

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ ЭТИЛАЦЕТАТНЫХ
ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Լ.Ր. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ, Լ.Վ. ԱՏԱԵԿՅԱՆ, Տ.Ա. ԱՅՐԱՊԵՏՅԱՆ, Ր.Լ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ

Горисский государственный университет, ул. Авангард 4, Горис, 3205, Армения

e-mail: vrazmik@rambler.ru

Исследованы антиоксидантные свойства этилацетатных экстрактов из 15 различных лекарственных растений, произрастающих в Горисском регионе Республики Армения. Определены суммарные содержания антиоксидантных веществ и их антиоксидантные активности – константа скорости реакции $InH + RO_2 \xrightarrow{k_7} ROOH + I\cdot$. Показано, что наибольшее количество антиоксидантов содержат экстракты цветков василька лугового ($1.3 \cdot 10^{-4}$ моль/л), листьев клевера белого ($1.3 \cdot 10^{-4}$ моль/л) и василька подбеленного ($1.17 \cdot 10^{-4}$ моль/л). Наибольшую антиоксидантную активность проявляет экстракт из листьев ирги круглолистной ($1.4 \cdot 10^5$ л/моль·с). Эти экстракты могут быть успешно использованы для лечения различных заболеваний.

Ключевые слова: лекарственные растения, экстракт, содержание антиоксидантов, антиоксидантная активность, период индукции, окисление кумола.

Поступило в редакцию 10.10.2016г.

В настоящее время большое внимание уделяется исследованию содержания и активности антиоксидантов в экстрактах и эфирных маслах лекарственных растений. 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 [1]. Антиоксиданты растительного происхождения относятся к классу биологически активных веществ, которые улавливают свободные радикалы, препятствуя ускоренному окислению липидов. Кроме того они являются легко добываемыми и нетоксичными продуктами, которые на организм человека не проявляют вредных воздействий. В связи с этим, поиск растений, экстракты которых содержат большое количество антиоксидантов, представляет несомненный интерес [2].

В научной литературе есть многочисленные публикации, посвященные измерению содержания и активности антиоксидантов в экстрактах растений [3-6]. Однако, результаты этих работ часто плохо сопоставимы между собой в основном, по той причине, что данные приводятся в разных единицах измерения. Кроме того, химические составы экстрактов из одного и того же растения, произрастающих в разных географических и климатических зонах, разные [7]. В связи с этим, исследование антиоксидантных свойств экстрактов растений, произрастающих в той местности, где данное растение используется как лечебное средство, является не только желательным, но и обязательным.

Цель настоящей работы - кинетическим методом, на примере модельной реакции окисления кумола, исследование антиоксидантных активностей этилацетатных экстрактов

некоторых лекарственных растений, произрастающих в Горисском регионе Республики Армения.

Экспериментальная часть

Антиоксидантные (АО) свойства полученных экстрактов и их смесей исследовали на примере модельной реакции инициированного окисления кумола. Опыты по окислению проводили на манометрической установке с автоматическим регулированием давления [8]. В качестве инициатора первичных радикалов служил азо-ди-изобутиронитрил [АИБН], растворителем – хлорбензол. Сбор сырья осуществляли в фазу цветения растений из окрестностей г. Гориса Республики Армения (1650 м., н.у.м.). Экстракты получали следующим образом: после сбора сырье высушивали в сушильном шкафу при 313К, сухое сырье измельчали в керамической ступке до порошкообразного состояния (≤ 1 мм), на полученный порошок, при комнатной температуре добавляли перегнанный этилацетат (на 1 г порошка – 20 мл) и через 24 часа отфильтровывали бумажным фильтром. Фильтрат испаряли до постоянного веса при комнатной температуре. Концентрация кумола во всех опытах составляла 2,87 моль/л. С целью определения температурной зависимости антиоксидантной активности экстрактов, т.е. константу скорости линейного обрыва цепи на ингибиторах, эксперименты проводились в интервале температур 328 - 348 К. Используемые реактивы – кумол, хлорбензол, АИБН и этилацетат очищали по методике, описанной в [9].

