

ЭКСТРАКТЫ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ КАК
АНТИОКСИДАНТЫ

Л. Р. ВАРДАНЯН

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

Поступило 25 V 2015

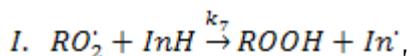
На примере модельной реакции инициированного окисления кумола кинетическим методом исследованы антиоксидантные свойства этилацетатных экстрактов листьев и плодов одиннадцати различных растений. Определены содержание антиоксидантных веществ в исследованных экстрактах и их антиоксидантная активность. Установлено, что из исследованных экстрактов наибольшее количество антиоксидантов содержится в экстрактах из листьев дуба черешчатого ($0.96 \cdot 10^{-4}$ моль/л в одном мг-е) и горечавки перекрестнолистной ($0.97 \cdot 10^{-4}$ моль/л). Наибольшую антиоксидантную активность проявляют экстракты из листьев горечавки перекрестнолистной ($1.725 \cdot 10^5$ моль/лс), мерингии бокоцветковой ($1.331 \cdot 10^5$ моль/лс) и головчатки альпийской ($1.223 \cdot 10^5$ моль/лс). Показано, что антиоксидантную активность проявляют также продукты окисления (QH) исходных антиоксидантов, находящихся в экстрактах. Обнаружена линейная корреляционная зависимость между значениями предэкспонентов ($\lg A$) и энергией активации (E) для констант скоростей реакции $RO_2 + InH \xrightarrow{k_7} ROOH + In\cdot$ и $RO_2 + QH \xrightarrow{k_{71}} Q\cdot + ROOH$. Установлено, что для констант k_7 $\lg A_7 = (4.9 \pm 0.25) + (0.64 \pm 0.032)E_7$, а для k_{71} $\lg A_{71} = (2.6 \pm 0.13) + (0.64 \pm 0.032)E_{71}$.

Рис. 5, табл. 1, библиографических ссылок 15.

В последние десятилетия в связи с ухудшением экологической обстановки среды все больше внимания уделяется профилактике многих заболеваний, развитие которых в той или иной степени связано с вредным действием свободных радикалов. В этом плане особое место занимают природные антиоксиданты (АО) растительного происхождения, которые отличаются малой токсичностью, легко добываемы и обладают полифункциональной активностью [1-3]. Следовательно, поиск и исследование экстрактов растений, обладающих наибольшей антиради-

кальной и антиоксидантной активностью (АОА), является актуальной задачей.

Ежегодно в научной литературе публикуются многочисленные работы, посвященные АОА экстрактов растений [4-7]. В этих работах АОА приводятся в единицах $мг \%$, $мг/мл$ либо $мг/г$, что характеризует не АОА, а содержание АО в исследованных экстрактах. Из классической литературы [8] известно, что АОА представляет собой константу скорости реакции линейного обрыва цепи в радикальных реакциях на ингибиторах (InH), в процессах же окисления – константу скорости реакции (k_7):



которая зависит от природы InH, старения RO_2^{\cdot} радикалов и, естественно, не зависит от количественного содержания InH.

Антиоксидантное действие как индивидуальных ингибиторов, так и экстрактов растений характеризуется тремя параметрами.

1. Содержанием – естественно, чем больше содержание АО в исследуемом экстракте, тем больше время торможения данного свободно-радикального процесса.

2. Емкостью – показывает число радикалов, захватываемых одной молекулой АО. Этот параметр для АО в экстрактах не определяется, поскольку экстракты, как правило, содержат по химическому составу два и более АО веществ, которые могут привести как к синергизму, так и к антагонизму.

3. Активностью – как было указано выше, активность антиоксиданта характеризуется константой скорости реакции I, если действие АО определяется участием в обрыве цепи свободнорадикальной реакции. Для экстрактов АОА, естественно, является эффективной величиной, поскольку в реакции I участвует не одно соединение ингибитора, а два и более.

В данной работе приведены результаты определения суммарного содержания АО в экстрактах из одиннадцати растений и их АОА.

