

ՔԻՄԻԱ

АНТИОКСИДАНТНОЕ ДЕЙСТВИЕ СМЕСИ ЭКСТРАКТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Варданян Л.Р., Гюрджян М.Г., Атабекян Л.В., Варданян Р.Л.

Горисский государственный университет

Армения, 3205, Горис, ул. Авангарда, 4

Факс: (374 284) 23603; E-mail: luisemari@rambler.ru

На примерах шести лекарственных растений исследовано антиоксидантное действие индивидуальных экстрактов и их смесей на кинетику окисления кумола. Показано, что все исследованные экстракты проявляют антиоксидантные свойства. Определены эффективные содержания антиоксидантов в каждом экстракте и их антиоксидантные активности.

Установлен эффект аддитивности, антагонизма и синергизма при совместном ингибирующем действии экстрактов. Максимальный эффект синергизма проявляла смесь экстрактов из плодов лавра и боярышника кроваво-красного (75%), а антагонизма-смесь экстрактов из листьев резака обыкновенного и листьев калины (50%).

Ключевые слова: антагонизм, синергизм, антиоксидант, экстракт.

Поступила в редакцию 20.06.2018г.

На практике в быту (кулинария, косметика) и народной медицине часто используют смеси экстрактов различных лекарственных растений. Известно, что экстракт каждого растения представляет собой многокомпонентную систему, в том числе, содержащую вещества обладающими антиоксидантными (АО) свойствами: флавоноиды, низкомолекулярные фенолы, витамины А, Е, С, дубильные вещества, каротиноиды, биометаллы и т.д. Из литературы известно, что смеси этих компонентов могут привести к эффекту синергизма или же антагонизма (торможение окислительного процесса) [1-4]. Эффект синергизма (или антагонизма) при совместном действии двух разных АО, в основном выявляют экспериментальным путем. Несмотря на существующие классификации синергизма [5,6], отсутствуют достоверные критерии, позволяющие на основании представленных о химическом строении составляющих АО, однозначно прогнозировать возможность аддитивности, синергизма или антагонизма в совместном действии экстрактов, разных лекарственных растений. В связи с этим, с целью поиска смеси экстрактов обладающими эффектом синергизма необходимо экспериментальное исследование их АО действия. Только на основании этих данных представляется возможным прогнозировать действие смесей экстрактов как АО, обеспечить высокую эффективность ингибирования и возможность, при их малых концентрациях, безвредного длительного использования в пищевых продуктах или же в лечебных целях. В данной работе нами исследованы АО действие смеси экстрактов из шести различных лекарственных растений, произрастающих в Горисском регионе Армении.

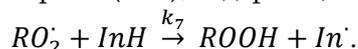
Выявлено, что все исследованные экстракты проявляют антиоксидантные свойства.

Экспериментальная часть.

АО действие как индивидуальных экстрактов, так и их смесей исследовали на примере модельной реакции инициированного окисления кумола. Экстракты использованных растений готовили по методике, описанной в [7]. В качестве экстрагента применяли этилацетат. АО действие экстрактов оценивали по периодам индукции (τ) поглощения кислорода при окислении кумола, которое описывается уравнением (1)

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

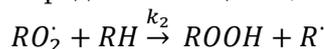
где, $f[InH]$ – эффективное содержание АО в данном экстракте, f – стехиометрический коэффициент ингибирования (число радикалов обрывающихся на одной молекуле ингибитора- InH), V_i – скорость инициирования. Кроме эффективного содержания АО, для исследованных экстрактов определяли также их АО активности (АОА), т.е. константу скорости реакции пероксильных радикалов с ингибиторами (InH), содержащимися в экстрактах



При этом концентрация поглощенного кислорода за время индукционного периода ($t < \tau$) ссылались в координатах уравнения (2) [8]

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

где, k_2 – константа скорости реакции продолжения цепей,



$[RH]=2,87$ моль/л концентрация окисляемого вещества (кумола). При расчетах АОА (k_7) учитывали, что для кумола $k_2 = 4,677 \cdot 10^6 \exp(-9800/RT)$ [9].