Результаты и их обсуждения

На кинетических кривых поглощения кислорода системой кумол – АИБН – хлорбензол в присутствии всех исследованных экстрактов появляются четко выраженные индукционные периоды (рис.1). Появление индукционного периода свидетельствует о наличии АО веществ в экстрактах. Полученные экспериментальные значения периодов индукций (рис.2 а, б) описываются уравнением (1)

$$\tau = f \cdot [InH]_0 / V_i, \quad (1),$$

где $[InH]_0$ – исходная концентрация АО веществ в исследованных экстрактах, V_i – скорость инициирования, f – стехиометрический коэффициент ингибирования (число радикалов, обрывающихся на одной молекуле ингибитора), по которому вычисляли содержание АО веществ в экстрактах. Поскольку в экстрактах, вследствие их сложного многокомпонентного состава, коэффициент f не вычисляли, то определяли лишь их эффективную концентрацию, т.е. произведение $f \cdot [InH]_0$ (таблица).

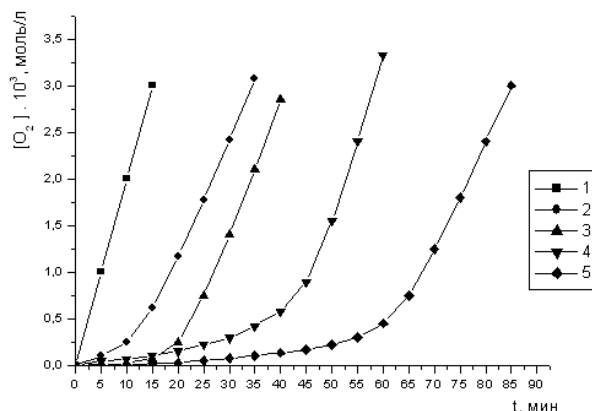


Рис. 1. Кинетические кривые поглощения кислорода при окислении кумола в отсутствие (1) и в присутствии экстракта листьев кипрея узколистного (2; 5.99 мг), ирги круглолистной (3; 3.9 мг), резака обыкновенного (4; 4.0 мг) и клевера белого (5; 3.5 мг). Скорость инициирования $V_i = 1.25 \cdot 10^{-7}$ моль/л/с, $T = 348$ К.

Как видно из данных таблицы, в наибольшем количестве антиоксидантных веществ содержатся в экстрактах из листьев клевера белого, василька подбеленного, таволги обыкновенной и из цветков василька лугового, где суммарное содержание антиоксидантов в 1 мг экстракта превышает $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Наименьшее количество антиоксидантов содержится в экстрактах из листьев спиреи Вангутты, скумпии кожевенной и плодов ирги круглолистной ($< 0.2 \cdot 10^{-4}$ моль/л), а экстракт из цветков калины, вообще не проявляет антиоксидантное действие.

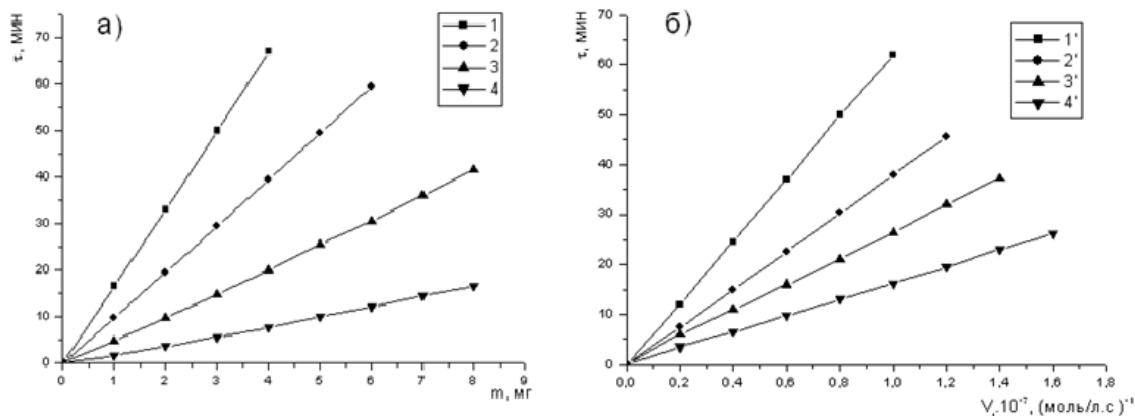
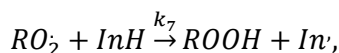


