

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ
ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ
АРМЕНИЯ

Հայաստանի քիմիական հանդես 66, №4, 2013 Химический журнал Армении

УДК 541.127

СОДЕРЖАНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ В ЭКСТРАКТЕ ПАПОРОТНИКА
МУЖСКОГО (DRYOPTERIS FILIXMAS)

Л. Р. ВАРДАНЯН, Р. Л. ВАРДАНЯН и С. А. АЙРАПЕТЯН

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

Поступило 15 II 2013

Определено содержание антиоксидантов в экстрактах из листьев и корневища папоротника мужского, произрастающего в лесах Горисского района. Установлено, что в корнях папоротника содержание антиоксидантных веществ в 1.5 раза больше, чем в листьях. На примере модельной реакции окисления кумола измерена также температурная зависимость антиоксидантной активности – константы скорости линейного обрыва цепей на ингибиторе, содержащихся в листьях и корневище папоротника мужского, и определены аррениусовские параметры константы скорости.

Рис. 4, табл. 2, библиограф. ссылок 13.

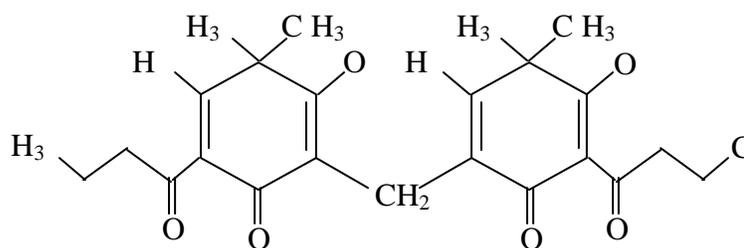
Старение пищевых продуктов, органических веществ и живых организмов, в основном, связано с влиянием внешних факторов: температура, солнечное и радиационное излучение, экология среды и т.д. Установлено, что старение во многом обусловлено свободно-радикальными процессами, и для предотвращения этого процесса используются вещества, обладающие антирадикальными антиоксидантными свойствами.

Растения вырабатывают средства, защищающие их от внешних воздействий. Например, в тропиках температура на открытых пространствах может повышаться до 50°C и более, и в этих условиях растения нормально произрастают. Одним из основных причин противостояния растений к внешним воздействиям является то, что они синтезируют вещества флавоноиды, каротиноиды, витамины А, С, Е и т.д., обладающие ярко выраженными антиоксидантами свойствами. Этим и объясняются столь полезные свойства различных препаратов растительного происхождения [1-2], применяемых в медицине.

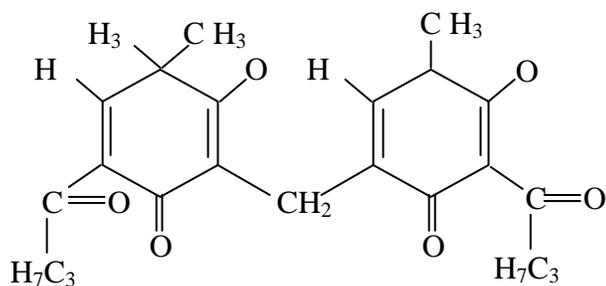
На сегодняшний день в научной литературе опубликованы многочисленные работы по определению химического состава и содержания [3-5] антиоксидантов в эфирных маслах и экстрактах растений. Столь большое внимание к антиоксидантам растительного происхождения объясняется их высокой антирадикальной активностью, малой токсичностью и сравнительно низкой себестоимостью. В данной работе нами впервые исследовано антиоксидантное свойство экстрактов из корневища и листьев папоротника мужского. Папоротник – единственное высшее растение, которое более 400 млн. лет противостоял всяческим природным катаклизмам и практически без изменения до сих пор произрастает во всех континентах Земного шара (кроме Антарктиды). Папоротники – самая большая группа споровых растений: существует четыре класса, около 300 родов и более 10 000 видов папоротников [6].

