh giá thông qua các tham số nhiệt động như năng lượng phân ly liên kết (BDE), năng lượng ion hóa (IP), năng lượng tách proton (PDE), ái lực proton (PA) và enthalpy trao đổi electron (ETE). Các tham số nhiệt động trên được xác định như sau:

$$BDE = E(ArO^*) + E(H) - E(ArOH)$$

$$PA = E(ArO^-) + E(H^+) - E(ArOH)$$

$$IP = E(ArOH^+) - E(ArOH)$$

$$PDE = E(ArO^*) + E(H^+) - E(ArOH)$$

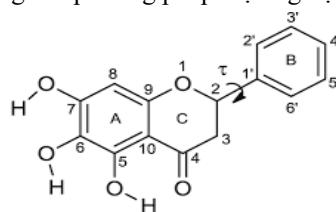
$$ETE = E(ArO^*) + E(e) - E(ArO^-)$$

Trong đó, $E(X)$ là năng lượng tối ưu của cấu tử X; $E(H) = -0,49765$ hartree là năng lượng của nguyên tử H (khí) ở trạng thái cơ bản. Đối với các phép tính trong dung môi nước, các giá trị sau đây được sử dụng $E_{hydr}(H) = -0,00152$ hartree (Parker, 1992), và $E_{hydr}(H^+) = -0,438012$ hartree (Mejías *et al.*, 2000). Các giá trị năng lượng $E(X)$ đã bao gồm năng lượng điểm không ZPE (zero-point energy) và sự hiệu chỉnh nhiệt lên enthalpy (thermal correction to enthalpy).

Tất cả các tính toán mô phỏng được thực hiện bằng cách sử dụng gói chương trình Gaussian 09. Cấu trúc và năng lượng của các cấu tử trung hòa cũng như các gốc tự do, các cation và anion tương ứng được tối ưu hóa ở mức lý thuyết B3LYP/6-311++G(d,p). Tần số dao động điều hòa (harmonic vibrational frequencies) cũng được tính nhằm xác định dạng hình học tối ưu tương ứng với cực tiểu địa phương (local minima) và để hiệu chỉnh các giá trị nhiệt động. Để thu được kết quả tính toán gần với thực tế hơn, sự ảnh hưởng của dung môi cũng được khảo sát dựa vào mô hình phân cực liên tục phương trình tích phân (Integral Equation Formalism Polarizable Continuum Model – IEFPCM).

3 BAICALEIN – MỘT VÍ DỤ ĐIỂN HÌNH

Baicalein (Hình 1) là một flavonoid hiện diện nhiều trong cây Hoàng Cầm (*Scutellaria baicalensis Georgi*), thường được sử dụng trong điều trị viêm gan mãn tính, viêm phế quản và viêm da dị ứng (Chi *et al.*, 2003). Đây là một chất kháng oxy hóa tự nhiên điển hình và được xếp vào nhóm dưỡng chất thiết yếu cho các hệ thống sinh lý và quá trình phục hồi sức khỏe. Hoạt tính sinh hóa và sinh lý của nó đã được công nhận rộng rãi và là đối tượng của nhiều nghiên cứu gần đây (Massaro *et al.*, 2016). Tuy nhiên, do chứa nhiều nhóm OH, việc nghiên cứu cơ chế kháng oxy hóa của baicalein là rất phức tạp nếu chỉ sử dụng các phương pháp thực nghiệm.