Экспериментальная часть

В качестве модельной реакции было выбрано ингибированное окисление кумола. Опыты по окислению проводили на манометрической установке с автоматическим регулированием давления. Используемые реактивы – кумол, хлорбензол, АИБН и этилацетат, очищали по методике, описанной в [9]. Экстракты использованных растений получали следующим образом: после сбора сырья их высушивали в сушильном шкафу при $40^{\circ}C$, сухое сырье измельчали в керамической ступке до порошкообразного состояния ($<1 \text{ мм}$), на полученный порошок при ком-

натной температуре добавляли перегнанный этилацетат (на 1 г порошка 20 мл), давали отстояться сутки, далее отфильтровывали бумажным фильтром. Фильтрат испаряли до постоянного веса при комнатной температуре ($\sim 22 \pm 4^\circ\text{C}$).

Источником свободных радикалов являлся азо-диизобутиронитрил (АИБН), растворителем служил хлорбензол. Метод основан на непосредственной регистрации поглощенного кислорода в результате окисления кумола и позволяет по обнаруженным периодам индукций (τ) реакции определить суммарное содержание АО в исследованных экстрактах.

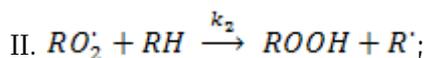
$$\tau = \frac{f \cdot [\text{InH}]_0}{V_i}, \quad (1)$$

где V_i – скорость инициирования; f – емкость АО – стехиометрический коэффициент ингибирования; $[\text{InH}]_0$ – суммарная концентрация АО в исследуемом экстракте. Поскольку параметры f нами не измерялись, за суммарное содержание АО принимали произведение $f \cdot [\text{InH}]_0$.

АОА исследованных экстрактов определяли, спрямляя экспериментальные данные в координатах уравнения 2 [10]:

$$\Delta[\text{O}_2] = -\frac{k_2}{k_7} [\text{RH}] \ln \left(1 - \frac{t}{\tau} \right), \quad (2)$$

где $\Delta[\text{O}_2]$ – количество поглощенного кислорода за время $t < \tau$; k_2 – константа скорости реакции продолжения цепи



$[\text{RH}]$ – концентрация окисляющегося углеводорода – кумола. Во всех опытах концентрация кумола составляла 2.87 моль/л.

Результаты и их обсуждение

Опыты показали, что при окислении кумола в присутствии всех использованных экстрактов кинетические кривые поглощения кислорода проходят с четко выраженными периодами индукций, что свидетельствует о наличии в экстрактах АО веществ. На рис. 1 представлены типичные кинетические кривые окисления кумола в отсутствие (пр. 1) и в присутствии экстрактов кожуры яблока малайского (кр. 2), листьев мерингии бокоцветковой (3) и листьев дуба черешчатого (4). Суммарное содержание АО ($f[\text{InH}]_0$) определяли, спрямляя экспериментальные данные (рис. 2) в координатах уравнения 1.

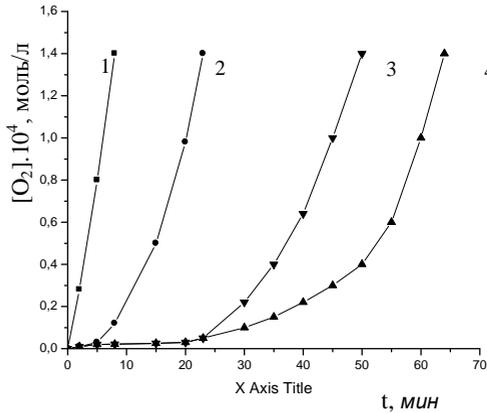


Рис. 1. Кинетические кривые поглощения кислорода при окислении кумола в отсутствие (1) и в присутствии 4 мг кожуры яблока малайского (2), листьев мерингии бокоцветковой (3), листьев дуба черешчатого (4). $V_i = 1.25 \cdot 10^{-7}$ моль/л · с, $T=348K$

