ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ
ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ
АРМЕНИЯ

Հայաստանի քիմիական հանդես **64, №3, 2011** Химический журнал Армении

УДК 541.127

АНТИОКСИДАНТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭКСТРАКТОВ ОМЕЛЫ БЕЛОЙ (VISCUM ALBUM L.), ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ НА РАЗЛИЧНЫХ ДЕРЕВЬЯХ

Р. Л. ВАРДАНЯН, Л. Р. ВАРДАНЯН и Л. В. АТАБЕКЯН

Горисский государственный университет
Армения, 3205, Горис, ул. Арзуманяна, 4
Факс: (374 284) 23603; E-mail: vrazmik@rambler.ru

Поступило 5 XI 2010

Изучено антиоксидантное действие экстрактов омелы белой, произрастающей на дубе, алыче и боярышнике. Установлено, что из исследованных экстрактов наибольшее количество антиоксидантов содержится в листьях омелы белой из боярышника. Определены константы скоростей реакции обрыва цепей на ингибиторах. Показано, что исследованные экстракты уже при комнатной температуре подвергаются быстрому старению, вследствие чего сроки хранения и эксплуатации как биологически активных препаратов и антиоксидантов не превышает двух-трех дней.

Рис. 4, табл. 2, библ. ссылок 16.

В настоящее время большое внимание уделяется изучению содержания антиоксидантов в лекарственных растениях, пищевых продуктах, напитках, биологически активных добавках и т. д. [1-5]. Известно, что увеличение активности процессов свободнорадикального окисления в организме приводит к нарушению структуры и свойств липидных мембран, вследствие чего возникает прямая связь между избыточным содержанием свободных радикалов в организме и возникновением опасных заболеваний. Антиоксиданты растительного происхождения относятся к классу биологически активных веществ, которые связывают излишние свободные радикалы и препятствуют ускоренному окислению липидов и образованию нежелательных продуктов окисления. Поэтому измерение содержания антиоксидантов в различных продуктах питания и лекарственных травах представляет определенный практический интерес. Из лекарственных трав особый интерес представляет омела белая.

Омела белая – многолетний, вечнозеленый, шаровидной формы двудомный кустарник 20-150 *см* в диаметре, поселяющийся на ветвях различных деревьев (дуб, тополь, ива, клен, береза, липа, груша, яблоня, боярышник, алыча, сосна, ель и т. д.). В зависимости от свойства дерева-хозяина омела белая подразделяется на три вида [6]: Viscum album L. Scp. Platyspermum, которая произрастает на лиственных растениях; Viscum album L. Scp. Abietis – омела пихтовая, у которой деревьями-хозяевами являются белые пихты; Viscum album L. Scp. Laxum – сосновая омела, которая растет на соснах, реже встречается и на елях. Омела белая – полупаразит, который получает воду и минеральное питание за счет растения-хозяина, а органические вещества фотосинтезирует самостоятельно.

Омела белая с древних времен (V век д. н. э.) и по сей день используется в народной медицине для лечения самых различных заболеваний: злокачественных опухолей, атеросклероза, воспалительных заболеваний почек, хронического воспаления матки, при болях слизистой оболочки желудка, поджелудочной железы, туберкулезе легких, бронхиальной астме, геморрое, кровотечениях, при сахарном диабете и т. д. Подобное "универсальное" лечебное действие омелы белой объясняется ее сложным и богатым химическим составом. Установлено [7], что побеги омелы содержат олеаноловую и уросоловую кислоты, холины, алкалоид вискотоксин, гликозид вискальбин, тритерпеновые сапонины, амины, инозит, каротин, аскорбиновою кислоту. Листья содержат углеводы, многоатомные спирты, органические кислоты, тритерпеноиды, каучук, стерины, азотсодержащие соединения, полипептиды, лектины, витамины А, С, Е, фенолы и их производные, дубильные вещества, фенолкарбоновые кислоты и их производные, флавоноиды, халконы, высшие жирные кислоты, воск, каротиноиды. В ягодах обнаружены жирное масло, каучук, смолистые вещества, каротин, аскорбиновая кислота.

