

РОЛЬ ФЛАВОНОИДОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЯХ С ПЕРЕНОСОМ ЭЛЕКТРОНОВ

Е.М. Червяковский, В.П. Курченко, В.А. Костюк

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь.

Условные обозначения:

АФК – активные формы кислорода;

окислительно-восстановительные (процессы, реакции, взаимодействия и т. п.);

ОВП – окислительно-восстановительный потенциал;

ПО – пероксидаза;

ТПО – тиропероксидаза;

МПО – миелопероксидаза.

Введение

Флавоноиды – обширный класс низкомолекулярных многоатомных фенолов растительного происхождения. Исследование их строения, физико-химических свойств, функций в растениях и биологических активностей по отношению к другим организмам были начаты еще в 30-х годах прошлого столетия [1]. Однако интерес к проблеме флавоноидов не ослабевает до сих пор. Накопленные знания свидетельствуют о том, что флавоноиды способны оказывать влияние на ход самых разнообразных физиологических процессов по различным механизмам [2]. Долгое время считалось, что в основе биологического действия фенольных соединений лежат их антиоксидантные свойства, заключающиеся в способности реагировать со свободорадикальными соединениями, образующимися в условиях окислительного стресса [3,4]. Относительно недавно было установлено, что флавоноиды оказывают влияние и на сигнальные процессы, протекающие в живых системах, за счет специфического взаимодействия с белками, выполняющими регуляторные функции [5]. Накоплены многочисленные сведения о воздействии данных соединений с другими белковыми и небелковыми структурами, что может привести к изменению функционального состояния клеток и всего организма в целом. Несмотря на то, что сейчас окислительно-восстановительным (ОВ) свойствам фенольных соединений придается не столь большое значение, их всестороннее изучение до сих пор остается важной задачей. Фенольные соединения с высокой ОВ активностью широко используются на практике при профилактике и лечении заболеваний, протекающих на фоне окислительного стресса [6,7]. Эффективные и малотоксичные природные антиоксиданты по-прежнему находят свое применение для решения многих технологических задач и повышения качества выпускаемой продукции в пищевой, косметической и фармацевтической промышленности [8]. Эти факты определяют необходимость изучения реакционной способности фенольных антиоксидантов по отношению к компонентам живых систем с целью понимания механизмов их биологического действия. В данной работе собраны некоторые сведения о строении, классификации флавоноидов и их электрохимических свойствах. Приводится краткий обзор данных, касающихся окислительно-восстановительных реакций флавоноидов, протекающих в присутствии низкомолекулярных соединений и ферментативных систем. Обсуждаются вероятные механизмы данных реакций и их биологическое значение.

Структура и номенклатура флавоноидов

К флавоноидам относятся природные соединения, представляющие собой различные производные бензо- γ -пирона (хромона) [9,10]. В настоящее время насчитывается более 8 000 представителей класса флавоноидов [11]. Большинство из них имеет фенилхрома(е)новую структуру (рисунок 1). Она состоит из двух бензольных колец (А и В), соединенных между собой пирановой или пиррольной гетероциклической группировкой

(кольцо С). В зависимости от наличия или отсутствия С4 карбонильной группы, С2-С3 двойной связи, количества и положения гидроксильных групп флавоноиды подразделяются на подклассы.

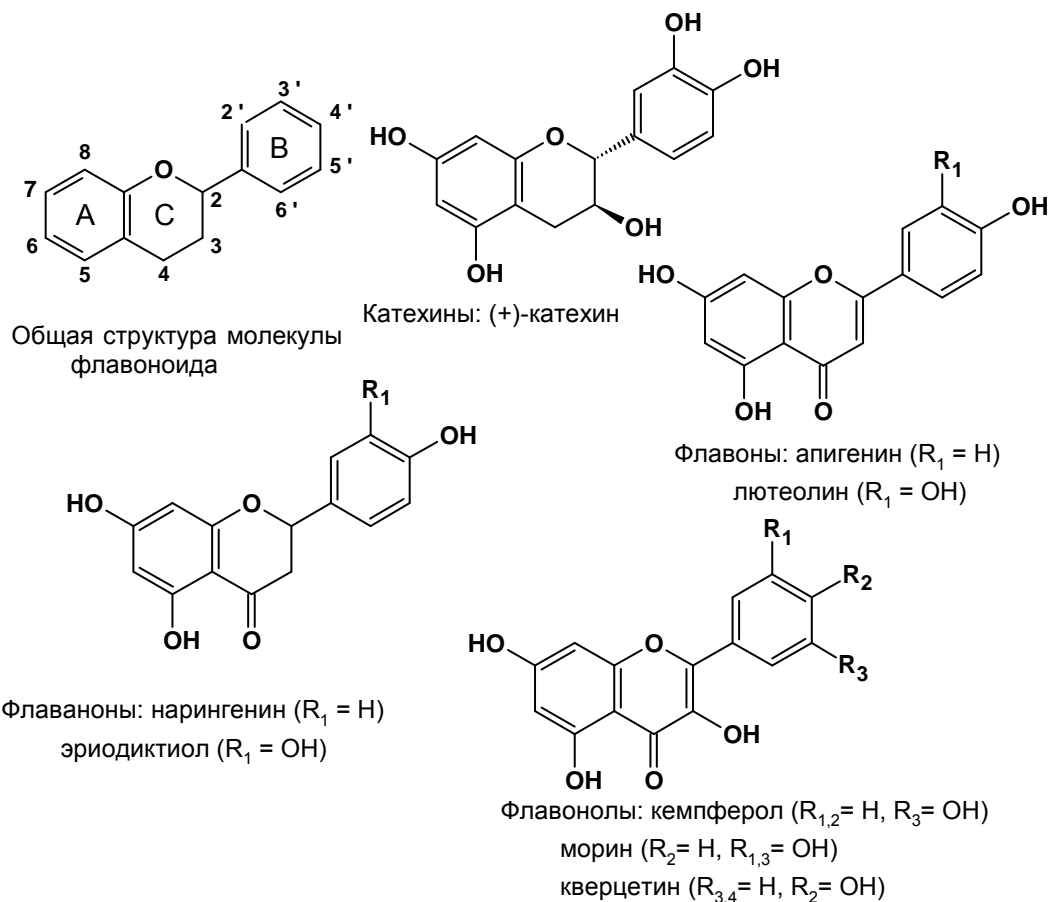


Рисунок 1 – Структурные формулы некоторых флавоноидов

Производные 2-фенил-3-гидроксихроманов относятся к подклассу катехинов. Это соединения, имеющие насыщенную связь в С2-С3 положении и С3 гидроксильную группу. В их структуре присутствует два хиральных центра при 2 и 3 углеродном атоме. К наиболее известным представителям относятся эписмеры (+)-катехин ((2R,3S)-2-(3,4-дигидроксифенил)хроман-3,5,7-триол) и (-)-эпикатехин ((2R,3R)-2-(3,4-дигидроксифенил)хроман-3,5,7-триол). Катехины в больших количествах обнаружены в различных видах чая, как в свободном виде, так и в виде конъюгатов галловых кислот.

Подкласс флаванонов включает в себя соединения, являющиеся производными 2-фенил-3-гидроксихроман-4-онов. От катехинов их отличает отсутствие С3 гидроксильной группы и наличие карбонильной группы в 4 положении. В структуре есть только один хиральный центр при 2 углеродном атоме. Типичными представителями подкласса флаванонов является нарингенин ((2S)-5,7-дигидрокси-2-(4-гидроксифенил)хроман-4-он) и эриодиктиол ((2S)-2-(3,4-дигидроксифенил)-5,7-дигидроксихроман-4-он).

Соединения, называемые флавонами, объединяются в отдельный подкласс флавоноидов. В их основе лежит общая структура 2-фенилхроменов. У флавонов связь С2-С3 ненасыщенная, поэтому они не обладают оптической активностью. Наиболее известными представителями подкласса являются апигенин (5,7-дигидрокси-2-(4-гидроксифенил)хромен-4-он) и лютеолин (2-(3,4-дигидроксифенил)-5,7-дигидроксихромен-4-он).

Производные 2-фенил-3-гидроксихроменов объединяются в группу под названием флаванолов. От флавонов их отличает наличие С3 гидроксильной группы.

Представителями подкласса являются кверцетин (2-(3,4-дигидроксифенил)-3,5,7-тригидроксихромен-4-он), морин (2-(2,4-дигидроксифенил)-3,5,7-тригидроксихромен-4-он) и мирицетин (3,5,7-тригидрокси-2-(3,4,5-тригидроксифенил)хромен-4-он). В силу большого разнообразия структур флавоноидов в данном обзоре основное внимание уделяется соединениям этого подкласса, поскольку они являются наиболее изученными флавоноидами с выраженными электронодонорными свойствами. Среди других подклассов можно отметить антоцианы, имеющие в основе своей структуры бензопирилийный ион, изофлавоноиды, отличающиеся от всех остальных флавоноидов положением фенильной группировки, неофлавоноиды, являющиеся производными 4-фенилкумарина, и др.