Для оценки совместного действия двух различных экстрактов, как АО, сопоставляли между собой сумму периодов индукции ($\sum \tau_i$) поглощения кислорода при окислении кумола в присутствии отдельных экстрактов и брутто эффективности их смесей (τ_Σ). В тех случаях, когда получали $\tau_\Sigma = \sum \tau_i$ имели дело с аддитивным действием экстрактов, как АО. В случае же когда $\tau_\Sigma > \sum \tau_i$ константировали эффект синергизма. Если же совместное действие двух экстрактов было меньшим, чем сумма эффектов ингибирования отдельных экстрактов, т.е. $\tau_\Sigma < \sum \tau_i$, константировали эффект антагонизма. Эффект синергизма (или же антагонизма) оценивали отношением:

$$\frac{\tau_\Sigma - \sum \tau_i}{\sum \tau_i} \cdot 100\% = \frac{\Delta \tau}{\sum \tau_i} \cdot 100\%$$

Опыты показали, что при инициированном окислении кумола в присутствии исследованных экстрактов кинетические кривые поглощения кислорода проходят с индукционными периодами (рис.1), что свидетельствует о наличии АО. Обнаруженные периоды индукции описываются уравнением (1) (рис.2), что позволило определить эффективное содержание АО ($f \cdot [InH]_0$) в исследованных экстрактах.

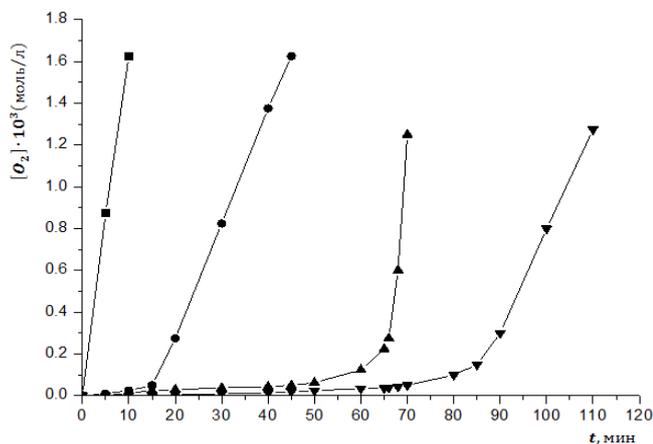


Рис.1. Кинетические кривые поглощения кислорода при окислении кумола в отсутствие (1) и в присутствии экстракта плодов лавра (2; 15.5 мг), листьев боярышника кроваво-красного (3; 4.5 мг) и листьев конопли посевной (4; 4.5 мг). $V_i = 1.25 \cdot 10^{-7}$ моль/л · с, $T = 348\text{K}$.

Учитывая, что АО свойства экстрактов зависят не только от количественного содержания в них АО веществ, но и от активности, т. е. константы скорости реакции k_7 , нами измерены также эти параметры в интервале температур 328-348K. Результаты расчетов приведены в таблице 1. Согласно данным, приведенным в таблице, по содержанию АО и по АОА выделяется экстракт из плодов боярышника кроваво-красного (при 348K $f \cdot [InH] = 3,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $k_7 = 5,5 \cdot 10^5$ л/моль · с).