Из приведенного химического состава видно, что омела белая содержит вещества, обладающие антиоксидантными свойствами, какими являются флавоноиды, каротиноиды, витамины А, С, Е, азотсодержащие соединения, фенолы. В связи с этим представляет определенный интерес изучение антиоксидантной активности экстрактов листьев омелы белой, произрастающей на различных деревьях. Цель работы – выяснение зависимости содержания антиоксидантов в экстракте омелы белой от того, из какого дерева питается она (т. е. на каком дереве она растет).

Экспериментальная часть

Сырьем для получения экстрактов являлись листья омелы белой, произрастающей на деревьях дуба, боярышника и алыче, собранные до цветения в одно и тоже время (15.02.2009г.), из Горисского района Сюникской области Республики Армения. Листья были высушены в вакуумном шкафу при температуре 40°С. Сухие листья измельчили в ступке. К 5 *г* измельченного сырья при комнатной температуре добавили 50 *мл* бензола и через 24 *ч* отфильтровали с помощью бумажного фильтра. Из полученного фильтрата растворитель выпаривался при комнатной температуре, а остаток высушивался в вакуумном шкафу до

постоянной массы при 303 К. Полученные экстракты представляли собой вязкую твердую массу желто-коричневого цвета.

Антиоксидантную способность экстрактов изучали на примере модельной цепной реакции окисления кумола молекулярным кислородом, инициированного азо-ди-изобутиронитрилом (АИБН). Растворителем служил хлорбензол. За окислением следили по поглощению кислорода на газометрической установке с автоматическим регулированием давления [8]. Кумол, АИБН, бензол и хлорбензол очищались по методикам, приведенным в работе [9].

Результаты и их обсуждение

Установлено, что при инициированном окислении кумола в присутствии исследованных экстрактов на кинетических кривых поглощения кислорода появляются четко выраженные периоды индукции (рис. 1), что свидетельствует о наличии ингибиторов в экстрактах. Обнаруженные периоды индукции (рис. 2) описываются уравнением (1):

$$\tau = \frac{f \cdot [InH]_0}{V_i} \quad , \qquad (1)$$

где f – стехиометрический коэффициент ингибирования, равный числу обрываемых цепей одной молекулы ингибитора; $[InH]_0$ – исходная, суммарная концентрация антиоксидантов-ингибиторов в исследованных экстрактах; V_i – скорость инициирования. При определении суммарной концентрации антиоксидантов пользовались данными рис. 1 и уравнением (1). При этом предполагали, что коэффициент f=2. Результаты приведены в табл. 1, из которой следует, что наибольшее количество антиоксидантов содержится в экстракте омелы белой из боярышника.

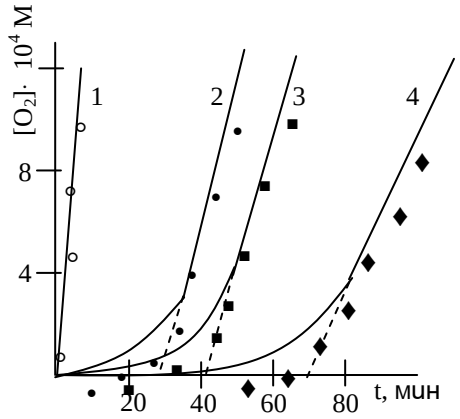

Рис. 1. Кинетические кривые поглощения кислорода окисляющегося кумола в отсутствие (1) и в присутствии 2 *мг/мл* экстракта омелы белой растущей на дубе (2), альче (3) и боярышнике (4). V_i=1.44·10^{-7} *М*·с$^{-1}$, [RH]= 2.87M, T=344 K