Очевидно, что группа флавоноидов отличается большим структурным разнообразием, которое обеспечивается за счет многообразия в строении углеродного скелета, наличия различных заместителей, в роли которых могут выступать гидроксильные, метильные, гликозидные и некоторые другие группы.

Электрохимические свойства флавоноидов

Все флавоноиды в той или иной степени подвержены процессу окисления. Для количественной характеристики этого процесса традиционно используют метод циклической вольтамперометрии [14]. С его помощью можно установить величину окислительно-восстановительного потенциала соединения (ОВП). Чем меньше данная величина по своему значению, тем выше склонность к окислению.

Вольтамперограммы флавоноидов чаще всего представляют собой сложные кривые, содержащие несколько пиков различного типа (рисунок 2) [14-16]. Количество наблюдаемых пиков соответствует числу электроактивных центров в структуре соединения, являющихся донорами или акцепторами электронов. У флавоноидов электроактивные центры формируются в первую очередь за счет гидроксильных групп. Чем больше свободных гидроксильных групп в структуре флавоноида, тем выше его склонность к окислению. Помимо этого на его ОВ свойства существенное влияние оказывает присутствие карбонильной группы и ненасыщенных связей.

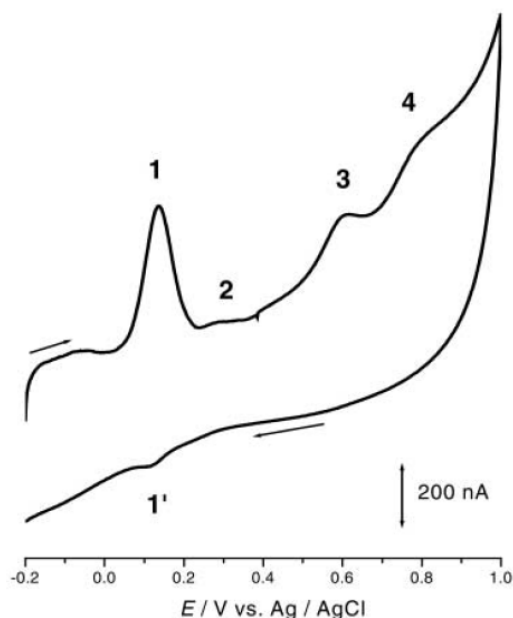


Рисунок 2 – Вольтамперограмма кверцетина

Важным параметром, влияющим на отрыв электронов, является степень ионизации гидроксильных группировок флавоноида [17]. Поскольку при высоких значениях pH флавоноиды находятся преимущественно в ионизированной форме, становится понятной их неустойчивость и подверженность окислению в щелочных средах. Следует отметить, что на реакционную способность флавоноидов влияют и другие факторы, изменяющие показатели констант диссоциации данных веществ [18,19].

Влияние структурных характеристик, определяющих электрохимические свойства флавоноидов, более детально можно рассмотреть на примере некоторых представителей этого класса соединений. Один из таких примеров – хризин (5,7-дигидроксифлавоон), имеющий две гидроксильные группы в кольце А и двойную связь в С2-С3 положении [20]. При pH 7,0

на его вольтамперограмме выявлено наличие только одного необратимого пика в области + 1,0 В, соответствующего окислению резорцинольной группировки хризина в кольце А. На вольтамперограмме индивидуального соединения резорцинола (1,3-диоксибензол) потенциал ионизации имеет более низкое значение (+ 0,6 В) [20]. Кроме того для резорцинола характерна большая амплитуда силы тока в максимуме пика окисления по сравнению с таковой для хризина. Эти различия объясняются образованием внутримолекулярной водородной связи между 4-карбонильной и 5-гидроксильной группами в молекуле флавоноида, что приводит к снижению кислотности указанной гидроксильной группы и затрудняет отрыв электрона [20].

Таксифолин (3,3',4',5,7-пентагидроксифлаванон) отличается от хризина наличием двух дополнительных гидроксильных групп в кольце В и одной – в кольце С, а также отсутствием двойной связи в С2-С3 положении. На вольтамперограмме таксифолина присутствуют два пика: обратимый пик 1 (+ 0,2 В) и необратимый пик 2 (+ 0,9 В), что указывает на наличие двух центров окисления в структуре флавоноида (рисунок 1.2, А) [20]. При увеличении рН наблюдается тенденция к существенному увеличению высоты первого пика, в то время как высота второго пика меняется незначительно. Это говорит о более высокой склонности к ионизации и окислению гидроксильных групп, обуславливающих появление пика 1. С использованием катехола (1,2-диоксибензол) в качестве модельного соединения было установлено, что данные группы расположены в кольце В [20]. Следует отметить, что высокая склонность к окислению катехольной группировки кольца В подтверждена другими теоретическими и экспериментальными исследованиями [21-23].

Одними из наиболее склонных к окислению флавоноидов считаются представители подкласса флавонолов [24]. К ним относится флавоноид кверцетин. От таксифолина он отличается только присутствием ненасыщенной двойной связи в С2-С3 положении. Однако это отличие кардинальным образом влияет на электрохимические свойства кверцетина за счет появления сопряжения между его циклическими группировками [25]. При рН 7,7 у кверцетина регистрируются четыре пика окисления: при +0,15, +0,30, +0,60 и +0,80 В (рисунок 2). В данном случае окислительный процесс протекает по каскадному механизму с вовлечением различных электроактивных структур. При низком положительном потенциале происходит окисление катехольной группировки в кольце В (пик 1), сопровождающееся последовательным отрывом двух электронов от каждой гидроксильной группы флавоноида [25]. За этим следует окисление гидроксильной группы в кольце С (пик 2). Пик 2 отличается небольшой амплитудой силы тока, что обусловлено образованием внутримолекулярных водородных связей с С4 карбонильной группой. Пики 3 и 4 появляются при окислении гидроксильных групп в кольце А при высоких значениях электродного потенциала. Среди наблюдаемых пиков пик 1 – наиболее выраженный, что говорит о наибольшей склонности к окислению гидроксильных групп кольца В [25].

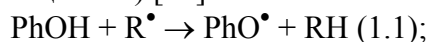
Флавоноид морин отличается от кверцетина мета- положением гидроксильных групп в кольце В [26]. При рН 7,0 на вольтамперограмме морина наблюдаются только два пика в районе 0,25 и 0,8 В. Пик 1 отличается высокой амплитудой силы тока и соответствует одноэлектронному окислению резорцинольной группировки кольца В. Логично предположить, что в дальнейшем происходит окисление гидроксильной группы в кольце С. Однако оно не наблюдается, что связано с образованием внутримолекулярных водородных связей с участием этой группы [26]. Пик 2 появляется при высоких значениях электродного потенциала и соответствует окислению гидроксильных групп в кольце А. На примере изомерных соединений морина и кверцетина хорошо видно, насколько сильно варьируют электрохимические свойства флавоноидов в зависимости от их структуры.

Методы электрохимии позволяют получить важную информацию об ОВ активности фенольных соединений. С их помощью показано, что многие флавоноиды являются соединениями, легко вступающими в процессы, сопряженные с переносом электрона.

Окислительно-восстановительные реакции флавоноидов с низкомолекулярными соединениями

Число возможных ОВ реакций с участием флавоноидов довольно велико [27]. В данном разделе основное внимание будет уделено тем из них, которые могут протекать в биологических системах.

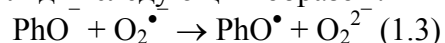
В литературе существует множество сведений, касающихся способности флавоноидов реагировать со свободными радикалами [28-32]. Это свойство вызывает большой интерес, поскольку оно лежит в основе антиоксидантного действия фенольных соединений [33]. Как правило, их реакции со свободными радикалами протекают с высокими скоростями и приводят к инактивации последних. Считается, что в ходе таких процессов фенолы могут выступать в качестве доноров протона (реакция 1.1) либо в качестве доноров электрона (реакция 1.2) [34]:



По какому пути будет идти процесс, во многом зависит от структуры флавоноида (PhOH), природы свободнорадикальной частицы (R), условий проведения реакции. Как в одном, так и другом случае исходный флавоноид трансформируется в один и тот же промежуточный продукт, именуемый феноксильным радикалом [14,35]. Это очень нестабильное соединение, которое с высокими скоростями превращается в различные производные исходного флавоноида или вовлекается в новый цикл ОВ реакций. Реакционная способность феноксильного радикала, структура продуктов, в которые он трансформируется, также определяются природой исходного флавоноида и условиями проведения реакции. Промежуточные продукты окисления флавоноидов, содержащих в своей структуре катехольную группировку, имеют специальные названия. Производные, лишенные одного электрона, называют семихинонными, а двух электронов – хинонными формами, соответственно.