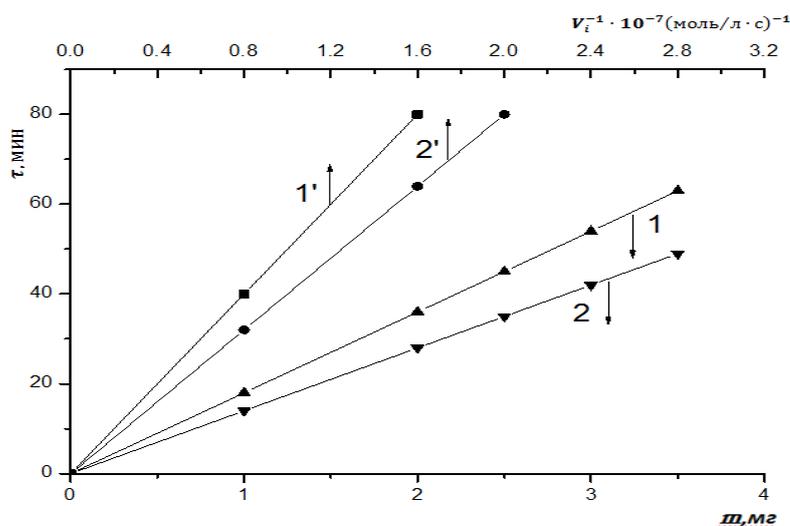


Рис.2. Зависимость периодов индукции поглощения кислорода при окислении кумола от содержания экстракта листьев конопли посевной (1), боярышника кроваво-красного (2) при $V_i = 1.25 \cdot 10^{-7}$ моль/л · с и от скорости инициирования (1'; 2'; 4.5мг экстракта) . $T = 348\text{K}$.

Таблица 1.

Содержание АО и АОА экстрактов исследованных растений.

Название растения	Орган растения	Время сбора	Содержание АО в 1мг экстракта $f \cdot [InH] \cdot 10^4$ моль/л	АОА		
				$k_7 \cdot 10^4$ л/моль · с	lgA	E, кал/моль
Конопля посевная (КП) Cannabis satvia	листья	17.07	1,37	4,70	19,33	23320
Боярышник кроваво-красный Crataegus sanguinea	листья (ЛБ)	1.08	1,09	3,86	13,66	14430
	плоды (ПБ)	15.10	3,50	55	-	-
Лавр благородный Laurus nobilis	плоды (ПЛ)	12.10	0,07	6,18	19,71	23740
Резак обыкновенный Falcaria vulgaris	листья (ЛР)	25.04	0,75	3,20	12,42	12600
Гранат обыкновенный (ГО) Punica grantum	листья	25.05	1,25	1,18	7,48	5424
Калина (ЛК) Viburnum	листья (ЛК)	19.07	0,30	2,94	-	-

Известно, что экстракты растительного сырья содержат смеси АО веществ, что может привести к явлениям синергизма или же антагонизма реакции ингибированного окисления. Для проверки этого исследовали АО свойства смеси экстрактов различных растений на кинетику окисления кумола. Сопоставили суммы периодов индукции как индивидуальных ($\sum \tau$), так и для смеси (τ_{Σ}) экстрактов (результаты приведены в табл.2).

Таблица 2.

Совместное действие этилацетатных экстрактов растений на периоды индукции окисления кумола. $V_i = 1.25 \cdot 10^{-7}$ моль/л · с,

Смесь экстрактов	Навеска экстракта m, мг	τ_i , мин	$\sum \tau_i$, мин	τ_{Σ} , мин	$\Delta \tau$, мин	$\frac{\Delta \tau}{\sum \tau_i} \cdot 100\%$
(КП)+(ЛБ)	2,2+2,2	40;32	72	50	-22	30,5
(КП)+(ПБ)	1,5+1,5	27;70	97	82	-15	15,5
(КП)+(ЛР)	2,2+2,2	40;36	76	63	-13	17,1
(ПЛ)+(ПБ)	1,0+1,0	1;46	47	73	+26	55,3
(ПЛ)+(ЛБ)	2,2+2,2	2;32	34	42	+6	17,6
(ГО)+(ПЛ)	2,3+2,3	38;2	40	42	+2	5,0
(ГО)+(ЛБ)	2,2+2,2	36;32	68	69	+1	1,5
(ГО)+(ЛР)	2,3+2,3	38;38	76	68	-8	10,5
(ЛК)+(ГО)	2,3+2,3	9;38	47	46	-1	2,1
(ЛК)+(ЛР)	2,0+2,0	8;33	41	21	-20	48,8
(ЛР)+(ЛБ)	2,2+2,2	9;32	41	33	-8	19,5
(ЛР)+(ПЛ)	4,45+4,45	18;4	22	28	+6	27,3

Из данных таблицы следует, что смеси экстрактов изученных растений проявляют разные эффекты ингибирования: аддитивность, антагонизм и синергизм, но больше всего антагонизма.