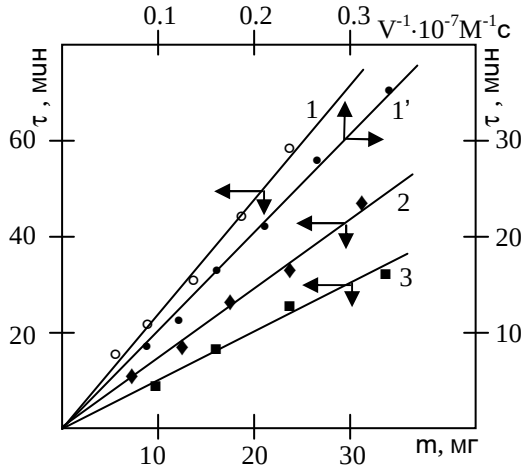

Рис. 2. Зависимость периодов индукции окисляющегося кумола от скорости инициирования (1') и концентрации антиоксидантов, содержащихся в экстрактах омелы белой, прорастающей на боярышнике (1, 1'), алыче (2) и дубе (3). $V_i=1.44\cdot10^{-7} M\cdot c^{-1}$.

Из рис. 3 следует, что концентрация поглощенного кислорода за время $t<\tau$ описывается уравнением (2) [10]:

$$[O_2]/[RH] = -\frac{k_2}{k_7}\ln\left(1-\frac{t}{\tau}\right) \qquad (2)$$

Спрямляя кинетические данные в координатах уравнения (2), вычислили параметры k_2/k_7, характеризующие активность экстрактов как антиоксидантов, где k_2 и k_7 соответственно являются константами скоростей реакции продолжения $\left(RO_2^{\cdot} + RH \rightarrow ROOH + R^{\cdot}\right)$ и линейного обрыва цепей $\left(RO_2^{\cdot} + InH \rightarrow ROOH + In^{\cdot}\right)$; $RO_2^{\cdot}$ – пероксидные радикалы кумола.

С учетом того, что для кумола $k_2=4{,}677\cdot10^6\exp(-9800/RT)$ $M^{-1}\cdot c^{-1}$ [11], из экспериментально вычисленных отношений k_2/k_7 для исследованных экстрактов были определены константы скоростей k_7 в аррениусовских координатах. Результаты расчетов приведены в табл. 1.

При сравнении полученных нами значений k_7 с литературными данными [12, 13], где $k_7\approx10^6$ для флавоноидов, видно, что для исследованных нами экстрактов ее численное значение на порядок занижен. Это объясняется образованием водородной связи между OH-группами флавоноидов и полярными молекулами, содержащимися в экстрактах [12].

Таблица 1

Содержание антиоксидантов и их активность в экстрактах омелы белой, прорастающей на различных деревьях.

Концентрация экстракта 6 *мг/мл*.

Обьект исследования	$[InH]_0 \cdot 10^4$, *М*	Аррениусовские параметры для k_7		$k_7 \cdot 10^{-5}$ $M^{-1}c^{-1}$, 344 K	$k_{71} \cdot 10^{-3}$ $M^{-1}c^{-1}$, 344 K
		lgA	$E \cdot 10^{-3}$ *ккал*		
ОБПрБ	3.06	9.079	6.45	0.96	8.35
ОБПрА	1.83	9.527	7.28	0.80	0.62
ОБПрД	1.33	9.450	5.80	0.59	0.61
	$[InH]_0 \cdot 10^4$, *М*	Аррениусовские параметры для k_7		$k_7 \cdot 10^{-5}$ $M^{-1}c^{-1}$, 344 K	$k_{71} \cdot 10^{-3}$ $M^{-1}c^{-1}$, 344 K
		lgA	$E \cdot 10^{-3}$ *ккал*		
ОБПрБ	3.06	9.079	6.45	0.96	8.35
ОБПрА	1.83	9.527	7.28	0.80	0.62
ОБПрД	1.33	9.450	5.80	0.59	0.61
4					
ОБПрБ	3.06	9.079	6.45	0.96	8.35
ОБПрА	1.83	9.527	7.28	0.80	0.62
ОБПрД	1.33	9.450	5.80	0.59	0.61