Рис. 2. Зависимость периодов индукции поглощения кислорода при окислении кумола
а) от содержания экстракта листьев клевера белого (1), резака обыкновенного (2), ирги круглолистной (3), кипрея узколистного (4) при $V_i = 1.25 \cdot 10^{-7}$ моль/л с и
б) от скорости инициирования (1' - 2.93 мг; 2' - 3.1 мг; 3' - 4.13 мг; 4' - 6.75 мг). $T = 348$ К.

Антиоксидантные свойства веществ в экстрактах растений зависят не только от их количественного содержания, но и от активности, которая характеризуется константой скорости реакции радикалов (в нашем случае кумилпероксирадикалов RO_2) с ингибитором (InH)



т.е. константой скорости линейного обрыва цепей (k_7).

Таблица

Содержание антиоксидантов и антиоксидантная активность экстрактов исследованных растений, $T=348$ К

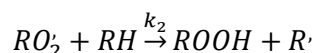
№	Название растения	Орган растения	Время сбора	Содержание АО в 1мг экстракта $f[InH] \cdot 10^4$, моль/л	АОА					
					$k_7 \cdot 10^{-4}$	IgA	E, кал/моль	$k_{71} \cdot 10^2$	IgA	E, кал/моль
1.	Хоботник восточный Rhynchosorys orientalis	листья	10.06	0.248	2.27	10.23	9350	3.68	5.98	5440
2.	Василек подбеленный Psephellus dealbatus	листья	10.06	1.165	1.45	8.73	7280	3.53	8.47	9420
3.	Клевер белый Trifolium repens	листья	10.06	1.297	5.88	8.25	5540	3.85	7.11	7210
4.	Герань кроваво-красная Geranium sanguineum	листья	10.06	0.645	7.95	11.71	10850	5.84	7.44	7440
5.	Таволга обыкновенная Filipendula vulgaris	трава	10.06	1.097	0.80	8.12	6710	0.96	5.37	5400

6.	Василёк луговой <i>Centaurea jacea</i>	цветы	10.06	1.296	3.00	9.85	8560	2.56	7.98	7290
7.	Спирея Вангутта <i>Spiraea vanhouttei</i>	листья	10.06	0.17	-	-	-	-	-	-
8.	Скумпия кожевенная <i>Cotinus coggygria</i>	листья	10.06	0.18	6.04	12.74	1267 5	6.51	8.45	8970
9.	Ирга круглолистная <i>Amelanchier ovalis</i>	листья	15.08	0.39	14.1	9.95	7640	2.55	7.53	8160
		цветы	15.08	0.20	3.68	10.36	9220	2.77	4.20	2800
10.	Щавель красный <i>Rumex sanguineus</i>	листья	15.08	1.050	5.32	9.89	8220	3.85	5.17	4250
		цветы	15.08	0.80	4.75	13.07	1336 0	0.94	7.05	8080
11.	Кипрей узколистный <i>Chamerion angustifolium</i>	трава	15.08	0.075	4.71	7.63	4710	10.6	6.55	5620
12.	Смолевка белая <i>Silene latifolia</i>	трава	10.06	0.39	8.72	10.11	8230	1.00	6.40	7000
13.	Резак обыкновенный <i>Falcaria vulgaris</i>	листья	28.04	0.75	3.14	12.42	1260 0	2.28	7.89	9430
14.	Подорожник узколистный <i>Plantago lanceolata</i>	листья	10.05	0.24	6.39	8.87	6480	2.79	7.32	7760
15.	Калина обыкновенная <i>Viburnum opulus</i>	листья	25.05	0.29	2.94	-	9200	2.12	5.58	5180
		цветы	25.05	-	-	-	-	-	-	-