Спектр радикальных частиц, с которыми могут взаимодействовать флавоноиды, в достаточной степени широк. Флавоноиды способны вступать в реакции как с неорганическими, так и органическими свободными радикалами. К первым относятся реакции с радикалами диоксида азота и супероксид аниона, гидроксильным радикалом [36-38]. Эти реакционноспособные соединения в больших количествах образуются в условиях нарушения функционирования ферментов окислительного метаболизма, что, как полагают некоторые исследователи, приводит к фатальным последствиям для жизнедеятельности клетки и всего организма в целом [39].

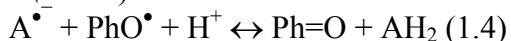
В настоящее время механизм реакции флавоноидов с супероксид анион-радикалом считается установленным [14]. Его суть состоит в одноэлектронном восстановлении супероксида, в результате чего генерируется пероксид водорода. Суммарное уравнение этой реакции (реакция 1.3) выглядит следующим образом:



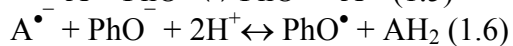
Наиболее эффективными восстановителями супероксида из изученных флавоноидов оказались флавонолы рутин и кверцетин [14]. Эти соединения имеют свободную катехольную группировку в кольце В. Предположительно реакция с супероксид анион-радикалом протекает за счет гидроксильных групп, входящих в состав данной структуры.

Флавоноиды способны взаимодействовать с органическими пероксильными и алкоксильными радикалами различных соединений, а также радикалами ароматических аминокислот, аскорбат аниона, α -токоферола и многими другими видами реактивных частиц [40-43]. В качестве примера можно рассмотреть реакцию окисленных производных аскорбиновой кислоты с флавоноидами. При физиологических условиях аскорбиновая кислота легко теряет электроны с образованием аскорбат анион-радикала ($\text{AH}^{\bullet -}$) и затем дегидроаскорбата (А). Относительно недавно были сделаны попытки по изучению механизма этой реакции с использованием модельных систем окисления [44]. Согласно

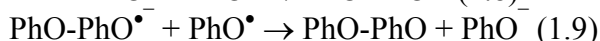
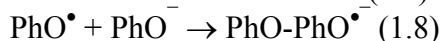
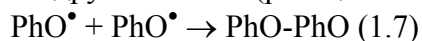
им продукты одноэлектронного окисления флавоноидов способны восстанавливать аскорбат анион радикал (реакция 1.4).



Авторы полагают, что эта реакция обратима и ее направление зависит от величины ОВП флавоноида, взаимодействующего с аскорбат радикалом. Сложно представить себе ситуацию, когда концентрация радикальных производных флавоноида и аскорбиновой кислоты в живых системах возрастет настолько, что реакция 1.4 будет иметь физиологическое значение. Большой интерес вызывают реакции флавоноидов с различными формами окисленной аскорбиновой кислоты (реакции 1.5 и 1.6).



Рассматривая реакции 1.5 и 1.6 видно, что в результате взаимодействия дегидроаскорбиновой кислоты и флавоноида может происходить регенерация аскорбат анион-радикала, а в дальнейшем и самой аскорбиновой кислоты. Эта гипотеза была подтверждена экспериментально с использованием спектроскопии электронного парамагнитного резонанса [45]. Приведенные данные иллюстрируют, что процессы, сопряженные с переносом электронов при участии флавоноидов, могут идти различными путями. Продукты, образующиеся на каком-то из этапов, могут вступать в реакции с соединениями, образующимися на других этапах (реакции 1.7-1.9).

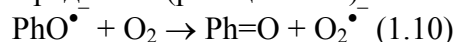


Протекающие параллельно реакции 1.7-1.9 затрудняют кинетическую характеристику ОВ процессов с участием флавоноидов, особенно при использовании методов абсорбционной спектрофотометрии.

Помимо описанных реакций флавоноиды способны взаимодействовать с нерадикальными соединениями, такими как синглетный кислород, гипохлорная кислота, ионы металлов переменной валентности [46-48]. В литературе встречаются сведения о восстановительной способности флавоноидов по отношению к ионам железа (III) и меди (II). Эти реакции лежат в основе метода оценки электронодонорной активности фенольных соединений [49]. Установлено, что наиболее эффективными восстановителями ионов железа (III) являются соединения, имеющие в своей структуре С2-С3 двойную связь, карбонильную группу в 4-ом положении, гидроксильную группу в С3 положении, гидроксильные группы в кольце В. Причем, чем больше гидроксильных групп присутствует в структуре флавоноида, тем выше его восстановительная активность.

Фактором, существенным образом влияющим на реактивность флавоноидов по отношению к ионам металлов, оказалось рН среды. При изменении рН значительно менялась восстановительная способность фенольных соединений. Подобный эффект также был обнаружен при помощи методов электрохимии [20,25,26]. Нельзя не упомянуть, что многие многоатомные фенолы способны образовывать прочные комплексы с ионами металлов. Свойства флавоноида в составе такого комплекса меняются [50,51]. В частности, в комплексе с металлом он проявляет более высокую реакционную способность по отношению к супероксид анион-радикалу. Этот факт необходимо учитывать при изучении электронодонорной и антиоксидантной активности фенольных соединений.

Как уже было упомянуто, окисленные производные флавоноидов также способны вовлекаться в ОВ превращения. Они могут проявлять свойства как восстановителей, так и окислителей, что наблюдается в случае наиболее реактивных флавоноидов с низкими значениями ОВП [52,53]. К примеру, считается, что семихинонная форма флавонола кверцетина способна реагировать с молекулярным кислородом, что приводит к образованию супероксид анион-радикала (реакция 1.10).



Реакция 1.10, как правило, протекает в щелочных средах. При высоких рН молекулы флавоноидов присутствуют преимущественно в ионизированной форме, что облегчает перенос электронов [17].

При взаимодействии окисленной формы кверцетина с тиольными соединениями, такими как восстановленный глутатион, проявляются окислительные свойства данного фенольного производного [54]. В результате происходит образование ковалентных аддуктов флавоноида с глутатионом [55]. По такой же схеме могут протекать реакции и с другими нуклеофильными соединениями. Вероятно, таким образом и реализуется прооксидантный эффект флавоноидов, наблюдающийся в некоторых модельных системах [56,57]. Промежуточные продукты окисления флавоноидов образуются практически во всех окислительных процессах с их участием. Причем в одних и тех же системах флавоноиды способны действовать как антиоксиданты, так и прооксиданты. Механизмы, определяющие тип наблюдаемого эффекта, до конца еще не выяснены.

Даже из краткого рассмотрения ОВ реакций флавоноидов очевидно, что их спектр необычайно широк. Однако приходится констатировать, что не во всех случаях имеется детальная информация об их механизме, структуре промежуточных и конечных продуктов реакции. Это связано с тем, что большинство исследований реакционной способности флавоноидов носят описательный характер. Как правило, определяется тип активности (антиоксидантная или прооксидантная), проявляемый тем или иным соединением в модельной системе. Тем не менее, на основании имеющихся сведений можно сделать некоторые выводы о структурных характеристиках флавоноидов, определяющих их реакционную способность. Наиболее активно в ОВ реакции с самыми разнообразными соединениями вступают флавоноиды, имеющие в своем составе гидроксильные группы в кольце В и С, а также двойную С2-С3 связь, о чем уже не раз упоминалось. Чем больше свободных гидроксильных групп присутствует в структуре флавоноида, тем выше его электронодонорная активность. Такие соединения, как правило, имеют низкие значения ОВП и высокую склонность к ионизации. Можно отметить, что данные по ОВ активности флавоноидов в реакциях с низкомолекулярными соединениями согласуются со сведениями об их электрохимических свойствах.

Окислительно-восстановительные реакции флавоноидов при участии ферментативных систем

Флавоноиды образуются и разрушаются в растительных организмах при участии ферментов [58]. Ферменты являются природными катализаторами, отличающиеся сложным строением, высокой специфичностью и эффективностью действия [59]. Уникальные свойства данных веществ выделяют их на фоне других органических катализаторов. Поэтому ОВ превращения флавоноидов, протекающие с участием ферментов, целесообразно рассмотреть отдельно.

Процесс биосинтеза флавоноидов протекает при участии многочисленных ферментативных систем и подробно описан в литературе [58,60]. Предшественниками флавоноидов при их биосинтезе в растительном организме являются ароматические аминокислоты фенилаланин или тирозин. Фенилаланин вступает в реакцию трансаминирования с образованием циннамовой кислоты (3-фенилпроп-2-еновой кислоты), которая в свою очередь подвергается декарбоксилированию, превращаясь в активный 4'-гидроксиацетофенон. Это соединение вступает в сложные реакции конденсации с подобными ему ароматическими альдегидами, что приводит к образованию фенил- γ -хромонового ядра. Дальнейший метаболизм флавоноидов сводится к химической модификации базовой структуры путем ее гидроксилирования, метоксилирования или гликозилирования.