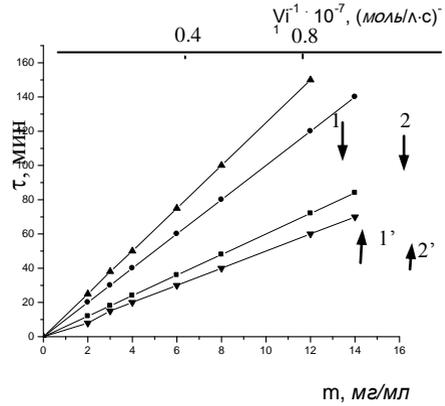


Рис. 2. Зависимость периодов индукции поглощения кислорода при окислении кумола: а) от содержания экстрактов ($V_i = 1.25 \cdot 10^{-7}$ моль/л · с) из листьев дуба черешчатого (1) и астры степной (2); б) от обратной величины скорости инициирования (1'; 2'; $m_{экстр}=3.9$ мг). $T=348K$.

Из результатов, приведенных в таблице, следует, что из исследованных экстрактов в наибольшем количестве АО веществ содержится в экстракте из горчавки перекрестнолистной ($0.97 \cdot 10^{-4}$ моль/л) и дуба черешчатого ($0.96 \cdot 10^{-4}$ моль/л).

С целью определения АОА экспериментально измеренные концентрации поглощенного кислорода за время $t < \tau$ спрямляли в координатах уравнения 2. Например, как видно из рис. 3, наблюдается четкая линейная корреляция между количеством поглощенного кислорода и параметром $\ln(1-t/\tau)$. Тангенсы углов полученных прямых соответствуют отношению k_2/k_7 , и, учитывая, что для кумола $k_2 = 4.677 \cdot 10^6 \exp(-9800/RT)$ л/моль · с [11], для исследованных экстрактов были определены численные значения k_7 , характеризующие их АОА. Результаты этих расчетов представлены в таблице, из которой видно, что при окислении кумола из исследованных экстрактов наибольшую АОА проявляют экстракты листьев горчавки перекрестнолистной ($1.725 \cdot 10^5$ моль/л · с), мерингии бокоцветковой ($1.331 \cdot 10^5$ моль/л · с) и головчатки альпийской ($1.223 \cdot 10^5$ моль/л · с). Полученные данные свидетельствуют о том, что указанные экстракты по АОА не уступают синтетическим классическим антиоксидантам. Так, например, константа скорости реакции k_7 с кумилпероксидными радикалами для α -нафтола при 333К равна $1.6 \cdot 10^5$, для гидрохинона — $1.2 \cdot 10^5$, для ионола — $2 \cdot 10^4$ л/моль · с и т.д. [12]

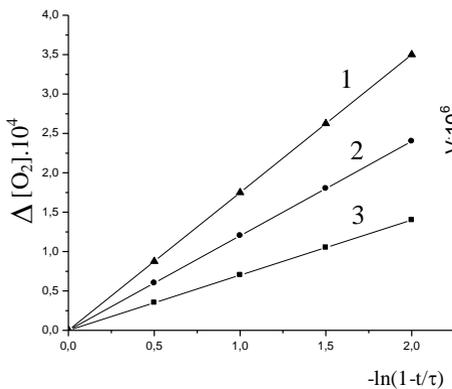


Рис. 3. Зависимость концентрации поглощенного кислорода от параметра $\ln(1-t/\tau)$ за время периода индукции при окислении кумола в присутствии экстрактов из листьев дуба черешчатого (1), горечавки перекрестнолистной (3) и травы астры степной (2). $V_i = 1,25 \cdot 10^{-7}$ моль/л · с, $T=348K$.

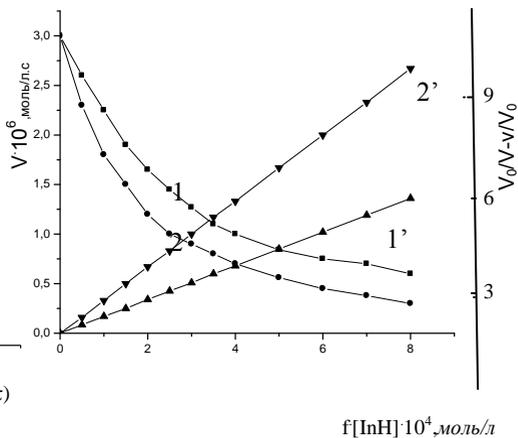
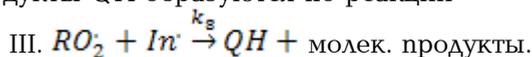