Значение k_7 определяли по уравнению (2) [10]

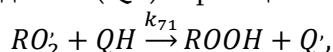
$$[O_2] = \frac{k_2}{k_7} [RH] \ln(1 - t/\tau), \quad (2)$$

где $[O_2]$ – количество поглощенного кислорода за время $t < \tau$; τ – период индукции, $[RH]$ – концентрация кумола, k_2 – константа скорости реакции продолжения цепей, $k_2 = 4.677 \cdot 10^6 \exp\left(\frac{9800}{RT}\right)$ [11]

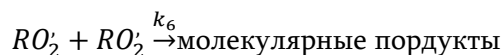


Спрямляя количество поглощенного кислорода за время периода индукции в координатах уравнения (2), по тангенсу углов наклона полученных прямых (рис.3) были определены абсолютные значения k_7 , характеризующие антиоксидантную активность ингибиторов, содержащихся в исследованных экстрактах. Для k_7 в интервале температур 328-348К, определены ее температурные зависимости в аррениусовых координатах. Из данных, приведенных в таблице, следует, что по антиоксидантной активности отличается экстракт из листьев ирги круглолистной ($k_7 = 1.41 \cdot 10^5$ л/моль·с).

Необходимо отметить, что скорость окисления кумола в присутствии экстрактов после индукционного периода значительно меньше скорости окисления чистого кумола (на рис.1 сравнить тангенсы углов поглощения кислорода после выхода из индукционного периода). Это свидетельствует о том, что продукты окислительного превращения исходных антиоксидантов в экстрактах также обладают ингибирующими свойствами, как и в случае флавоноидов исследованных в [12, 13]. При этом, как показано в работах [14, 15], в свободнорадикальном окислении кумола в присутствии продуктов окислительного превращения исходных антиоксидантов (QH) обрыв цепей осуществляется как линейно



так и квадратично



и длина цепей ингибированного окисления кумола $\vartheta = V_{O_2}/V_i$ остается больше трех.

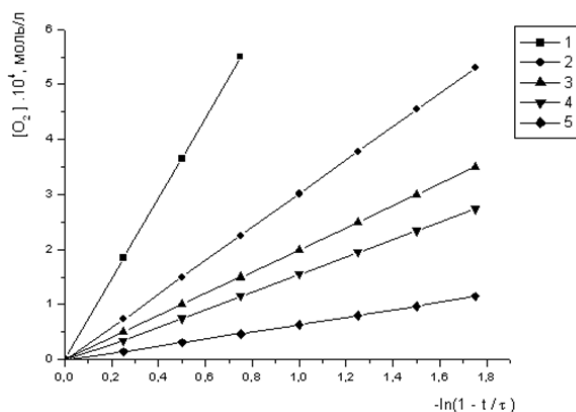


Рис. 3. Зависимость количества поглощенного кислорода при окислении кумола за время периода индукции в присутствии экстракта из цветков василька лугового (1), листьев резака обыкновенного (2), кипрея узколистного (3), клевера белого (4) и ирги круглолистной (5). $T=348\text{ K}$.