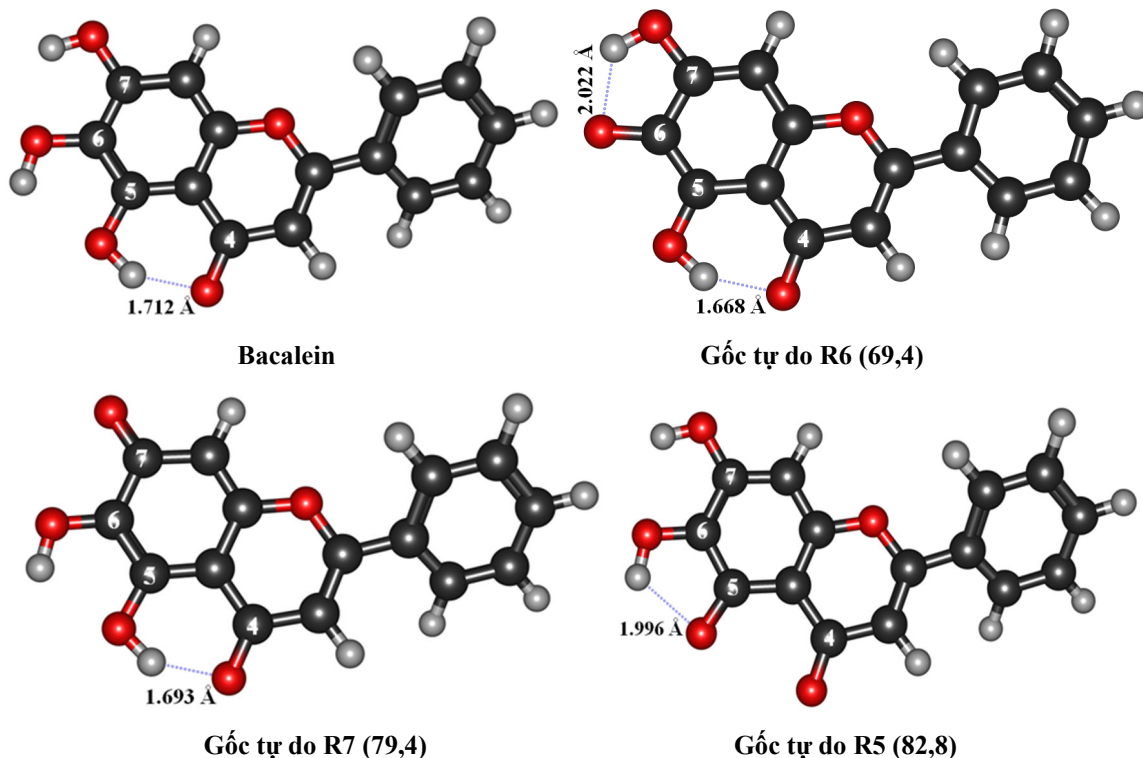
Hình 1: Cấu trúc hóa học và cách đánh số trong phân tử baicalein

Bảng 1: Năng lượng phân ly liên kết BDE (kcal/mol) của baicalein tính tại mức lý thuyết B3LYP/6-311++G(d,p)

Vị trí OH	Dung môi			
	Pha khí	Benzene	Ethanol	Nước
5-OH	82,8	83,7	80,5	75,8
6-OH	69,4	70,1	68,3	66,3
7-OH	79,4	80,5	78,3	73,9

Để tìm hiểu cơ chế kháng oxy hóa của baicalein, trước hết chúng ta tính biến thiên năng lượng của quá trình hình thành các sản phẩm trung gian như

gốc tự do, anion hóa trị 1. Trong cơ chế HAT, phân tử quercetin (ArOH) sẽ chuyển cho gốc tự do một nguyên tử H linh động của nhóm OH, hình thành gốc tự do ArO[•]. Tiếp theo, gốc tự do ArO[•] có thể chuyển thêm một nguyên tử H ở những vị trí OH khác để tạo thành quinone, hay phản ứng với gốc tự do khác để tạo nên sự ổn định của chính nó. Gốc tự do càng bền, sự phân ly liên kết càng dễ xảy ra và hoạt tính kháng oxy hóa càng mạnh. Bảng 1 liệt kê các giá trị BDE của các nhóm OH ở các vị trí khác nhau được tính tại mức lý thuyết B3LYP/6-311++G(d,p) trong pha khí và trong một số dung môi khác.



Hình 2: Cấu trúc của baicalein và của các gốc tự do tương ứng được tối ưu ở mức lý thuyết B3LYP/6-311++G(d,p). Giá trị trong dấu ngoặc đơn là năng lượng phân ly liên kết BDE (kcal/mol)

Bảng 1 cho thấy vị trí tách nguyên tử H thuận lợi nhất là ở nhóm 6-OH (vòng A) với giá trị BDE tương ứng là 69,4 kcal/mol (pha khí). Khi hình thành gốc tự do ở vị trí số 6 (Hình 2) sẽ tạo được hai liên kết H giữa OH(5) và O(4), OH(7) và O(6). Các gốc tự do hình thành ở hai vị trí còn lại (R5 và R7, Hình 2) không xuất hiện 2 liên kết H như trên nên kém bền hơn. Độ dài các liên kết H trong các gốc tự do baicalein được thể hiện trên Hình 2. Nếu xét đến sự ảnh hưởng của dung môi ta thấy giá trị BDE tăng dần theo thứ tự khí < benzene < ethanol < nước. Giá trị BDE trong nước là nhỏ nhất, phù hợp với tính phân cực mạnh của môi trường. Điều này có thể giải thích do liên kết H hình thành giữa phân tử nước và

nhóm OH của phân tử baicalein làm cho nguyên tử H của nhóm OH dễ dàng tách ra khỏi phân tử hơn.