Из исследованных экстрактов синергизм обнаружен только на примере смеси экстрактов плодов лавра и плодов боярышника.

Учитывая, что в наибольшей степени антагонизм ингибирования (>50%) проявляла смесь экстрактов листьев калины (ЛК) и листьев резака (ЛР), а синергизм (>75%) экстракты плодов лавра (ПЛ) и плодов боярышника (ПБ), более подробно изучали АО свойства этих смесей. Результаты приведены в табл. 3 и 4 и на рис. 3 (а, б).

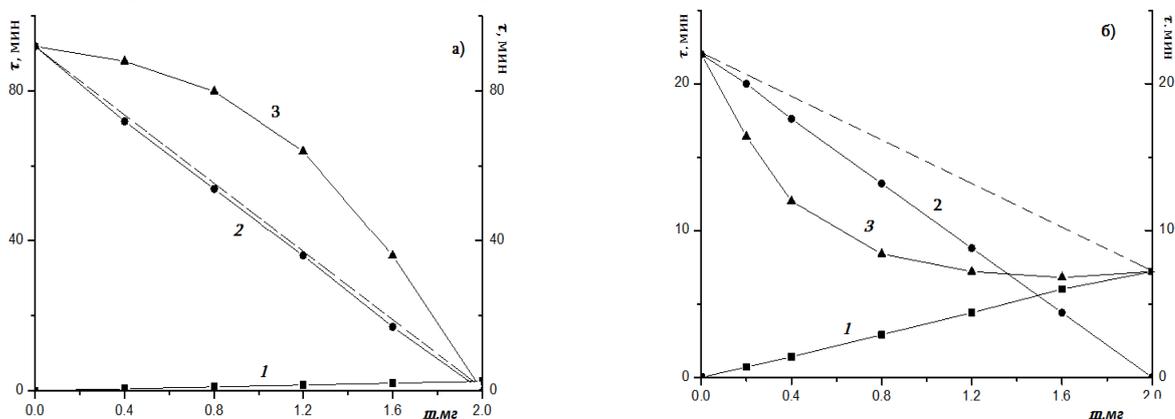


Рис.3. Зависимость периодов индукции поглощения кислорода от содержания экстрактов: а) плодов лавра (1), плодов боярышника (2) и их смеси (3); б) листьев калины (1), листьев резака (2) и их смеси(3).Пунктирная линия показывает в случае аддитивности действия экстрактов.

Таблица 3.

Зависимость величины синергического эффекта от содержания экстрактов ПЛ и ПБ при окислении кумола. $V_i = 1.25 \cdot 10^{-7}$ моль/л · с, $T = 348K$.

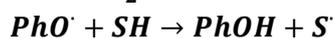
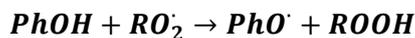
m, мг	ПЛ	0	0,40	0,80	1,20	1,60	1,80	1,90	2,00
	ПБ	2,00	1,60	1,20	0,80	0,40	0,20	0,10	0
$\Sigma\tau_i$		92	73	55	38	21	13	6	2
τ_Σ		-	87	80	63	37	18	10	-
$\Delta\tau$		0	14	25	25	16	5	4	0
$\frac{\Delta\tau}{\Sigma\tau_i} \cdot 100\%$		0	19	45	66	76	38	66	0

Таблица 4.