В этом случае между максимальными скоростями поглощения кислорода ингибированного (V) и неингибированного (V_0) окисления кумола наблюдается зависимость [16].

$$\Phi = \frac{V_0}{V} - \frac{V}{V_0} = \frac{k_{71}f[QH]}{\sqrt{k_6V_i}} \quad (3)$$

Для иллюстрации (рис.4) на примерах экстрактов из листьев герани кроваво-красной, хоботника восточного и резака обыкновенного, представлены зависимости скорости окисления кумола после выхода из индукционного периода (кривые 1;2;3) и их спрямление ($1\Box$; $2\Box$; $3\Box$) в координатах уравнения (3). Из линейной зависимости Φ от $f[QH]$ определяли отношение $k_{71}/\sqrt{k_6V_i}$ и принимая, что концентрация исходных антиоксидантов (InH) и продуктов их окисления (QH), одинаковы, а для кумола $k_6 = 4.74 \cdot 10^5 \exp(-1800/RT)$ [11] определяли величину k_{71} , характеризующую антиоксидантную активность продуктов окислительного превращения исходных антиоксидантов (таблица). Полученные результаты свидетельствуют, что из продуктов окисления больше всего антиоксидантную активность проявляет экстракт травы кипрея узколистного ($k_{71}=1,06 \cdot 10^3 \text{ л/моль} \cdot \text{с}$), а наименьшую – экстракт из цветков щавеля красного ($k_{71}=0.94 \cdot 10^2 \text{ л/моль} \cdot \text{с}$).

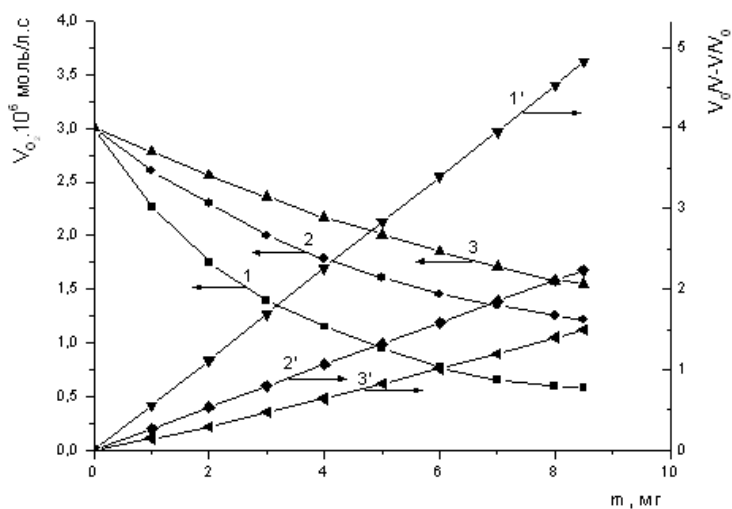


Рис.4. Зависимость скорости окисления кумола после выхода из периодов индукции от концентрации антиоксидантов содержащихся в экстрактах листьев герани кроваво-красной (1); хоботника восточного (2) и резака обыкновенного (3) и зависимость $V_0/V - V/V_0$ ($1'$; $2'$; $3'$) от начальной концентрации антиоксиданта содержащегося в этих экстрактах. $V_i = 1.25 \cdot 10^{-7} \text{ моль/л} \cdot \text{с}$, $T=348\text{ K}$.