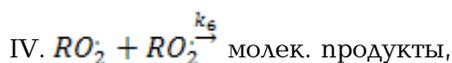
Рис. 4. Зависимость скорости окисления кумола после выхода из периода индукции от концентрации антиоксидантов, содержащихся в экстрактах из листьев мерингии бокоцветковой (1) и чистеца шершистого (2), и их спрямление (1',2') в координатах ур.3. $V_i = 1,25 \cdot 10^{-7}$ моль/л · с, $T=348K$.

Сопоставляя приведенные в таблице результаты по содержанию АО веществ ($f \cdot [InH_0]$) и по АОА (k_7) исследованных экстрактов, как и следовало ожидать, не обнаружилась связь между этими параметрами. Этот факт еще раз подтверждает мысль, что АОА не зависит от концентрации ингибитора, т.е. от содержания АО в реакционной смеси. АОА, скорее всего, зависит от строения АО и RO_2 радикалов, а также от среды реакционной смеси [13].

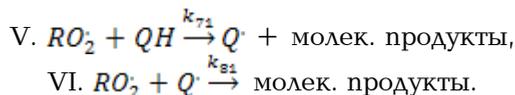
Опыты показали, что в присутствии исследованных экстрактов (за исключением экстрактов из листьев мароли) после выхода из индукционных периодов кинетические кривые поглощения кислорода по скоростям не стремятся к неингибированному окислению кумола (сравнить тангенсы углов прямых на рис.1). Аналогичные явления нами были обнаружены и в работах [13, 14]. Этот факт объясняется антиоксидантным свойством продуктов окисления (QH) исходных АО, находящихся в экстрактах. Продукты QH образуются по реакции



Причем продукты QH отличаются от исходных АО тем, что в их присутствии на кинетических кривых не обнаруживаются индукционные периоды, т.е. они, по сравнению с исходными АО, являются слабыми ингибиторами и в их присутствии обрыв цепи осуществляется как квадратично



так и линейно



В этих условиях скорость окисления кумола после выхода из индукционного периода описывается уравнением 3 [13].

$$V = k_2[RH] \frac{k_{71}[Q]}{k_6} \left[\left(1 + \frac{k_6 V_i}{k_{71}^2 [Q]^2} \right)^{1/2} - 1 \right] \quad (3)$$

Учитывая, что в отсутствие АО скорость окисления кумола (V_0) равна

$$V_0 = \frac{k_2}{\sqrt{k_6}} [RH] \sqrt{V_i}, \quad (4)$$

то, преобразуя уравнение (3), получим

$$F = \frac{V_0}{V} - \frac{V}{V_0} = \frac{k_{71}[Q]}{\sqrt{k_6} V_i}, \quad (5)$$

где k_6 и k_{71} – константы скорости реакции (IV) и (V); V_i – скорость иницирования. Здесь k_{71} характеризует АОА продуктов QH.

Как видно из рис. 4, экспериментальные данные спрямляются в координатах уравнения 5. Предполагая, что концентрация QH равна исходной концентрации АО в данном экстракте, т.е. $[QH] = f[InH]_0$, из тангенса углов прямых (1') и (2') вычислили значение k_{71} (в этих расчетах учитывалось, что для кумола $k_6 = 4,74 \cdot 10^5 \exp(-1800/RT)$ [11]). Результаты приведены в таблице.

Из данных таблицы следует, что из продуктов окисления исследованных экстрактов наибольшую АОА после периода индукции реакции проявляют экстракты из листьев чистеца шершистого ($k_{71} = 6.41 \cdot 10^2$ л/моль·с) и редьки полевой ($k_{71} = 5.44 \cdot 10^2$ л/моль·с).

В интервале 328–348 К определены температурные зависимости для параметров k_7 и k_{71} в аррениусовых координатах (табл.). Вычисленные значения энергии активации (E) и предэкспоненты (A) существенно превышают эти же значения для классических ингибиторов окисления в неполярных средах [12].