Зависимость периодов индукции поглощения кислорода при окислении кумола от содержания экстрактов ЛР и ЛК. $V_i = 1.25 \cdot 10^{-7}$ моль/л · с, $T = 348K$

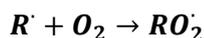
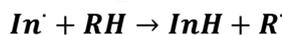
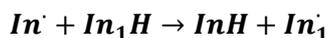
m, мг	ЛР	2,0	1,9	1,6	1,2	0,8	0,4	0
	ЛК	0	0,1	0,4	0,8	1,2	1,6	2
$\Sigma\tau_i$		22	21	19	16	13	10	8
τ_Σ		22	19	12	8,0	7,5	7,0	8
$\Delta\tau$		0	-2	-7	-8	-5,5	-3	0
$\frac{\Delta\tau}{\Sigma\tau_i} \cdot 100\%$		0	9,5	36,8	50	42	43	0

Факт синергизма объясняется тем, что плоды лавра и боярышника содержат фенольные соединения, оказывающие АО действие на кинетику окисления кумола. Плоды лавра содержат сравнительно большое количество (до 30%) α - и β -пинены, цитраль, цинеол, сесквитерпены, жирное масло, дубильные вещества[10, 11] которые и являются причиной регенерации PhOH в актах обрыва цепей, что приводит к проявлению синергизма.



Эффект антагонизма в смеси экстрактов, возможно, связан с несколькими причинами:

1. При окислении неэкранированных АО образуются достаточно активные радикалы ($In \cdot$), которые участвуют в обменной реакции с активными ингибиторами (In_1H), способствуя его дополнительному расходованию, или же с окисляемым веществом (RH):



2. В исследованных смесях – ОН группы могут образовывать водородную связь с ОН-группой АО, что исключает его участие в реакции с пероксильными радикалами [12], ведущими к продолжению цепи.
3. Радикалы из двух разных АО ($In_1 \cdot$ и $In_2 \cdot$) расходуются по реакции перекрестного обрыва, что приводит к уменьшению емкости ингибирования, т.е. к уменьшению т:



Аддитивное действие смесей можно объяснить тем, что экстракты из различных растений содержат по химическому составу и по АОО одни и те же АО.

Таким образом, при совместном действии экстрактов растений могут наблюдаться явления аддитивности, антагонизма и синергизма. Причем смеси экстрактов из листьев резака обыкновенного и листьев калины приводят к эффекту антагонизма, достигающего **50%**. Смеси же экстрактов плодов лавра и боярышника кроваво-красного приводят к синергизму ингибирования до **75%**. Поэтому при использовании смеси экстрактов растений для разных целей (в кулинарии, медицине, косметологии), необходимо экспериментальное исследование ее антиоксидантных свойств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Карнухина Г.В., Майзус З.К., Эмануэль Н.М. Взаимодействия двух ингибиторов в реакциях окисления. Докл. АН СССР, 1963, т.152, N1, с. 110-113
2. Hudson B. J., Maygoub S. E. Sinergism between phospholipids and naturally occurring antioxidants in leaf lipids. J. Sci. Food and Agr., 1981, vol. 32, N2, p.208-210.
3. Кочарян Г.Г., Минасян С.Г., Манукян З.О., Тавадян Л.А. Синергические и антагонические эффекты антирадикальных свойств емкостей биофлавоноидов с тролоксом в водной среде. Хим. журнал Армении, 2016, т. 69, с. 22-32.
4. Варданян Р.Л., Ванесян А.Г., Айвазян Т.М., Тигранян А.В. Синергизм тормозящего действия фенола и ароматического амина при инициированном окислении эфиров холестерина. Докл. АН СССР, 1979, т. 248 N5 с. 1144-1147
5. Карпухина Г.В., Эмануэль Н.М. Классификация синергических смесей антиоксидантов и механизма синергизма. Докл. АН СССР, 1984, т. 276, N5, с. 1163-1167.
6. Перевозкина М.Г. Тестирование антиоксидантной активности полифункциональных соединений кинетическими методами. Новосибирск, Сиб. АК, 2014, 240 с.
7. Варданян Л.Р. Антиокислительные свойства биоантиоксидантов лекарственных растений. Кинетика и механизм. Дисс. док. хим. наук., Ереван, 2017, 246 с.
8. Денисов Е.Т., Азатян В.В. Ингибирование цельных реакций. Черноголовка, 1997, 276 с.
9. Денисов Е.Т. Константы скорости гомолитических жидкофазных реакций. М., Наука, 1971, 711 с.