В рамках данного обзора основное внимание будет уделено ферментативным реакциям окисления или восстановления флавоноидов, не имеющим отношения к процессам биосинтеза. Такие реакции могут протекать как в растительных, так и животных организмах, в результате чего реализуются многие биологические активности

природных фенольных соединений [53,61]. Ферментативные превращения флавоноидов представляют интерес и с практической точки зрения, поскольку они наблюдаются в ходе некоторых технологических процессов, таких как ферментация чая, производство соков и пива [62,63].

Многие флавоноиды способны окисляться растительными пероксидазами (ПО) с достаточно высокими скоростями [64,65]. Не исключено, что для данного типа ферментов фенольные соединения являются одними из природных субстратов. Благодаря тому, что флавоноиды обладают характерными спектрами поглощения, изучение их химической трансформации в присутствии ПО в основном проводилось при помощи методов абсорбционной спектрофотометрии. Было установлено, что наличие С3 гидроксильной группы и двойной связи между С2 и С3 атомом в структуре флавоноида определяет его реакционную способность в условиях пероксидазного окисления [66]. Наиболее простым флавоноидом соответствующим данным структурным требованиям является 3-гидроксифлавонон. В присутствии ПО и пероксида водорода это соединение меняет свои спектральные свойства, что свидетельствует о его химической трансформации [66]. Такие изменения не наблюдаются в случае флавонона, флаванона и 3-гидроксифлаванона. В реакционной смеси, содержащей 3-гидроксифлавонон и активную ПО, обнаруживаются 2-оксо-2-фенилуксусная, бензойная и 2-гидроксибензойная кислоты [66]. Спектр продуктов указывает на то, что под действием фермента происходит окислительное расщепление С кольца флавоноида в различных положениях.

Помимо 3-гидроксифлавонона пероксидазному окислению могут подвергаться и другие флавоноиды, такие как катехин, кверцетин, морин и кемпферол [67,68-70]. Эти соединения отличаются высокой электронодонорной активностью, что делает их хорошими субстратами для ПО. Однако необходимо учесть, что в растительных клетках флавоноиды преимущественно присутствуют в гликозилированной форме. Гликозиды флавоноидов – гораздо более инертные вещества, что ставит под сомнение возможность их окисления данным ферментом. В литературе имеются сведения по окисляемости различных гликозилированных производных флавоноида кверцетина растительной ПО [67,71]. Кверцетин, у которого гидроксильные группы при 3 и 4' углеродных атомах связаны с остатками глюкозы, не меняет своих спектральных свойств под действием данного фермента [71]. Флавоноид, гликозилированный только по одному из двух указанных положений, уже способен подвергаться окислению в аналогичных условиях. Причем скорость окисления для соединения, связанного с остатками глюкозы по С гидроксилу при 4' углеродном атоме, в 20 раз меньше, а при 3 – в 100 раз меньше по сравнению со скоростью окисления агликона. Подобные результаты еще раз указывают на важность свободной гидроксильной группы при 3 углеродном атоме для эффективного пероксидазного окисления флавоноидов. Другим гликозидом кверцетина, способным выступать в качестве субстрата для ПО, является рутин (3-рамноглюкозил-3,5,7,3',4'-пентаоксифлавонон) [67,72]. Известно, что наличие остатка дисахарида в структуре флавоноида не предохраняет его от ферментативного окисления.

На основании приведенных данных можно сделать вывод о высокой окислительной способности растительных ПО по отношению к различным флавоноидам. Под действием данных ферментов флавоноиды могут подвергаться реакциям окислительного расщепления, дегидрирования либо конденсации. В случае некоторых флавоноидов, отличающихся наличием резонансных структур, эти реакции могут протекать параллельно, что приводит к образованию большого числа реакционных продуктов [73]. Так, окисление кверцетина ПО из корневищ хрена приводит к накоплению в реакционной смеси минимум двадцати индивидуальных соединений, многие из которых обладают весьма схожими физико-химическими свойствами [152]. В тех же условиях несколько меньшее количество продуктов образуется при окислении кемпферола [70]. В случае пероксидазного окисления катехина, отличающегося отсутствием двойной связи в С2-С3

положении, в смеси обнаруживаются лишь продукты окислительной конденсации данного флавоноида в виде олигомерных соединений [74].

Учитывая эти факты можно предположить, что после взаимодействия с ПО флавоноиды претерпевают ряд неферментативных превращений, причем их число и степень зависят от свойств промежуточного продукта окисления. Ситуация может иметь и более сложный характер, если допустить, что промежуточные продукты окисления флавоноидов могут вступать в новый цикл ОВ взаимодействий с белковой молекулой. Данные примеры иллюстрируют сложный химизм реакций пероксидазного окисления флавоноидов [73, 66, 69, 70, 74]. Исходя из этого, можно заключить, что метод абсорбционной спектрофотометрии имеет ограниченные возможности при изучении механизмов и кинетических особенностей реакций химической модификации флавоноидов.

Растительные ПО – не единственные ферменты, с которыми могут реагировать флавоноиды. В литературе имеются сведения о взаимодействии фенольных соединений с тиропероксидазой (ТПО) (1.11.1.8) и миелопероксидазой (МПО) (1.11.1.7). Флавоноиды нарингенин, кверцетин, морин и кемпферол являются альтернативными субстратами для ТПО [75]. Подвергаясь окислению ТПО, флавоноиды теряют электрон и превращаются в свою активную семихинноную форму [75]. Предположительно это происходит вблизи активного сайта фермента, что влечет за собой ковалентную модификацию аминокислотных остатков, входящих в его состав, и необратимое ингибирование ферментативной активности. Интересно, что данный эффект не наблюдается или не столь выражен для растительных ПО. К сожалению, имеется мало сведений о продуктах окисления флавоноидов, образующихся в результате реакций, катализируемых ТПО. Обнаружено, что изофлавоноид биоканин А (5,7-дигидрокси-3-(4-метоксифенил)хромен-4-он), под действием этого фермента, йодируется в 6,8-дийод производное [75]. Вероятно, в этом случае флавоноид реагирует с окисленным йодид-ионом, выступая в роли ловушки свободных радикалов. Этот пример отражает тот факт, что данные фенольные соединения могут окисляться и без непосредственного взаимодействия с ферментом, в ходе побочных ОВ реакций.

При помощи спектрофотометрических методов установлено, что некоторые флавоноиды химически модифицируются в реакциях с МПО [76]. В присутствии данного фермента эффективно окисляются лютеолин, морин, кверцетин и (-)-эпикатехин, в то время как гликозилированный флавоноид рутин не подвергается подобному превращению. Внесение в реакционную смесь нитрит-аниона делает возможным химическую модификацию рутина и приводит к увеличению скорости окисления других флавоноидов [76]. Можно предположить, что окисление многоатомных фенолов с низкой электронодонорной активностью преимущественно происходит за счет взаимодействия с активированными формами неорганического соединения, а не с МПО. Это подтверждается сведениями о хлорировании и нитрировании изофлавоноидов генестеина и дайдзеина в аналогичной системе, по-видимому, протекающему по тому же механизму, что и реакция ТПО с биоканином А [77].

В литературе описана реакция окислительной трансформации мирицитрина (мирицетин-3-О-рамнозида) в присутствии МПО [78]. Наличие гликозидной группировки не препятствует ферментативному окислению мирицитрина. Поскольку данный флавоноид отличается от рутина только количеством гидроксильных группировок в кольце В, можно утверждать, что эта структурная характеристика определяет эффективность химической трансформации флавоноида МПО. Как и ТПО, МПО необратимо ингибируется промежуточными продуктами окисления мирицитрина [78].

Монофенолоксидаза (тирозиназа) (1.14.18.1) является одним из ключевых ферментов, участвующим в окислительной биотрансформации флавоноидов [79]. Она катализирует реакции гидроксирования монофенолов или окисления *o*-дифенолов до *o*-хинонов в присутствии молекулярного кислорода. Теоретически можно ожидать, что

флавоноиды, имеющие в своей структуре моно- или дифенольные группировки, будут хорошими субстратами для тирозиназ. Однако на этот счет имеются противоречивые экспериментальные данные [67,80]. Так, в присутствии фермента в спектре поглощения кверцетина и морины наблюдаются выраженные изменения, тогда как спектральные свойства рутина не меняются. Наличие такого эффекта может свидетельствовать либо о химической трансформации фенольных соединений, либо об образовании комплекса с ионом меди, находящимся в активном центре фермента [81]. По какому пути протекает взаимодействие, может быть установлено с использованием методов хроматографии. С их помощью показано, что при окислении кверцетина образуется как минимум четыре производных соединения, а при окислении морины – одно [67]. Соединения со схожими хроматографическими характеристиками выявлялись среди продуктов пероксидазного окисления. Хроматографический анализ реакционной смеси, содержащей рутин и тирозиназу, указывает на то, что и этот флавоноид окисляется с образованием ряда производных [67]. Очевидно, эти данные требуют дополнительного подтверждения в виду того, что рутин не меняет своих спектральных свойств в присутствии тирозиназы и не является ингибитором реакций, катализируемых этим ферментом [82].