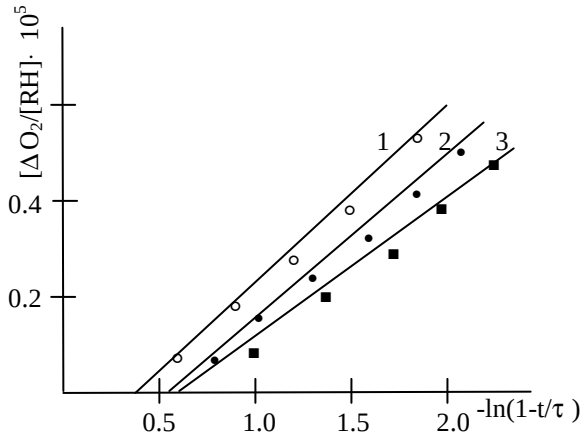

Рис. 3. Зависимость концентрации поглощенного кислорода от параметра -ln(1-t/τ) окисляющегося кумола в присутствии 6 *мг/мл* экстрактов омелы белой, прорастающей на боярышнике (1), алыче (2) и дубе (3). T=344K.

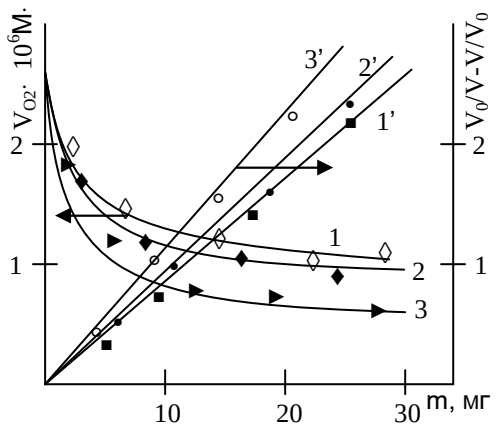

Рис. 4. Зависимость предельной скорости окисления 2.87М кумола от содержания экстрактов омелы белой, прорастающей на дубе (1), алыче (2) и боярышнике (3). V_i=1.44·10^{-7} $M\cdot c^{-1}$. T=344K

После выхода из периодов индукции предельные скорости поглощения кислорода остаются заниженными по сравнению со скоростью окисления кумола в отсутствие экстрактов (см. тангенсы углов кривых на рис. 1). Это свидетельствует о том, что продукты превращения (окисления) антиоксидантов (флавоноидов), находящихся в экстрактах, также обладают антиоксидантными свойствами. Этот факт на примере ряда флавоноидов подтвержден в работах [14, 15]. Причем, в отличие от исходных антиоксидантов, находящихся в исследованных экстрактах, в присутствии этих продуктов окисление кумола осуществляется без периодов индукции. Следовательно, обрыв цепей осуществляется как линейно, так и квадратично. Исходя из этих рассуждений предлагается следующий механизм окисления системы АУБН–кумол–экстракт–хлорбензол:

I $\quad$ АИБН $\rightarrow 2r^{\cdot} \xrightarrow{RH} R^{\cdot} \xrightarrow{O_2} RO_2^{\cdot} \qquad (V_i)$

II $\quad RO_2^{\cdot} + RH \xrightarrow{k_2} ROOH + R^{\cdot}$

III $\quad RO_2^{\cdot} + RO_2^{\cdot} \xrightarrow{k_6}$ молек. продукты

IV $\quad RO_2^{\cdot} + InH \xrightarrow{k_7} ROOH + In^{\cdot}$

V $\quad RO_2^{\cdot} + In^{\cdot} \xrightarrow{k_8} Q$

VI $\quad RO_2^{\cdot} + Q \xrightarrow{k_{71}} Q^{\cdot}$

VII $\quad RO_2^{\cdot} + Q^{\cdot} \xrightarrow{k_{81}}$ молек. продукты

где RH – окисляемое вещество (кумол); InH – антиоксидант, находящийся в экстрактах; In$^{\cdot}$ – его радикал; Q – продукт окисления исходного антиоксиданта; Q$^{\cdot}$ – его радикал. Наличие периодов индукции на кинетических кривых объясняется протеканием реакций I, II, IV и V. В этом случае скорость окисления будет описываться уравнением (3):

$$V_{O_2} = \frac{k_2[RH]}{f \cdot k_7[InH]} \cdot V_i . \qquad (3)$$

После выхода из периодов индукции существенную роль играют реакции I, II, III, VI и VII. В этом случае скорость окисления описывается уравнением (4):

$$\frac{V_0}{V} - \frac{V}{V_0} = \frac{2k_{71}[Q]}{(k_6 \cdot V_i)^{1/2}} , \qquad (4)$$