В лесах Армении больше всего встречается папоротник мужской (ПМ). Как лекарственное растение ПМ известен с античной эпохи и средневековья. В медицине используется густой экстракт корневища ПМ против ленточных глистов. Экстракт обладает также противосудорожным, обезболивающим и ранозаживающим действием. Однако необходимо отметить, что внутреннее применение папоротника как сильноядовитого растения требует большой осторожности и обязательного врачебного контроля.

Поскольку к биологически активным веществам папоротника относятся производные ацилфилициновых кислот, в частности, альбаспидин, флаваспидиновая кислота и флаваспидин [7], то следует ожидать высокой антиоксидантной активности экстрактов ПМ.



альбаспидин



флаваспидиновая кислота (R=H) и флаваспидин (R=OCH₃)

Экспериментальная часть

Корневища и листья папоротника собирали поздней осенью (25.11). После сбора корневище промыли, порезали на мелкие куски (толщиной 3-4 мм) и вместе с листьями высушили в сушильном шкафу при температуре 313К. Высушенное сырье протерли в керамической ступке до размера ≤ 1 мм. В полученный порошок добавили экстрагент в соотношении 1:20 (на 1 г измельченного сырья 20 мл экстрагента), дали отстояться одни сутки, далее профильтровали через бумажный фильтр. Фильтрат испарили при комнатной температуре в вакуумном шкафу до постоянного веса. Независимо от химического состава экстрагента, экстракт корневища ПМ представлял собой маслянистую вязкую жидкость желтого цвета, а экстракт листьев ПМ – вязкую пасту желто-зеленого цвета. В качестве экстрагентов были использованы бензол, этилацетат, хлороформ, метанол, диэтиловый эфир, ацетон.

Антиоксидантные свойства полученных экстрактов изучали кинетическими методами на примере модельной реакции инициированного окисления кумола. В качестве инициатора использовали азо-ди-изобутиронитрил (АИБН). В реакционной смеси растворителем (АИБН + кумола + экстракт) служил хлорбензол. Объем реакционной смеси составлял 5 мл, концентрация кумола – 2,87 моль/л. Опыты по окислению проводили на газометрической установке с автоматическим регулированием давления [8]. Использованные реактивы очищались по методикам, описанным в [9]. Опыты проводились в интервале температур 329-348К.

Результаты и их обсуждение

В работе отдельно исследовались экстракты корневищ и листьев ПМ. На рис. 1 представлены кинетические кривые поглощения кислорода окисляющегося кумола соответственно в отсутствие исследованных экстрактов (пр. 1) и в

присутствии экстрактов из листьев и корневищ ПМ (кр. 2 и 3). Из кинетических кривых видно, что в присутствии исследованных экстрактов на кинетических кривых поглощения кислорода появляются четко выраженные периоды индукции. Это свидетельствует о наличии антиоксидантных веществ в исследованных экстрактах.

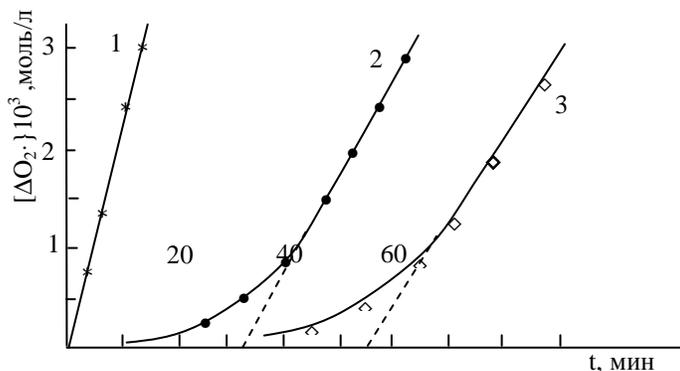


Рис. 1. Кинетические кривые поглощения кислорода окисляющего кумола в отсутствие (1) и в присутствии 4 мг бензольного экстракта из листьев (2) и корневища (3) папоротника мужского $V_i = 1.25 \cdot 10^{-7}$ моль/л·с. $T = 348$ К.