Основным продуктом окисления кверцетина тирозиназами считается 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон [83]. Однако к результатам, приведенным в данной работе, следует относиться с осторожностью, поскольку получение продуктов окисления осуществлялось не в реакции с тирозиназой, а с ионами меди. Причем об идентичности соединений, образующихся в результате двух различных реакций, судили лишь по их хроматографической подвижности. Как бы то ни было, определенно можно утверждать, что под действием тирозиназы флавонолы не превращаются в стабильные хиноны, а претерпевают ряд превращений в какие-то другие продукты реакции.

Образование хинонов все же имеет место в ходе данного процесса, что проиллюстрировано на примере эриодиктиола [84]. На первых этапах окислительного процесса появляется производное флавоноида со спектром поглощения, характерным для хинонных соединений. Впоследствии оно превращается в более стабильный аддукт, предположительно димерной природы. Вероятно, окисленные производные флавононов являются химически более устойчивыми соединениями по сравнению с производными флавонолов, что позволяет регистрировать их при помощи стандартных методов абсорбционной спектроскопии.

Окислительные превращения катехинов в присутствии тирозиназ являются хорошо изученными [74,85]. Такие реакции протекают в процессе ферментации чая и представляют большой интерес для понимания сути данного процесса [62]. Под действием фермента катехин окисляется до своей радикальной формы, которая затем вступает в реакцию конденсации с исходной молекулой флавоноида. Образовавшийся димерный аддукт может и далее подвергаться реакции конденсации, в результате чего накапливаются тримерные и другие олигомерные формы катехина. При участии ПО катехин также подвергается олигомеризации с образованием аналогичных по структуре продуктов [74]. В этом случае количество димерных производных флавоноида гораздо выше, чем количество других олигомерных форм, тогда как в случае тирозиназы имеет место обратная картина [74].

По своей структуре димерные производные представляют собой конъюгат из двух остатков катехина, соединенных ковалентной связью между С5 атомом кольца А одной молекулы и С6' атомом кольца В другой [85]. Данное производное может подвергаться реакции дегидратации с образованием сложного полициклического соединения, называемого дегидродикатехин.

Установлено, что флавоноиды являются субстратами для некоторых липоксигеназ (5-липоксигеназа, 8-липоксигеназа, 12/15-липоксигеназа). При этом фенолы являются ингибиторами активности данных ферментов, ответственных за продукцию внутри клеток

и тканей свободных радикалов. Эффективность ингибирующего действия определяется сочетанием железохелатирующих свойств флавоноидов и их способности восстанавливать ионы железа [86]. Специфически взаимодействовать с ферментом могут не только исходные фенолы, но и продукты их окислительной трансформации. Например, взаимодействие кверцетина с липоксигеназой приводит к окислению флавоноида до прото-катехиновой кислоты, которая в свою очередь воздействует на водородные связи в активном центре фермента, что, в конечном итоге, приводит к потере специфической липоксигеназной активности [87].

В литературе имеются сведения о взаимодействии флавоноидов с феррилмиоглобином [88]. Железо гемовой группы феррилмиоглобина (ФМБ) имеет степень окисления +4, что делает его высоко реактивной субстанцией по отношению к различным донорам электронов. С использованием спектрофотометрических методов показано, что наиболее эффективными восстановителями ФМБ являются мирицетин и кверцетин. Отметим, что метмиоглобин, образующийся в результате восстановления ФМБ, может и далее восстанавливаться в реакции с данными флавоноидами.

В ряде работ показано, что некоторые флавоноиды могут являться донорами электронов по отношению к окисленному цитохрому *c* [89,90]. Для проявления восстановительных свойств флавоноид должен обладать гидроксильными группами в С3 и С3' положениях, а также двойной связью по С2-С3 положению. Дополнительные гидроксильные группы в его структуре флавоноида повышают его восстановительную активность. Количество переданных электронов с одной молекулы флавоноида на цитохром *c* зависит от количества и положения гидроксильных групп в кольце В. Продукты окисления кверцетина, образующихся в реакции с цитохромом *c*, представляют собой олигомерные производные исходного флавоноида с диоксановым сочленением между мономерами. Среди олигомеров кверцетина, обнаруживаемых в реакционной смеси, в основном преобладают димерные и тримерные формы.

Имеется информация об окислении некоторых флавоноидов под действием цитохромов P450 млекопитающих [91]. Данные ферменты способны катализировать реакции гидроксирования и окислительного деметилирования фенольных субстратов. Гидроксированию подвергаются такие флавоноиды как кемпферол, апигенин и нарингенин с образованием кверцетина, лютеолина и эриодиктиола, соответственно [92]. В реакцию деметилирования могут вступать гесперетин (4'-метилкверцетин) и тамариксетин (4'-метилэриодиктиол). Интересен тот факт, что в ОВ реакциях с флавоноидами может принимать участие другой компонент монооксигеназной системы – цитохром P450-редуктаза. По некоторым данным этот фермент способен восстанавливать хинонные и семихинонные формы кверцетина до исходного флавоноида, однако механизм этого процесса до сих пор не изучен [53]. Сведения о реакциях флавоноидов с другими ОВ ферментами еще менее детализированы и немногочисленны. Чаще всего их суть сводится к описанию влияния флавоноида на активность того либо иного фермента без учета возможной химической трансформации фенольного соединения по ходу изучаемого процесса.

Физиологическое значение реакций окисления флавоноидов

Окисление флавоноидов протекает как у растительных, так и у животных организмов. Для растений этот процесс является неотъемлемым этапом нормального роста и развития [61]. Например, окисление флавоноидов наблюдается при созревании семян. В результате происходит образование полимерных соединений на поверхности семенной оболочки, что приводит потемнению ее покровов и снижению проницаемости для воды [93]. В ходе окислительной трансформации флавоноидов расходуется внутриклеточный кислород и вода, что предохраняет семена от прорастания и порчи [94]. Этот факт приобретает большое значение при проведении селекционных работ. Отбор растений с высоким содержанием флавоноидов может способствовать получению сортов, отличающихся длительным периодом хранения семенного материала.

У растений окисление флавоноидов протекает не только в нормальных условиях, но и в условиях стрессового состояния. При развитии грибковых и бактериальных инфекций отмечен повышенный уровень окисления кверцетина с образованием 3,4-дигидроксibenзойной кислоты, обладающей фунгицидной и бактерицидной активностями [95]. Физическое повреждение растительных тканей также ведет к запуску процессов окислительной дегградации флавоноидов, препятствующей развитию раневых инфекций [96]. Отмечено, что в поверхностных клетках растущих корней, активно взаимодействующих с внешней средой, находится значительное количество фенолов, защищающих растение от патогенов [97]. Механизм защитного действия объясняется генерацией большого количества продуктов окисления фенольных соединений, отличающихся высокой реактивностью и токсичностью для болезнетворных микроорганизмов. Однако нельзя исключать и того, что в основе защитного действия фенолов могут лежать другие механизмы. Известно, что при окислении фенолов происходит их сорбция на поверхности лигнина и целлюлозы [98]. Сорбировавшиеся соединения предохраняют основные растительные полимеры от биодеградации бактериальными и грибковыми ферментами, что в свою очередь препятствует распространению инфекции по растительному организму. Защитные свойства флавоноидов и их окисленных производных проявляются не только при патогенной инвазии. Фенольные соединения участвуют в утилизации избытка активных форм кислорода, образующихся в процессе фотосинтеза [99].

Флавоноиды и другие растительные фенолы являются, по-видимому, наиболее распространенными биологически активными не питательными компонентами продуктов питания, чая, вин, пива и других напитков, а также специй, эфирных масел, а также многих косметических субстанций. Пути метаболизма фенольных соединений, а также способы проявления их биологической активности до сих пор остаются предметом оживленной дискуссии [100]. До недавнего времени считалось, что флавоноиды подавляют развитие окислительного стресса, вовлекаясь в сопутствующие ему ОВ реакции [4]. По схожим механизмам они увеличивают стабильность многих биологически важных соединений, таких как аскорбиновая кислота и каротиноиды [43]. Установлено, что флавоноиды обладают выраженными антиаллергическими, антиканцерогенными, противовоспалительными и противовирусными свойствами [2, 101]. Убедительно свидетельствуют о лечебном и профилактическом значении флавоноидов огромный опыт, накопленный при использовании лекарственных растений в нетрадиционной медицине и эпидемиологические исследования, выполненные в разных странах. Показано, что включение в диету пожилых людей продуктов с высоким содержанием флавоноидов (яблоки, лук, чай) приводило к снижению встречаемости коронарной болезни сердца. Выявлено также, что флавоноиды зеленого чая снижают риск сердечно-сосудистых заболеваний и уменьшают смертность от рака желудка. Особенно возрос интерес к флавоноидам в последнее время в связи с так называемым "французским парадоксом", суть которого заключается в необычно низком уровне сердечно-сосудистых заболеваний у жителей ряда областей Франции, несмотря на наличие факторов (высокое потребление жиров, курение), провоцирующих сердечно-сосудистые болезни. Оказалось, что объясняется этот феномен значительным потреблением населением этих областей красного вина, содержащего большое количество различных полифенолов [Ferrieres, J. (2004). *The French Paradox; Lessons for other countries. Heart*, 90, 107–111].