Tiếp theo, chúng ta xét cơ chế SET-PT (chuyển electron – chuyển proton) gồm hai giai đoạn. Trước hết, một electron của chất kháng oxy hóa ArOH được tách ra và chuyển cho gốc tự do, hình thành gốc tự do cation ArOH^{•+}; tiếp theo là quá trình trao đổi proton. Trong trường hợp này, năng lượng ion hóa (IE) và năng lượng tách proton (PDE) quyết định khả năng kháng oxy hóa của hợp chất. Với giá trị IE càng nhỏ, sự tách electron càng dễ xảy ra. Bảng 2 liệt kê các giá trị IE, PDE của baicalein tính trong pha khí và trong một số dung môi khác.

Bảng 2: Giá trị IE, PDE (kcal/mol) của baicalein tính tại mức lý thuyết B3LYP/6-311++G(d,p)

Vị trí OH	IE		PDE		IE + PDE		IE + PDE	
	Pha khí	Benzene	Ethanol	Nước	Pha khí	Benzene	Ethanol	Nước
5-OH			230	397	180	123		73
6-OH	167		216	383	168	114		63
7-OH			227	394	178	122		72

Các giá trị IE, PDE cũng như tổng IE + PDE trong Bảng 2 cho thấy vị trí OH số 6 cũng là dễ tách proton nhất. Ngoài ra, tổng IE + PDE trong pha khí là khá lớn và giảm dần theo chiều tăng độ phân cực của dung môi. Điều này chứng tỏ dung môi càng

phân cực thì phản ứng kháng oxy hóa của các hợp chất nghiên cứu càng dễ xảy ra theo cơ chế SET-PT. Dung môi nước có tổng IE + PDE nhỏ nhất trong các dung môi nghiên cứu, chứng tỏ trong nước khả năng kháng oxy hóa của các flavonoid theo cơ chế SET-PT là tốt nhất.

Bảng 3: Giá trị PA và ETE (kcal/mol) của anion ArO⁻ thuộc baicalein tính trong các môi trường khác nhau tại mức lý thuyết B3LYP/6-311++G(d,p)

Vị trí OH	Ái lực proton PA				Năng lượng trao đổi electron ETE			
	Pha khí	Benzene	Ethanol	Nước	Pha khí	Benzene	Ethanol	Nước
5-OH	330	92,2	35,2	22,8	67,0	87,8	89,2	52,3
6-OH	323	85,5	29,6	17,3	60,1	81,3	83,6	46,8
7-OH	324	86,4	30,3	18,0	70,7	91,9	93,9	57,0

Đối với cơ chế mất proton – chuyển electron (SPLET), ái lực proton (PA) và năng lượng trao đổi electron (ETE) của anion ArO⁻ đóng vai trò quyết định. Trong cơ chế này, đầu tiên xảy ra quá trình phân cắt dị ly nhóm OH để hình thành anion ArO⁻ và giải phóng một proton. Trong bước tiếp theo, anion ArO⁻ được sinh ra từ bước đầu tiên sẽ chuyển một electron để tạo gốc tự do ArO[•]. Các giá trị PA và ETE của hợp chất nghiên cứu được tóm tắt trong Bảng 3.

Bảng 4: Tổng giá trị PA + ETE của baicalein trong các môi trường khác nhau tính ở mức lý thuyết B3LYP/6-311++G(d,p)

Vị trí O-H	PA + ETE (kcal/mol)				
	Pha khí	Benzene	Ethanol	DMSO	Nước
5-OH	397	180	124	103	73
6-OH	383	167	112	93	63
7-OH	395	178	122	103	72

Bảng 3 cho thấy ái lực proton PA thấp nhất vẫn là nhóm OH ở vị trí số 7, ứng với vị trí phân ly proton thuận lợi nhất. Ngoài ra, giá trị PA trong pha khí cao hơn trong các môi trường khác rất nhiều và giảm gần như tuyến tính theo chiều tăng của hằng số điện môi. Dung môi nước ảnh hưởng mạnh đến việc làm giảm các giá trị của PA vì sự solvate hóa ion H⁺ giải phóng khá nhiều năng lượng. Giá trị PA là 323 kcal/mol so với giá trị 29,6 và 17,3 kcal/mol trong dung môi ethanol và nước. Dung môi càng phân cực càng làm ổn định các phân tử mang điện như anion ArO⁻ và cation H⁺. Trong khi đó, giá trị ETE có xu hướng tăng dần khi chuyển từ pha khí vào dung môi ethanol. Tuy nhiên, trong dung môi nước giá trị này

giảm đáng kể. Điều này chứng tỏ trong dung môi phân cực mạnh hơn quá trình chuyển electron của anion dễ dàng hơn trong các dung môi kém phân cực hơn.