Обнаруженные периоды индукции τ описываются уравнением (1) (рис. 2)

$$\tau \approx \frac{m}{V_i} = k \cdot \frac{f[InH]}{V_i}, \quad (1)$$

где m – масса навески экстракта; V_i – скорость инициирования; k – коэффициент перехода от массы к суммарной концентрации антиоксидантов (InH) в исследованных экстрактах; f – стехиометрический коэффициент ингибирования – число радикалов, захватываемых одной молекулой антиоксиданта (ингибитора). Спрямляя периоды индукции в координатах уравнения (1) (рис. 2), нами определено содержание антиоксидантов в исследованных экстрактах. При этом, учитывая, что в экстрактах ПМ из антиоксидантных веществ содержатся в основном производные ацилфилициновых кислот [7], в расчетах для коэффициента ингибирования принимали значения $f = 2$. Результаты расчетов содержания суммарной концентрации InH приведены в табл. 1.

Помимо содержания антиоксидантных веществ в экстрактах ПМ, определяли также их антиоксидантную активность – константу скорости реакции линейного обрыва цепей (k_7):



$$V_i^{-1} \cdot 10^{-6}, (\text{МОЛЬ/Л} \cdot \text{С})^{-1}$$

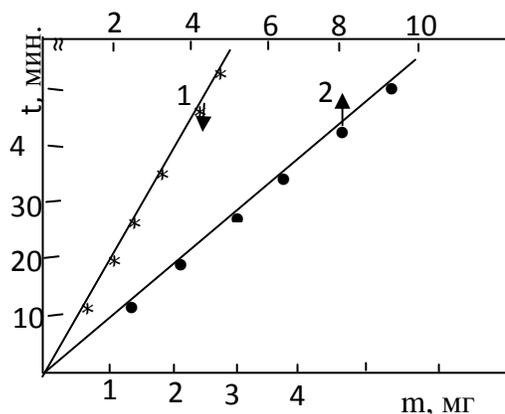
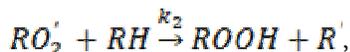


Рис. 2. Зависимость периодов индукции поглощения кислорода окисляющегося кумола (1) от массы бензольного экстракта корневища ПМ ($V_i=1.25 \cdot 10^{-7}$ МОЛЬ/Л·С) и (2) от обратной скорости инициирования (масса экстракта 4 мг), $T=348$ К.

При этом пользовались уравнением (2) [10]

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

где k_2 – константа скорости реакции продолжения цепей



$[O_2]$ – концентрация поглощенного кислорода за время $t < \tau$, $[RH]=2.87$ МОЛЬ/Л концентрация кумола.

Учитывая, что для кумола $k_2 = 4.677 \exp\left(-\frac{9800}{RT}\right)$ [11] (здесь и далее энергия активации выражена в калориях), из экспериментально вычисленных отношений k_2/k_7 были определены абсолютные значения константы скорости реакции k_7 в интервале температур 323-348К. Результаты приведены в табл. 1 и на рис. 3. Из рис. 3 следует, что для экстракта из корневищ ПМ

$$(k_7)_к = (9,16 \pm 0,15) \cdot 10^7 \exp\left[(-4800 \pm 50)/RT\right] \text{ Л/МОЛЬ} \cdot \text{С},$$

а для экстракта из листьев ПМ

$$(k_7)_л = (3,78 \pm 0,25) \cdot 10^7 \exp\left[\frac{(-4500 \pm 40)}{RT}\right] \text{ Л/МОЛЬ} \cdot \text{С}.$$

Опыты показали, что после выхода из периодов индукции предельные скорости поглощения кислорода остаются заниженными по сравнению со скоростью окисления кумола в отсутствие исследованных экстрактов. Этот факт нами обнаружен и для ряда экстрактов из других лекарственных растений [12], и объясняется тем, что продукты окисления исходных антиоксидантов (Q) также обладают антиоксидантными свойствами.