Одной из особенностей биологического действия флавоноидов является чрезвычайно широкий спектр потенциальных мишеней, на которые они могут воздействовать в организме. С одной стороны, это связано с большим разнообразием самих растительных пигментов, как в отношении их структуры, так и ОВ свойств. Вместе с тем, и каждый конкретный флавоноид способен воздействовать на множество структурных и функциональных систем клетки и организма в целом. Необычно широкий спектр биологической активности флавоноидов реализуется посредством различных

молекулярных механизмов, которые можно разделить на две группы: специфические и неспецифические. К первой группе следует отнести механизмы биологического действия, обусловленные специфическим взаимодействием с активными центрами ферментов или с различными рецепторами. Связывание флавоноидов с ферментами может происходить и вне активного центра, приводя к таким изменениям в пространственной геометрии белковых молекул, которые сильно затрудняют или даже делают невозможным их специфичное взаимодействие с субстратом. Во многих случаях взаимодействие флавоноидов, особенно катехинов и танинов, с белками ведет к преципитации белка вследствие образования практически нерастворимых в воде комплексов. Данный механизм обуславливает вяжущие свойства и терпкость флавоноидов и лежит в основе технологии дубления кожи. В рассмотренных выше случаях для реализации биологической активности флавоноидов обычно не требуется их окисления. Однако множество биологических эффектов, в том числе антиоксидантное действие флавоноидов реализуются посредством неспецифического ОВ взаимодействия с небольшими молекулами, радикалами и ионами. Антиоксидантного действия полифенольных соединений обусловлено двумя основными механизмами: антирадикальным и превентивным. В первом случае антиоксиданты перехватывают иницирующие радикалы (главным образом анион-радикал кислорода и гидроксильный радикал), ингибируя стадию иницирования цепного процесса, или прерывают уже начавшийся цепной процесс, взаимодействуя с алкилперекисными радикалами (прерывающие цепь антиоксиданты). Превентивное действие антиоксидантов обусловлено их способностью ингибировать процессы, ведущие к появлению иницирующих радикалов [102]. В случае растительных фенолов, превентивное действие может быть следствием их способности связывать (хелатировать) ионы металлов переменной валентности, играющими ключевую роль в продукции иницирующих радикалов, разлагать перекись водорода и органические пероксиды, ингибировать прооксидантные ферменты [2, 29, 101]. В настоящее время многие лечебные и биологические эффекты растительных полифенолов связывают с их антирадикальными и металл-хелатирующими свойствами [3, 4].

Несмотря на многочисленные данные о благотворном эффекте флавоноидов в литературе встречаются сообщения о том, что в результате окисления флавоноиды способны проявлять прооксидантное действие, которое выражается в повреждении биологических структур и общем снижении жизнеспособности клеток организма [15, 53, 57, 86]. В этом процессе могут принимать участие катехины зеленого чая, кверцетин, мирицетин и некоторые другие растительные фенолы с низким ОВП. Прооксидантные свойства этих соединений тесно связана с их способностью к автоокислению и другим редокс превращениям в клетках и тканях и лежит в основе цитотоксичности [52]. Доказано, что образующиеся в процессе автоокисления активные формы кислорода, семихиноны и другие активные интермедиаты способны вовлекаться в окисление мембранных липидов, модификацию и инактивацию низкомолекулярных компонентов клетки и ферментов, образование ДНК аддуктов и быть причиной возникновения мутаций. Например, семихиноны кверцетина и лютеолина способны взаимодействовать с глутатионом, образуя моно-и бис GSH-конъюгаты [56]. АФК, образующиеся при автоокислении кверцетина иницируют окисление липидов и вызывают повреждение ДНК [86]. С другой стороны стабильные продукты автоокисления полифенолов хиноны и хинон метиды, а также ряд короткоживущих интермедиатов обладают высокой противоопухолевой активностью [2].

Подводя итог данному обзору необходимо подчеркнуть, что еще многие аспекты ОВ реакций флавоноидов, протекающих в живых организмах, подлежат тщательному изучению. Очевидно, что подобные исследования являются неотъемлемым этапом процесса разработки новых лекарственных препаратов для лечения и профилактики многих заболеваний, протекающих на фоне окислительного стресса. Уже сейчас в этом направлении достигнуты значительные успехи. Многие фармацевтические компании

производят более сотни наименований лекарственных форм, содержащих флавоноиды. Выпускаемые препараты применяются при терапии сердечно-сосудистых, онкологических, воспалительных и многих других патологических состояний. Чрезвычайно широк спектр косметических средств, пищевых и биологически активных добавок (БАД), основным компонентом которых являются флавоноиды. Исследование биологической активности, структурно-функциональных зависимостей, а также физико-химических свойств растительных фенолов соединений позволяет необходимо не только для углубления фундаментальных знаний об их химии и физиологических функциях, но и для расширения области их применения как в качестве лекарственных препаратов, так пищевых и технологических добавок.

Список литературы

1. Vitamin nature of flavones / A. Benthath [et al.] // *Nature*. – 1936. – Vol. 138. – P. 798.
2. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer / E. Middleton, Jr. [et al.] // *Pharmacol. Rev.* – 2000. – Vol. 52, № 4. – P. 673-751.
3. Antioxidants and prevention of chronic disease / J. K. Willcox [et al.] // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* – 2004. – Vol. 44, № 4. – P. 275-295.
4. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions / M. A. Soobrattee [et al.] // *Mutat. Res.* – 2005. – Vol. 579, № 1/2. – P. 200-213.
5. Stevenson, D. E. Polyphenolic phytochemicals – just antioxidants or much more? / D. E. Stevenson, R. D. Hurst // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2007. – Vol. 64, № 22. – P. 2900-2916.
6. Свободнорадикальное окисление и старение / В. Х. Хавинсон [и др.]. – Санкт-Петербург: Наука, 2003. – 327 с.
7. Challenges for research on polyphenols from foods in Alzheimer's disease: Bioavailability, metabolism, and cellular and molecular mechanisms / M. Singh [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2008. – Vol. 56, № 13. – P. 4855–4873.
8. Фенольные антиоксиданты и их использование: Сб. аналит. обзоров / СО РАН, Ин-т органич. химии; науч. ред. В.С. Кобрин. – Новосибирск, 1997. – 68 с.
9. Beecher, G. R. Overview of Dietary Flavonoids: Nomenclature, Occurrence and Intake / G. R. Beecher // *J. Nutr.* – 2003. – Vol. 133, № 10. – P. 3248-3254.
10. Гудвин, Т. Растительные фенолы / Т. Гудвин, Э. Мерсер // Введение в биохимию растений / Т. Гудвин, Э. Мерсер. – Москва, 1986. – Гл. 14. – С. 167-202.
11. The Flavonoids / W. Barz [et al.]; eds. J. B. Harborne, T. J. Mabry, H. Mabry. – New York: Acad. Press, 1975. – 1204 p.
12. Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications / J. E. Brown [et al.]; eds. Ø. M. Andersen, K. R. Markham. – Boca Raton: CRC Press, 2006. – 1197 p.
13. Органическая электрохимия / Я. Андерсон [и др.]; под ред. М. Бейзера, Х. Лунда. – М.: Химия, 1988. – 1024 с.
14. Flavonoids as antioxidants / S. V. Jovanovic [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* – 1994. – Vol. 116, № 11. – P. 4846-4851.
15. Electrochemical behavior and antioxidant and prooxidant activity of natural phenolics / A. Simic [et al.] // *Molecules*. – 2007. – Vol. 12, № 10. – P. 2327-2340.
16. Характеристика растительных фенольных соединений методом циклической вольтамперометрии / К. Э. Яковлева [и др.] // *Прикл. биохим. микробиол.* – 2007. – Т. 43, № 2. – С. 730-739.
17. Slabbert, N. P. Ionisation of some flavanols and dihydroflavonols / N. P. Slabbert // *Tetrahedron*. – 1977. – Vol. 33, № 7. – P. 821-824.
18. Arnett, E. M. Ionization of group 6 and 7 protonic acids in dimethyl sulfoxide / E. M. Arnett, L. E. Small // *J. Am. Chem. Soc.* – 1977. – Vol. 99, № 3. – P. 808-816.