10. Рабинович А.М., Равинович С.А., Солдатова Е.И. Целебные растения России с давних времен. М., Арнебия, 2012, 654 с.
11. Коновалов Д.А., Насухова Н.М. Сесквитерпеновые лактоны листьев и плодов *LaurusNobilis*Li. (лавра благородного). Фармация и фармакология, 2014, N2 , с. 23-32.
12. Kocharyan G.H., Minasyan S.H., Tawadyan L.A. Interacyion of flavonoids: Mozin, quezeetin and rutin with DNA. Proc. Of the YSA, Chemical and biological Sci., 2016, N1, p. 49-51.

ԱՄՓՈՓՈՒՄ

ԲՈՒՍԱԿԱՆ ԷՔՍՏՐԱԿՏՆԵՐԻ ԽԱՌՆՈՒՐԴՆԵՐԻ ՀԱԿԱՕՔՍԻՂԻԶ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ Լ.Ռ., ԳՅՈՒՐԶՅԱՆ Մ.Գ., ԱԹԱԲԵԿՅԱՆ Լ.Վ., ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ Ռ.Լ.

Հիմնաբառեր. *անտրազոնիզմ, սիներգիզմ, հակաօքսիդիչ, էքստրակտ*

Հետազոտվել է վեց տարբեր դեղաբույսերի էքստրակտների ու նրանց խառնուրդների ազդեցությունը կումոլի օքսիդացման կինետիկայի վրա: Ցույց է տրված, որ բոլոր հետազոտված էքստրակտները ցուցաբերում են հակաօքսիդիչ հատկություններ: Որոշվել են ինչպես հակաօքսիդիչ նյութերի էֆեկտիվ պարունակությունը, այնպես էլ դրանց հակաօքսիդիչ ակտիվությունները: Էքստրակտների համատեղ ինհիբիթացման ժամանակ հաստատվել են ադիտիվության, անտազոնիզմի և սիներգիզմի երևույթներ: Միներգիզմի մաքսիմալ էֆեկտ ցուցաբերել է ալոճենու և դափնու պտուղներից ստացված էքստրակտների խառնուրդը (75%), իսկ անտազոնիզմի էֆեկտ՝ սիբեյս սովորականի և բոնչու տերևներից ստացված էքստրակտը (50%):

SUMMARY

THE ANTI-OXIDANT ACTION OF THE HERBAL EXTRACTION MIXTURES
VARDANYAN L.R., GYURJYAN M.G., ATABEKYAN L.V., VARDANYAN R.L.

Key words: *antagonism, synergism, antioxydant, extract.*

The anti-oxidant action of individual extractions of 6 medical herbs and their mixtures on the kinetics of cumene oxidation reaction was investigated. It was demonstrated that all the oxidized extractions demonstrate antioxidant properties. There were determined effective contains of anti-oxidants in each extraction and their overall anti-oxidant activity. There was determined the effect of additivity, antagonism and synergism inside combined inhibiting action of the extractions. The maximal effect of the synergism was demonstrated in the mixture of extractions from fruits of *Crataegus sanguinea* and *Laurus nobilis* (75%), and the effect of antagonism was evident in the mixture of extractions from the leaves of *Falcaria vulgaris* and *Viburnum* (50%).

Рекомендована к публикации к.х.н, доц. В. Овсепян, 10.09.2018 г.