где V_0 –скорость безингибированного окисления кумола:

$$V_0 = \frac{k_2}{\sqrt{k_6}}[RH] \cdot \sqrt{V_i} , \qquad (5)$$

где V – предельная скорость окисления кумола в присутствии экстракта после выхода из периодов индукции:

$$V = k_2[RH]\frac{k_{71}[Q]}{k_6}\left\{\left[1 + \frac{k_6 V_i}{k_{71}^2[Q]^2}\right]^{1/2} - 1\right\}. \qquad (6)$$

Из рис. 4 видно, что предельные скорости окисления кумола в присутствии исследованных экстрактов описываются уравнениями (4) и (6). Пользуясь уравнением (4) и рис. 4 (прямые 1', 2', 3'), определили отношение $k_{71} / \sqrt{k_6}$. Откуда, учитывая, что для кумола $k_6 = 4.74 \cdot 10^5 \cdot \exp(-9800/RT)$ $M^{-1}c^{-1}$ [11], определили значения k_{71} при 341К. Предполагалось, что концентрация продуктов окисления антиоксидантов ([Q]) равна исходной концентрации антиоксидантов ($[InH]_0$) в исследованных экстрактах. Результаты расчетов приведены в табл. 1, из которой следует, что из исследованных экстрактов как по содержанию антиоксидантов, так и по их антиоксидантной активности (параметры k_7 и k_{71}) наиболее эффективным является экстракт омелы белой, растущей на боярышнике.

Известно [14], что экстракты растений, особенно содержащиеся в них антиоксиданты-флавоноиды, даже при комнатной температуре имеют небольшие сроки хранения из-за их высокой окисляемости. С этой целью интересно было изучить динамику изменения концентрации антиоксидантов во времени. Концентрация антиоксидантов определялась вышеописанным способом с помощью уравнения 1. Результаты исследований для экстрактов омелы белой, растущей на дубе (ОБПрД) и боярышнике (ОБПрБ), приведены в табл. 2.

Таблица 2

Динамика изменеия концентрации антиоксидантов по мере хранения экстрактов при (20±5)°С

t, дни		1	3	8	15	25
$[InH]_0 \cdot 10^4$, *М* в 6 *мг/мл* экстракта	ОБПрД	1.33	0.86	0.40	0.10	0.05
	ОБПрБ	3.37	3.06	1.60	1.10	0.97

Из табл. 2 видно, что по мере хранения экстрактов содержание в них антиоксидантных веществ резко уменьшается.

Следовательно, с целью увеличения сроков хранения необходимо их хранить при минусовых температурах – желательно в атмосфере азота или любого инертного газа. Кроме того, исходя из этих результатов приходим к выводу, что экстрагирование биологически активных веществ из растений, по возможности, необходимо осуществлять при сравнительно низких температурах.

ՏԱՐԲԵՐ ԾԱՌԵՐԻ ՎՐԱ ԱՃՈՂ ՍՊԻՏԱԿ ՄՂԱՄՈՒՃԻ (VISCUM ALBUM L.) ԷՔՍՏՐԱԿՏՆԵՐԻ ՀԱԿԱՕՔՍԻԴԻՉ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ռ. Լ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ, Լ. Ռ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ և Լ. Վ. ԱԹԱԲԵԿՅԱՆ