19. Effects of the acidities of phenols from specific substituent-solvent interactions. Inherent substituent parameters from gas-phase acidities / M. Fujio [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* – 1981. – Vol. 103, № 14. – P. 4017-4029.
20. Chrysin and (±)-taxifolin electrochemical oxidation mechanisms / P. Janeiro [et al.] // *Electroanalysis*. – 2005. – Vol. 17, № 12. – P. 1059-1064.
21. Electrochemistry of catechol-containing flavonoids / H. P. Hendrickson [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 1994. – Vol. 12, № 3. – P. 325-334.
22. Accurate bond dissociation enthalpies of popular antioxidants predicted by the ONIOM-G3B3 method / M. J. Li [et al.] // *J. Mol. Struct.: THEOCHEM.* – 2007. – Vol. 815, № 1/3. – P. 1-9.
23. Antioxidant properties of flavonoids: reduction potentials and electron transfer reactions of flavonoids radicals / S. V. Jovanovic [et al.] // *Flavonoids in health and disease* / S. A. van Acker [et al.]; eds. C. A. Rice-Evans, L. Packer. – New York, 1998. – P. 137-161.
24. Antioxidant activity of natural flavonoids is governed by number and location of their aromatic hydroxyl groups / Z. Y. Chen [et al.] // *Chem. Phys. Lipids*. – 1996. – Vol. 79, № 2. – P. 157-163.
25. Oliveira-Brett, A. M. Electrochemical oxidation of quercetin / A. M. Oliveira-Brett, M. E. Ghica // *Electroanalysis*. – 2003. – Vol. 15, № 22. – P. 1745-1750.
26. Janeiro, P. Solid state electrochemical oxidation mechanisms of morin in aqueous media / P. Janeiro, A. M. Oliveira-Brett // *Electroanalysis*. – 2005. – Vol. 17, № 9. – P. 733-738.
27. Томсон, Р. Х. Структура и реакционная способность фенольных соединений / Р. Х. Томсон // *Биохимия фенольных соединений* / С. А. Браун [и др.]; под ред. Дж. Харборна. – Москва, 1968. – Гл. 1. – С. 9-33.
28. Костюк, В. А. Биорадикалы и биоантиоксиданты / В. А. Костюк, А. И. Потапович. – Минск: БГУ, 2004. – 179 с.
29. Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation / I. B. Afanas'ev [et al.] // *Biochem. Pharmacol.* – 1989. – Vol. 38, № 11. – P. 1763-1769.
30. Evaluation of the total peroxy radical-scavenging capacity of flavonoids: structure-activity relationships / A. J. Dugas, Jr. [et al.] // *J. Nat. Prod.* – 2000. – Vol. 63, № 3. – P. 327-331.
31. Kinetic evaluation of the reactivity of flavonoids as radical scavengers / S. Fujisawa [et al.] // *SAR QSAR Environ. Res.* – 2002. – Vol. 13, № 6. – P. 617-627.
32. Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids / A. Seyoum [et al.] // *Phytochemistry*. – 2006. – Vol. 67, № 18. – P. 2058-2070.
33. Kandaswami, C. Free radical scavenging and antioxidant activity of plant flavonoids / C. Kandaswami, E. Middleton, Jr. // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 1994. – Vol. 366. – P. 351-376.
34. Predicting the activity of phenolic antioxidants: theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants / J. S. Wright [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* – 2001. – Vol. 123, № 6. – P. 1173-1183.
35. DFT study of quercetin activated forms involved in antiradical, antioxidant, and prooxidant biological processes / S. Fiorucci [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2007. – Vol. 55, № 3. – P. 903-911.
36. Kostyuk, V. A. Superoxide--driven oxidation of quercetin and a simple sensitive assay for determination of superoxide dismutase / V. A. Kostyuk, A. I. Potapovich // *Biochem. Int.* – 1989. – Vol. 19, № 5. – P. 1117-1124.
37. Flavonoids as peroxy nitrite scavengers: the role of the hydroxyl groups / C. G. Heijnen [et al.] // *Toxicol. In Vitro*. – 2001. – Vol. 15, № 1. – P. 3-6.
38. Discriminative protection against hydroxyl and superoxide anion radicals by quercetin in human leucocytes in vitro / L. C. Wilms [et al.] // *Toxicol. In Vitro*. – 2008. – Vol. 22, № 2. – P. 301-307.

39. Papa, S. Reactive oxygen species, mitochondria, apoptosis and aging / S. Papa, V. P. Skulachev // *Mol. Cell Biochem.* – 1997. – Vol. 174, № 1/2. – P. 305-319.
40. Fujisawa, S. Comparative study of the alkyl and peroxy radical scavenging activities of polyphenols / S. Fujisawa, Y. Kadoma // *Chemosphere.* – 2006. – Vol. 62, № 1. – P. 71-79.
41. Repair of amino acid radicals of apolipoprotein B100 of low-density lipoproteins by flavonoids. A pulse radiolysis study with quercetin and rutin / P. Filipe [et al.] // *Biochemistry.* – 2002. – Vol. 41, № 36. – P. 11057-11064.
42. Efficiency of natural phenolic compounds regenerating alpha-tocopherol from alpha-tocopheroxyl radical / M. Pazos [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2007. – Vol. 55, № 9. – P. 3661-3666.
43. Clemetson, C. A. Plant polyphenols as antioxidants for ascorbic acid / C. A. Clemetson, L. Andersen // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 1966. – Vol. 136, № 14. – P. 341-376.
44. Reactivity of semiquinones with ascorbate and the ascorbate radical as studied by pulse radiolysis / V. Roginsky [et al.] // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2000. – Vol. 384, № 1. – P. 74-80.
45. ESR studies of vitamin C regeneration, order of reactivity of natural source phytochemical preparations / E. Cossins [et al.] // *Biochem. Mol. Biol. Int.* – 1998. – Vol. 45, № 3. – P. 583-597.
46. Chloroplast-located flavonoids can scavenge singlet oxygen / G. Agati [et al.] // *New Phytol.* – 2007. – Vol. 174, № 1. – P. 77-89.
47. Hypochlorite scavenging activity of flavonoids / O. Firuzi [et al.] // *J. Pharm. Pharmacol.* – 2004. – Vol. 56, № 6. – P. 801-807.
48. Oxidation of flavonols with Cu(II), Fe(II) and Fe(III) in aqueous media / G. Jungbluth [et al.] // *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2.* – 2000. – P. 1946-1952.
49. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay / R. Pulido [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2000. – Vol. 48, № 8. – P. 3396-3402.
50. Enhancement of antioxidant and anti-inflammatory activities of bioflavonoid rutin by complexation with transition metals / I. B. Afanas'eva [et al.] // *Biochem. Pharmacol.* – 2001. – Vol. 61, № 6. – P. 677-684.
51. Influence of metal ions on flavonoid protection against asbestos-induced cell injury / V. A. Kostyuk [et al.] // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2001. – Vol. 385, № 1. – P. 129-137.
52. The production of reactive oxygen species by dietary flavonols / A. T. Canada [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 1990. – Vol. 9, № 5. – P. 441-449.
53. Quercetin may act as a cytotoxic prooxidant after its metabolic activation to semiquinone and quinoidal product / D. Metodiewa [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 1999. – Vol. 26, № 1/2. – P. 107-116.
54. Oxidized quercetin reacts with thiols rather than with ascorbate: implication for quercetin supplementation / A. W. Boots [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2003. – Vol. 308, № 3. – P. 560-565.
55. Quenching of quercetin quinone/quinone methides by different thiolate scavengers: stability and reversibility of conjugate formation / H. M. Awad [et al.] // *Chem. Res. Toxicol.* – 2003. – Vol. 16, № 7. – P. 822-831.
56. Prooxidant activity and cellular effects of the phenoxyl radicals of dietary flavonoids and other polyphenolics / G. Galati [et al.] // *Toxicology.* – 2002. – Vol. 177, № 1. – P. 91-104.
57. Evidence of covalent binding of the dietary flavonoid quercetin to DNA and protein in human intestinal and hepatic cells / T. Walle [et al.] // *Biochem. Pharmacol.* – 2003. – Vol. 65, № 10. – P. 1603-1610.