Таблица 1

Содержание антиоксидантов в экстрактах папоротника и параметры k_7 и k_{71} , характеризующие их антиоксидантную активность

T, K	$V_i \cdot 10^7$	Масса экстракта, мг	τ , мин	$[InH] \cdot 10^4$, моль/л(с)	$[InH] \cdot 10^4$, моль/л в 1 мг экстракте	$V_{O_2}^* \cdot 10^6$, моль/л(с)	$k_7 \cdot 10^{-4}$, л/моль·с	$k_{71} \cdot 10^{-2}$, л/моль·с
1	2	3	4	5	6	7	8	8
Экстракт из корневища папоротника								
348	1.25	–	–	–	–	3.54	–	–
348	1.25	0.8	12	0.450	0.567	2.28	8.57	6.55
348	1.25	1.6	22	0.825	0.515	1.79	8.50	5.95
348	1.25	4.0	53	1.888	0.497	0.88	9.10	6.30
348	2.50	4.0	28	2.025	0.506	1.40	8.65	7.45
348	0.625	1.6	42	0.790	0.499	0.96	9.23	6.50
339	1.01	–	–	–	–	2.30	–	–
339	1.01	4.0	67	2.030	0.505	0.83	7.38	3.48
339	1.01	2.5	41	1.275	0.490	1.14	7.45	5.56
329	0.964	–	–	–	–	0.91	–	–
329	0.964	1.6	33	0.854	0.596	0.67	5.94	1.74
329	0.964	3.2	64	1.687	0.577	0.50	5.85	1.82
Экстракт из листьев папоротника								
348	1.25	6.7	59	2.211	0.330	0.70	5.65	7.29
348	1.25	4.0	35	1.313	0.330	1.08	5.83	7.50
348	1.25	1.1	10	0.375	0.340	2.40	5.47	7.08
339	1.01	4.0	43	1.300	0.325	0.94	4.75	4.51
339	1.01	2.0	23	0.685	0.342	1.40	4.93	4.33
339	1.01	1.0	11	0.338	0.338	1.75	4.57	4.69
329	0.964	4.0	50	1.440	0.360	0.48	3.88	2.57
329	0.964	2.0	24	0.659	0.348	0.64	3.75	2.75
329	0.964	1.0	11	0.318	0.318	0.78	3.01	2.39

* – скорость поглощения кислорода после выхода из периодов индукции.

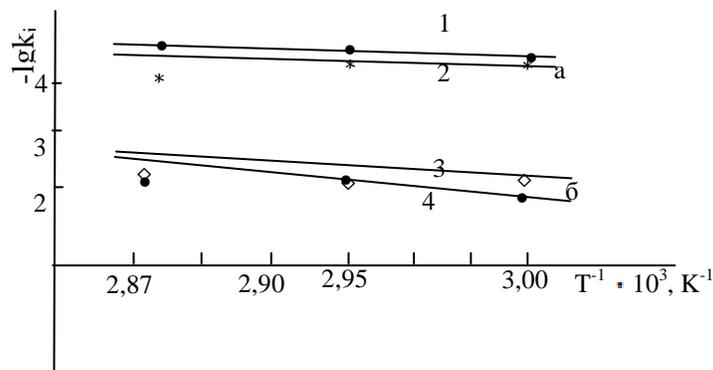


Рис. 3. Температурная зависимость константы скорости реакции k_7 (а) и k_{71} (б) для экстрактов из корневища (1;3) и листьев (2;4) ПМ.

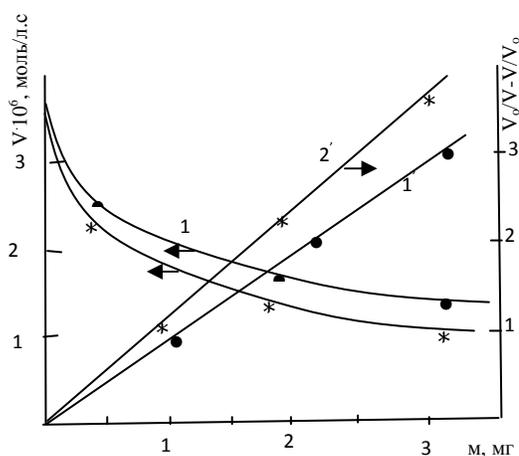
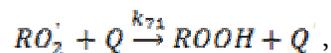


Рис. 4. Зависимость предельной скорости поглощения кислорода окисляющегося кумола и параметра $V_0/V - V/V_0$ от содержания бензольного экстракта корневища (1;3) и листьев (2;4) ПМ. $V_i = 1.25 \cdot 10^{-7}$ моль/л, $T = 348$ К.