So sánh các giá trị nhiệt động của hai cơ chế SET-PT và SPLET ta thấy tổng IE + PDE (Bảng 2) ở cơ chế chuyển electron – chuyển proton và tổng PA + ETE (Bảng 4) ở cơ chế mất proton – chuyển electron gần như là bằng nhau. Điều này hoàn toàn hợp lý bởi vì hai cơ chế SET-PT và SPLET là hai con đường khác nhau của một dạng cơ chế tổng quát là cơ chế chuyển electron (SET). Kết quả của phản ứng theo cơ chế này là một electron sẽ được chuyển từ chất kháng oxy hóa sang gốc tự do để khử gốc tự do đó. Sự khác nhau giữa các giá trị nhiệt động trong các môi trường khác nhau đặc trưng cho các phản ứng liên quan đến những phân tử mang điện tích.

4 KẾT LUẬN

Hoạt tính kháng oxy hóa của các polyphenol có thể được đánh giá một cách định lượng dựa vào các đại lượng nhiệt động như năng lượng phân ly liên kết O-H (BDE), năng lượng ion hóa (IE) với năng lượng phân ly proton (PDE), ái lực proton (PA) và năng lượng chuyển electron (ETE). Kết quả tính toán trên baicalein cho thấy hoạt tính kháng oxy hóa phụ thuộc vào môi trường phản ứng: mạnh nhất trong nước và kém nhất trong pha khí. Trong pha khí và dung môi không phân cực, cơ chế chuyển nguyên tử (HAT) được ưu tiên. Ngược lại, trong dung môi phân cực, cơ chế chuyển electron (SET-PT, SPLET) được ưu tiên hơn. Trong từng cơ chế kháng oxy hóa, vị trí O-H liên quan đến quá trình bắt giữ gốc tự do cũng được xác định. Nhìn chung,

đối với baicalein, OH số 6 là vị trí kháng oxy hóa tiềm năng nhất.

LỜI CẢM ƠN

Tác giả chân thành cảm ơn Trung tâm tính toán Đại học Jackson States, Hoa Kỳ đã cho phép sử dụng sức máy để thực hiện những tính toán trong nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abheri, D.S., Anisur, R.M. and Ghosh, A.K., 2010. Free radicals and their role in different clinical conditions: An overview. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 1(3): 185-192.

Chen, Y., Xiao, H., Zheng, J. and Liang, G., 2015. Structure-thermodynamics-antioxidant activity relationships of selected natural phenolic acids and derivatives: An experimental and theoretical evaluation. *PLoS One*.10(3): eCollection 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0121276.

Chi, Y.S., Lim, H., Dark, H. and Kim, H.P., 2003. Effects of wogonin, a plant flavone from *Scutellaria radix*, on skin inflammation: in vivo regulation of inflammation-associated gene expression. *Biochemical Pharmacology*. 66(7): 1271-1278.

Halliwell, B., 2011. Free radicals and antioxidants - quo vadis? *Trends in Pharmacological Sciences*. 32(3): 125-30.

Khalid, R., 2007. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical Interventions in Aging*, 2(2): 219-236.

Leopoldini, M., Russo, N. and Toscano, M., 2011. The molecular basis of working mechanisms of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*. 125(2): 288-306.

Massaro, M., RIELA, S., Guernelli, S., Parisi, F., Lazzara, G., Baschieri, A., Valgimigli, L. and Amorati, R., 2016. A synergic nanoantioxidant based on covalently modified halloysite-trolox nanotubes with intra-lumen loaded quercetin. *Journal of Materials Chemistry B*. 4(13): 2229-2241.

Mejias, J. A. and Lago, S., 2000. Calculation of the absolute hydration enthalpy and free energy of H⁺ and OH⁻. *Journal of Chemical Physics*. 113(17): 7306-7316.

Parker, V. D., 1992. Homolytic bond (H-A) dissociation free energies in solution-applications of the standard potential of the (H⁺/H) couple. *Journal of the American Chemical Society*. 114(19): 7458-7462.