58. Запрометов, М. Н. Фенольные соединения растений и их биогенез / М. Н. Запрометов // Итоги науки и техники. Сер. биол. химия. – 1988. – Vol. 27. – С. 4–186.
59. Дженкс, В. Катализ в химии и энзимологии / В. Дженкс. – Москва: Мир, 1972. – 467 с.
60. Wagner, H. Synthesis of Flavonoids / H. Wagner, L. Farkas // The Flavonoids / W. Barz [et al.]; eds. J. B. Harborne, T. J. Mabry, H. Mabry. – New York, 1975. – P. 127–213.
61. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions / L. Pourcel [et al.] // Trends Plant. Sci. – 2007. – Vol. 12, № 1. – P. 29-36.
62. Role of Polyphenol Oxidase and Peroxidase in the Generation of Black Tea Theaflavins / N. Subramanian [et al.] // J. Agric. Food Chem. – 1999. – Vol. 47, № 7. – P. 2571-2578.
63. Термостабильность растительных фенолоксидазы и пероксидазы, определяющая технологию их использования в пищевой промышленности / Н. И. Мчедlishvili [и др.] // Прикл. биохим. микробиол. – 2005. – Т. 41, № 2. – С. 165-170.
64. Schreiber, W. Action of horse radish peroxidase upon some flavones / W. Schreiber // FEBS Lett. – 1974. – Vol. 41, № 1. – P. 50-52.
65. Takahama, U. Flavonoids and some other phenolics as substrates of peroxidase: physiological significance of the redox reactions / U. Takahama, T. Oniki // J. Plant Res. – 2000. – Vol. 113, № 3. – P. 301-309.
66. Schreiber, W. Degradation of 3-hydroxyflavone by horse radish peroxidase / W. Schreiber // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1975. – Vol. 63, № 2. – P. 509-514.
67. Makris, D. P. An investigation on structural aspects influencing product formation in enzymic and chemical oxidation of quercetin and related flavonols / D. P. Makris, J. T. Rossiter // Food Chem. – 2002. – Vol. 77, № 2. – P. 177-185.
68. Peroxidase-mediated oxidation of catechins / S. Sang [et al.] // Phytochem. Rev. – 2004. – Vol. 3, № 1. – P. 229-241.
69. Schreier, P. Studies on flavonol degradation by peroxidase (Donor: H₂O₂-oxidoreductase, EC 1.11.1.7): Part 2--Quercetin / P. Schreier, E. Miller // Food Chem. – 1985. – Vol. 18. – P. 301-317.
70. Schreier, P. Studies on flavonol degradation by peroxidase (Donor: H₂O₂-oxidoreductase, EC 1.11.1.7): Part 1--Kaempferol / P. Schreier, E. Miller // Food Chem. – 1985. – Vol. 17. – P. 143-154.
71. Tissue and spatial distribution of flavonol and peroxidase in onion bulbs and stability of flavonol glucosides during boiling of the scales / S. Hirota [et al.] // J. Agric. Food Chem. – 1998. – Vol. 46, № 9. – P. 3497-3502.
72. Takahama, U. Spectrophotometric study on the oxidation of rutin by horseradish peroxidase and characteristics of the oxidized products / U. Takahama // Biochim. Biophys. Acta. – 1986. – Vol. 882, № 3. – P. 445-451.
73. Peroxidase-catalyzed formation of quercetin quinone methide-glutathione adducts / H. M. Awad [et al.] // Arch. Biochem. Biophys. – 2000. – Vol. 378, № 2. – P. 224-233.
74. Lopez-Serrano, M. Comparative study of the products of the peroxidase-catalyzed and the polyphenoloxidase-catalyzed (+)-catechin oxidation. Their possible implications in strawberry (*Fragaria x ananassa*) browning reactions / M. Lopez-Serrano, A. R. Barcelo // J. Agric. Food Chem. – 2002. – Vol. 50, № 5. – P. 1218-1224.
75. Divi, R. L. Inhibition of thyroid peroxidase by dietary flavonoids / R. L. Divi, D. R. Doerge // Chem. Res. Toxicol. – 1996. – Vol. 9, № 1. – P. 16-23.
76. Myeloperoxidase/nitrite-mediated lipid peroxidation of low-density lipoprotein as modulated by flavonoids / V. A. Kostyuk [et al.] // FEBS Lett. – 2003. – Vol. 537, № 1/3. – P. 146-150.
77. Neutrophil myeloperoxidase chlorinates and nitrates soy isoflavones and enhances their antioxidant properties / B. J. Boersma [et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 2003. – Vol. 35, № 11. – P. 1417-1430.

78. Myricitrin as a substrate and inhibitor of myeloperoxidase: Implications for the pharmacological effects of flavonoids / F. C. Meotti [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2008. – Vol. 44, № 1. – P. 109-120.
79. Catechol oxidase – structure and activity / C. Eicken [et al.] // *Curr. Opin. Struct. Biol.* – 1999. – Vol. 9, № 6. – P. 677-683.
80. Flavonols from *Heterotheca inuloides*: Tyrosinase Inhibitory Activity and Structural Criteria / I. Kubo [et al.] // *Bioorg. Med. Chem.* – 2000. – Vol. 8, № 7. – P. 1749-1755.
81. Kubo, I. Flavonols from saffron flower: tyrosinase inhibitory activity and inhibition mechanism / I. Kubo, I. Kinst-Hori // *J. Agric. Food Chem.* – 1999. – Vol. 47, № 10. – P. 4121-4125.
82. Kim, Y. J. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective for the future / Y. J. Kim, H. Uyama // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2005. – Vol. 62, № 15. – P. 1707-1723.
83. Oxidation products of quercetin catalyzed by mushroom tyrosinase / I. Kubo [et al.] // *Bioorg. Med. Chem.* – 2004. – Vol. 12, № 20. – P. 5343-5347.
84. Oxidation of the flavonoid eriodictyol by tyrosinase / M. Jimenez-Atienzar [et al.] // *Plant Physiol. Biochem.* – 2005. – Vol. 43, № 9. – P. 866-873.
85. Tyrosinase catalysed biphenyl construction from flavan-3-ol substrates / W. Janse van Rensburg [et al.] // *Phytochemistry.* – 2000. – Vol. 53, № 2. – P. 285-292.
86. Antioxidant and pro-oxidant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin. Effects on lipid peroxidation, hydroxyl radical generation and bleomycin-dependent damage to DNA / M. J. Laughton [et al.] // *Biochem. Pharmacol.* – 1989. – Vol. 38, № 17. – P. 2859-2865.
87. Lipoxygenase interactions with natural flavonoids, quercetin, reveal a complex with protocatechuic acid in its X-ray structure at 2.1 resolution / O.Y. Borbulevych [et al.] // *Proteins.* – 2004. – Vol. 54, №1. – P. 13-19.
88. Jorgensen, L. Flavonoid deactivation of ferrylmyoglobin in relation to ease of oxidation as determined by cyclic voltammetry / L. Jorgensen, L. Skibsted // *Free Radic. Res.* – 1998. – Vol. 28, №3. – P. 335-351.
89. Oxidative modification of quercetin by heme proteins / E. M. Cherviakovskiy [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2006. – Vol. 342, № 2. – P. 459-464.
90. Червяковский, Е. М. Количественная оценка электронодонорных свойств флавоноидов с использованием цитохрома с / Е. М. Червяковский // *Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. хим. наук.* – 2008. – № 1. – С. 78-85.
91. Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450 / P. Hodek [et al.] // *Chem. Biol. Interact.* – 2002. – Vol. 139, № 1. – P. 1-21.
92. In vitro investigation of cytochrome P450-mediated metabolism of dietary flavonoids / V. M. Breinholt [et al.] // *Food Chem. Toxicol.* – 2002. – Vol. 40, № 5. – P. 609-616.
93. Peroxidase involvement in lignification in water-impermeable seed coats of weedy leguminous and malvaceous species / G. H. Egley [et al.] // *Plant, Cell & Environ.* – 1985. – Vol. 8, № 4. – P. 253-260.
94. Bailly, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology / C. Bailly // *Seed Sci. Res.* – 2004. – Vol. 14, № 2. – P. 93-107.
95. Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds / N. H. Aziz [et al.] // *Microbios.* – 1998. – Vol. 93, № 374. – P. 43-54.
96. Walker, J. R. Diphenol oxidases, enzyme-catalysed browning and plant disease resistance / J. R. Walker, P. H. Ferrar // *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.* – 1998. – Vol. 15. – P. 457-498.
97. Rahman, M. Biochemistry of ginseng root tissues affected by rusty root symptoms / M. Rahman, Z. K. Punja // *Plant Physiol. Biochem.* – 2005. – Vol. 43, № 12. – P. 1103-1114.

98. Interactions between apple cell walls and native apple polyphenols: quantification and some consequences / C. M. Renard [et al.] // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2001. – Vol. 29. – P. 115–125.
99. Feeny, P. P. Plant apparancy and chemical defense / P. P. Feeny // *Rec. Adv. Phytochem.* – 1974. – Vol. 10. – P. 1-40.
100. Walle, T. Absorption and metabolism of flavonoids / T. Walle // *Free Radic. Biol. Med.* – 2004. – Vol. 36, № 7. – P. 829-837.
101. Metabolism of plant polyphenols in the skin: beneficial versus deleterious effects / L. G. Korkina [et al.] // *Curr. Drug Metab.* – 2008. – Vol. 9, №8. – P. 710-29.
102. Kostyuk, V. A. Mechanisms of the suppression of free radical overproduction by antioxidants / V. A. Kostyuk, A. I. Potapovich // *Front Biosci (Elite Ed)*. – 2009. – Vol. 1. P. 179-88.