Ուսումնասիրված են կաղնու, ալոճենու և սալորենու վրա աճող սպիտակ մղամուճի թուրմերի հակաօքսիդիչ հատկությունները: Հաստատված է, որ հետազոտված թուրմերից ամենամեծ քանակությամբ հակաօքսիդիչ նյութեր պարունակվում է ալոճենու վրա աճող սպիտակ մղամուճի տերևների էքստրակտում: Որոշված են ինհիբիտորների վրա շղթայի կտրման ռեակցիաների արագության հաստատունները: Ցույց է տրված, որ հետազոտված թուրմերն արդեն իսկ սենյակային ջերմաստիճանում ենթարկվում են արագ ծերացման, ինչի հետևանքով դրանց պահպանման և օգտագործման ժամկետը, որպես կենսաբանական ակտիվ նյութեր և հակաօքսիդիչներ, չի գերազանցում 2-3 օրը:

ANTIOXIDANT EFFECT OF EXTRACTS OF WHITE MISTLETOE (VISCUM ALBUM L.) GROWN IN DIFFERENT TREES

R. L. VARDANYAN, L. R. VARDANYAN and L. V. ATABEKYAN

Goris State University
4, Arzumanyan Str., Goris, 3205, Armenia
Fax: (374284) 23603; E–mail: vrazmik@rambler.ru

The antioxidant effect of the extracts of white mistletoe grown on the oak, plum and hawthorn has been studied. It was found out that of the studied extracts the leaves of mistletoe from the white hawthorn contained the greatest amount of antioxidants. Rate constants for the reaction of the chain termination on the inhibitor have been determined.

It has been shown that the studied extracts are exposed to rapid aging and therefore the time of their storage and use as biologically active compounds and antioxidants does not exceed more than two or three days.

ЛИТЕРАТУРА

[1] *Dillard C.J., German J.B.* // J. Sci. Food Agric., 2000, v.80, p.1744.

[2] *Zaporozhets O.A., Krushinska O.A., Lipkovska N.A., Barvinchenko V.N.* // J. Agric. Food Chem., 2004. v. 52. №1, p. 1.

[3] *Яшин А.Я.* // Российский химический журнал, 2008, т. 52, №2, с.130.

[4] *Бурлакова Е.Б.* // Биологическая кинетика, Сб. Обзорных статей, М., 2005, т. 2, с.10.

[5] *Capecka E., Mareczek A., Leja M.* // Antioxidant Food Chem., 2006, v.93, №2, p.223.

[6] *Завадская А.И., Ролик И.С., Гущин А.Ю.* www.naturita.ru/hel-sc.htm.

[7] Омела белая. см. www.limonnik.ru/rus-pages/plant info/viscum.html.

[8] *Эмануэль Н.М., Денисов Е.Т., Майзус З.К.* Цепные реакции окисления углеводородов в жидкой фазе. М., Наука, 1965, с.32.

[9] *Варданян Л.Р.* . "Кинетика инициированного персульфатом калия окисления эмульгаторов в водных растворах и их стабилизация" канд. хим. наук. Ереван, ИХФ НАН РА, 2004.

[10] *Денисов Е.Т., Харитонов В.В., Феодорова В.В.* // Кинетика и катализ, 1977, т.18, №5, с.261.

[11] *Денисов Е.Т.* Константы скорости гомолитических жидкофазных реакций. М., Наука, 1971, с.51.

[12] *Денисов Е.Т., Денисова Т.Г.* // Успехи химии, 2009, т.78, №11, с.1129.

[13] *Roginsky V.* // Arch. Biochem. Biophys., 2003, №414, p. 261.

[14] *Костюк В.А., Потапович А.И.* Биорадикалы и биоантиоксиданты, Минск, БГУ, 2004. с.129.

[15] *Варданян Р.Л., Варданян Л.Р., Атабекян Л.В.* // Сб. трудов Международной научной конференции Горисского государственного университета, Горис, 2010, с. 60.

[16] *Александров А.Л.* Автореф. дисс. "Отрицательный катализ в радикально-цепных процессах окисления азот- и кислородсодержащих веществ" докт. хим. наук. Черноголовка, ОИФХ АН СССР, 1982.