Причем, в отличие от исходных антиоксидантов, в присутствии этих продуктов окисление кумола осуществляется без периодов индукции. Это свидетельствует о том, что в присутствии Q обрыв цепей осуществляется как линейно



так и квадратично



В этом случае для определения константы скорости ингибирования k_{71} экспериментальные результаты, полученные в условиях сохранения цепного режима окисления кумола (длина цепей в присутствии продуктов Q больше 3), трансформировали в координатах уравнения (3) [10].

$$\frac{V_0}{V} - \frac{V}{V_0} = \frac{k_{71} f \cdot [InH]}{\sqrt{k_6 V_i}}, \quad (3)$$

где V_0 – скорость поглощения кислорода окисляющегося кумола в отсутствие экстрактов; V – предельная (после выхода из периодов индукции) скорость поглощения кислорода; k_{71} и k_6 – константы скорости обрыва цепи на продуктах окисления $InH(Q)$ и квадратичного обрыва цепи на пероксидных радикалах; V_i – скорость иницирования.

На рис. 4 представлена зависимость предельной скорости поглощения кислорода от содержания антиоксидантов для экстрактов из листьев (1;1') и корневищ (2; 2') ПМ. Как видно, для обоих экстрактов экспериментальные данные описываются уравнением (3). В результате обработки экспериментальных данных в координатах уравнения (3) для обоих исследованных экстрактов определены величины k_{71} . При расчете использовали известное по литературным данным значение константы скорости реакции квадратичного обрыва цепи для кумола: $k_6 = 4.74 \cdot 10^5 \exp(-1800 / RT)$ [11].

В этих расчетах предполагали, что концентрация продуктов окисления антиоксидантов ($[Q]$) равна исходной концентрации антиоксидантов ($[InH]_0$) в исследованных экстрактах. Результаты этих расчетов приведены в табл. 1.

Из этих результатов следует, что (рис. 3) для экстракта из корневищ ПМ $(k_{71})_k = (6.31 \pm 0.12) \cdot 10^{12} \exp[(-15900 \pm 100) / RT]$, а для экстракта из листьев ПМ

$$(k_{71})_л = (5.15 \pm 0.12) \cdot 10^{10} \exp[(-12500 \pm 70) / RT].$$

Таблица 2

Суммарное содержание антиоксидантов в 1 мг экстракта из листьев ПМ и их антиоксидантные активности, $V_i = 1.25 \cdot 10^{-7}$, $T = 348K$

Экстрагент	$[InH] \cdot 10^4$, моль/л	$k_7 \cdot 10^{-4}$, л/моль·с	$k_{71} \cdot 10^{-2}$, л/моль·с	$\vec{\mu}$ Дебай, [13]
бензол	0.330	5.65	7.29	0
этилацетат	0.425	4.95	6.32	1.8295
метанол	0.348	3.42	4.45	1.6770
ацетон	0.253	5.46	7.71	2.6295
диэтиловый эфир	0.330	6.53	5.20	1.1657
хлороформ	0.528	1.73	3.72	1.8160

Как отмечалось в экспериментальной части, с целью поиска экстрагента, способного экстрагировать максимальное количество антиоксидантов из листьев ПМ, были использованы растворители с различными полярностями. Результаты

приведены в табл. 2. Как видно из табл. 2, из листьев ПМ максимальное количество антиоксидантов экстрагируется хлороформом. По антиоксидантной активности отличается экстракт из диэтилового эфира, где $k_7 = 6.53 \cdot 10^4$ л/моль·с. Для k_{71} высоким значением обладает экстракт из ацетона, где $k_{71} = 7.71 \cdot 10^2$.