Аномально высокие значения E и A можно объяснить теорией электростатических моделей [15], согласно которой,

$$E = E_0 + (\varepsilon - 1)/(2\varepsilon + 1), \quad (6)$$

$$A = (RT/Nh) \exp(\Delta S^\ddagger / R), \quad (7)$$

$$\Delta S^\ddagger = \Delta S_0^\ddagger + \sigma(\varepsilon - 1)/(2\varepsilon + 1), \quad (8)$$

где E – экспериментально измеренные величины энергии активации; ΔS^\ddagger – энтропия активации; E_0 и ΔS_0^\ddagger – те же величины в случае протекания реакции в неполярной среде; λ и σ – параметры, характеризующие соответственно энергетическую и энтропийную составляющие

**Суммарное содержание антиоксидантов в этилацетатных экстрактах
некоторых растений и их антиоксидантная активность***

N	Растение	Сырье	Время сбора	$f \cdot [\text{InH}] \cdot 10^4$ моль/л	$k_7 \cdot 10^{-4}$ л/моль·с 348К	$\lg A_7$	E_7 кал/ моль	$k_{71} \cdot 10^{-2}$ л/моль·с 348К	$\lg A_{71}$	E_{71} кал/моль
1	чистец шершистый stachys byzantina	листья	10.07	0.33	8.61	8.52	5710	6.41	8.34	8760
2	айва обыкновенная cydonia oblonga	листья	25.07	0.83	14.78	12.63	11870	1.96	6.13	6100
3	дуб черешчатый quercus robur	листья	10.08	0.96	6.21	14.10	14890	1.71	18.86	26480
4	горечавка перекрестно- лиственная gentiana cruciata L	листья	10.07	0.97	17.25	10.69	8690	2.18	7.34	7960
5	редька полевая raphanus raphanistrum	листья	10.09	0.46	7.12	6.63	2830	5.44	8.08	8510
			10.03	0.88	4.78	10.12	8665	3.07	7.63	8190
6	астра степная Aster amellus	травы	21.07	0.76	8.47	11.27	10100	2.75	8.21	9190
7	головчатка альпийская cephalaria alpina	листья	01.08	0.67	12.23	11.48	10180	3.15	7.66	8220
8	мерингия бокоцветковая moehringia lateriflora	листья	10.07	0.49	13.31	7.14	3210	3.70	9.27	10670
9	крассула наскальная crassula rupestris	травы	10.07	0.30	11.52	8.49	5460	3.47	11.79	14730
10	яблоко малайское syzygium malaccense	кожура	—	0.24	5.00	10.81	9730	2.27	4.66	3670
11	латук посевной lactuca sativa	листья	15.04	0.78	5.00	11.41	10460	—	—	—

* – точность измерения экспериментальных данных $\pm 5\%$.

սիդիչներ պարունակվում են կադնու (1 մգ-ում $0.96 \cdot 10^{-4}$ մոլ/լ) և բոգու ($0.97 \cdot 10^{-4}$ մոլ/լ) տերևների էքստրակտները: Ամենամեծ հակաօքսիդիչ ակտիվություն են դրսևորում բոգու ($1.725 \cdot 10^5$ մոլ/լվրկ), միրինդիա կողքածաղկայինի ($1.331 \cdot 10^5$ մոլ/լվրկ) և զիվան մարգագետնայինի ($1.223 \cdot 10^5$ մոլ/լվրկ) տերևների էքստրակտները: Ցույց է տրված, որ հակաօքսիդիչ ակտիվություն են ցուցաբերում նաև էքստրակտներում առկա ելային հակաօքսիդիչների օքսիդացման արգասիքները (QH): Նկատվել է $RO_2 + InH \xrightarrow{k_7} ROOH + In'$ ու $RO_2 + QH \xrightarrow{k_{71}} Q' + ROOH$. ռեակցիաների համար ակտիվացման էներգիաների (E) ու նախաէքսպոնենտների (lgA) միջև գծային կորելյացիոն կախվածություն: Հաստատվել է, որ k_7 հաստատունի համար $lgA_7 = (4.9 \pm 0.25) + (0.64 \pm 0.032)E_7$, իսկ k_{71} -ի համար $lgA_{71} = (2.6 \pm 0.13) + (0.64 \pm 0.032)E_{71}$:

EXTRACTS OF SOME HERBS AS ANTIOXIDANTS

L. R. VARDANYAN

Goris State University

4, Avantgarde Str., Goris, 3205, Armenia

Fax: (374 284) 23603, E-mail: luisemari@rambler.ru

On the example of the model reaction of cumene initiated oxidation the antioxidant properties of the ethyl acetate extracts of leaves and fruits of eleven different plants are investigated by kinetic method.

Both the content of the antioxidant substances in the studied extracts, and their antioxidant activity are defined. It is established that of the studied extracts the highest amount of antioxidants are contained in extracts of oak leaves ($0.96 \cdot 10^{-4}$ mol/l in one mg-e) and gentian ($0.97 \cdot 10^{-4}$ mol/l). The highest antioxidant activity extracts from the leaves of show gentian ($1.725 \cdot 10^5$ mol /l s), blunt leaven sandwort ($1.331 \cdot 10^5$ mol /l s), and Cephalaria ($1.223 \cdot 10^5$). It is shown that oxidation products (QH) of original antioxidants in the extracts also possess antioxidant activities. The correlation between the pre-exponential factor (lgA) и energy activation (E) for the constant rate reaction

$RO_2 + InH \xrightarrow{k_7} ROOH + In'$ and $RO_2 + QH \xrightarrow{k_{71}} Q' + ROOH$ was found. It is established that for constant k_7 $lgA_7 = (4.9 \pm 0.25) + (0.64 \pm 0.032)E_7$, and for k_{71} $lgA_{71} = (2.6 \pm 0.13) + (0.64 \pm 0.032)E_{71}$.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Дадали В.А. Процессы перекисного окисления в организме и природные антиоксиданты. Введение в частную микронутрионтологию. Новосибирск, 1999, с. 305.
- [2] Anes B.N., Sbigenaga M.K., Hagen T.M. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1993, v. 90, p.7915.
- [3] Halliwell B. // Free Rad. Res., 1996, v. 25, p. 57.
- [4] Yokozawa T., Cho E., Hara Y. // J. Agric. Food Chem., 2000, v. 48, p. 5068.
- [5] Шарафутдинова Г.Е., Иванова А.Н., Матерн А.И., Брайнина Х.З. // Аналитика и контроль, 2011, т. 15, №3, с. 281.
- [6] Жусупова Г.Е., Шалахметова Т.М., Мурзахметова М.К., Гадецкая А.В., Жусупова А.И. // Вестник Новосибирского гос. пед. унив-та, 2013, т. 5, №15, с. 43.

- [7] Гусева Д.А., Прозоровская Н.Н. // Биомедицинская химия, 2010, т. 56, вып. 3, с. 342.
- [8] Денисов Е.Т., Азатян В.В. Ингибирование цепных реакций. Черноголовка, 1997, 266 с.
- [9] Гордон А., Форд Р. Спутник химика, М., Мир, 1976, 541 с.
- [10] Харитонова Л.А., Козлова З.Г., Цепалов В.Ф., Гладышев Г.П. // Кинетика и катализ, 1979, №3, с. 593.
- [11] Денисов Е.Т. Константы скорости гомолитических жидкофазных реакций. М., Наука, 1971, 711 с.
- [12] Denisov E.T. Handbook of Antioxidants. CRS press. 1995, New York, 174 p.
- [13] Варданян Р.Л., Варданян Л.Р., Атабемян Л.В. // Химия растительного сырья, 2013, №1, с.151.
- [14] Варданян Л.Р., Шутова А.Г., Айрапетян С.А., Варданян Р. Л., Агабеков В.Е., Решетников В.Е.// ДНАН Белорусии, 2013, т. 57, №5, с. 72.
- [15] Энтелис С.Г., Тигер Р.П. Кинетика реакций в жидкой фазе. М., Химия, 1973, 416с.