ՊՏԵՐ ԱՐԱԿԱՆԻ (DRYOPTERIS FILIXMAS) ԷՔՍՏՐԱԿՏՈՒՄ ՀԱԿԱՕՔՍԻԴԱՆՏՆԵՐԻ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ

Լ. Ռ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ, Ռ. Լ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ և Ս. Ա. ՀԱՅՐԱՊԵՏՅԱՆ

Մեր կողմից ուսումնասիրվել է Գորիսի շրջանում աճող պտեր արականի տերևներից և կոճղարմատից ստացված էքստրակտներում հակաօքսիդիչների պարունակությունը: Հաստատվել է, որ պտեր արականի կոճղարմատում հակաօքսիդիչ նյութերի քանակությունը 1.5 անգամ ավելին է, քան տերևներում: Կումոլի օքսիդացման մոդելային ռեակցիայի օրինակի վրա ուսումնասիրվել է նաև պտեր արականի հակաօքսիդիչ ակտիվությունը՝ շղթայի գծային հատման արագության հաստատունը, ինչպես նաև դրա ջերմաստիճանային արենիուսային պարամետրերը:

THE CONTENT OF ANTIOXIDANTS IN THE MALE FERN (DRYOPTERIS FILIXMAS) EXTRACT

L. R. VARDANYAN, R. L. VARDANYAN and S. A. HAYRAPETYAN

Goris State University
4, Avantgarde Str., Goris, 3205, Armenia
Fax: (374 284) 23603, E-mail: vrazmik@rambler.ru

Authors discovered the content of antioxidants in the extracts from the male fern leaves and rootstock, growing in the forests of the Goris region. It was found that the content of antioxidants in rootstock of male fern is about 1.5 times higher than that in leaves. On the example of model reaction of cumene acidification, the temperature dependence of antioxidant activity – the constant of the velocity of linear chain breaking on the inhibitor, contained in leaves and in the rootstock of male fern, was measured as well.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Кривошеева Е.М., Февалова Е.В., Сердцев М.И., Кохан С.Т., Ткаченко А.Э. // Сибирский медицинский ж., 2011, №2, с. 97.
- [2] Borchardt J.R. // J. of Medicinal Plants Resarch., 2009, v. 3, №10, p. 707.
- [3] Duan X., Jiang Y., Su X., Zhang Z., Shi J. // Food Chemistry, 2007, №101, p. 1365.
- [4] Jovanovic S., Steenken S., Tosic M., Marjanovic B., Simic M. // J. Am. Chem. Soc., 1994, v. 116, p. 4846.
- [5] Яшин А.М., Рыжев В.Ю., Яшин А.Я., Чернеусова Н.И. Природные антиоксиданты – надежная защита человека от опасных болезней и старения, М., Транслит, 2009, 350 с.

- [6] *Korall P., Conant D., Metzgar J., Schneider H., Pryer K.* // Am. J. of Botany, 2007, v. 94, p. 873.
- [7] *Орлов Б.Н., Галашвили Д.Б., Ибрагимов А.К.* Ядовитые животные и растения СССР. М., Высшая школа, 1990, 272 с.
- [8] *Эмануэль Н.М., Денисов Е.Т., Майзус З.К.* Цепные реакции окисления углеводов в жидкой фазе. М., Наука, 1965, с. 32.
- [9] *Варданян Л.Р.* Автореф. дисс. “Кинетика инициированного персульфатом калия окисления эмульгаторов в водных растворах и их стабилизация” канд.хим.наук, Ереван, ИФХ НАН РА, 2004.
- [10] *Денисов Е.Т., Азатян В.В.* Ингибирование цепных реакций, Черноголовка, 1997, с. 268.
- [11] *Denisov E.T.* Handbook of Antioxidants: Bond dissociation energies, Rate constants, activation energies, and enthalpies of reactions, CRC Press, Boca Raton, New York, Tokyo, 1995, 174 p.
- [12] *Варданян Р.Л., Варданян Л.Р., Атабекян Л.В.* // Хим. ж. Армении, 2011, т. 64, 13, с. 335.
- [13] *Осипов О.А., Минкин В.И., Гарновский А.Д.* Справочник по дипольным моментам, М., Высшая школа, 1975, 414 с.