Установлено, что все исследованные экстракты, за исключением цветков калины, обладают антиоксидантными свойствами. Показано, что наибольшее количество антиоксидантов содержится в экстрактах из листьев клевера белого и цветков василька лугового, а наибольшую антиоксидантную активность проявляет экстракт из листьев ирги круглолистной.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. Б. Бурлакова. Биологическая кинетика: сб. обзор. ст., М., 2005, т. 2, с. 10-45.
2. C. J. Diffard, J. B. German. *J. Sci. Food Agric.* 2000, v. 80, p. 1744-1756.
3. V. Katalinic, M. Milos, T. Kulisic, M. Jukic. *Food Chem.*, 2006, v. 94, № 4, p. 550-557.
4. В. М. Масин, Н. Н. Сажина, А. Ю. Завьялов, Я. И. Яшин. *Химия растительного сырья*, 2009, № 4, с. 127-132.
5. И. Ф. Абдуллин, Е. Н. Турова, Г. К. Будников. *Ж. аналитической химии*, 2001, т. 56, № 6, с. 627-629.
6. Е. И. Короткова, О. А. Аврамчик, М. С. Юсубов, М. В. Белоусов, Т. И. Андреева. *Химико-фармацевтический журнал*, 2003, т. 37, № 9, с. 55-56.
7. A. Tolonen. *Analysis of secondary metabolites in plant and cell culture tissue of Hypericum perforatum L. and Rhodiola rosea L.* Oulu, 2003, 65 p.
8. Н. М. Эмануэль, Е. Т. Денисов, З. К. Майзус. *Цепные реакции окисления углеводов в жидкой фазе*. М., Наука, 1965, 375 с.
9. Дисс. на соиск. уч. степ. канд. хим. наук Варданян Л. Р. "Кинетика иницированного персульфатом калия окисления эмульгаторов в водных растворах и их стабилизация", Ереван, ИФХ НАН РА, 2004, 124 с.
10. Е. Т. Денисов. *Механизмы гомолитического распада молекул в жидкой фазе*. Итоги науки и техники. Сер. Кинетика и катализ, 1981, М., ВИНТИ, т. 9, 158 с.
11. Е. Т. Денисов. *Константы скорости гомолитических жидкофазных реакций*. М., Наука, 1971, 712 с.
12. Якупова Л. Р., Хайруллина В. Р., Баймуратова Г. Р., Остроухова Л. А., Сафиуллин Р. Л., Герчиков А. Я., Бабкин В. А. *Башкирский химический журнал*, 2007, т. 14, № 1, с. 51-54.
13. Хайруллина В. Р., Якупова Л. Р., Герчиков А. Я., Сафиуллин Р. Л., Терегулова А. Н., Остроухова Л. А., Бабкин В. А. *Химия растительного сырья*, 2008, № 4, с. 59-64.
14. Р. Л. Варданян, Л. Р. Варданян, Л. В. Атабекян. *Химический журнал Армении*, 2011, т. 64, № 3, с. 335-343.
15. Р. Л. Варданян, Л. Р. Варданян, Л. В. Атабекян, Т. С. Григорян. *Химия растительного сырья*, 2013, № 1, с.151-156.
16. Денисов Е. Т., Азатян В. В. *Ингибирование цепных реакций*. Черноголовка, 1997, 268 с.

ԱՄՓՈՓՈՒՄ
ԴԵՂԱԲՈՒՅՍԵՐԻ ԷԹԻԼԱՑԵՏՍՍՍՅՈՒՆ ԷՔՍՏՐԱԿՏՆԵՐԻ ՀԱԿԱՕՔՍԻԴԻՉ
ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ
Լ. Ռ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ, Լ. Վ. ԱԹԱԲԵԿՅԱՆ, Ս. Ա. ՀԱՅՐԱՊԵՏՅԱՆ,
Ռ. Լ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ

Ուսումնասիրված են Հայաստանի Հանրապետության Գորիսի տարածաշրջանում աճող 15 տարբեր դեղաբույսերից ստացված էթիլացետատային էքստրակտների հակաօքսիդիչ հատկությունները: Որոշված են դրանցում հակաօքսիդիչ նյութերի գումարային քանակները, ինչպես նաև հակաօքսիդիչների ակտիվությունները, որոնք բնութագրվում են ազատ ռադիկալների՝ ինհիբիտորների վրա հատման ռեակցիայի՝ $InH + RO_2 \xrightarrow{k_7} ROOH + I\cdot$ արագության հաստատունով: Ցույց է տրված, որ հակաօքսիդիչների ամենամեծ քանակություն պարունակում են տերեփուկ մարգագետնայինի ծաղիկների ($1.3 \cdot 10^{-4}$ մոլ/լ), երեքնուկ սպիտակի ($1.3 \cdot 10^{-4}$ մոլ/լ) և տերեփուկ սպիտակավունի ($1.17 \cdot 10^{-4}$ մոլ/լ) տերևների էքստրակտները: Ամենաբարձր հակաօքսիդիչ ակտիվություն ցուցաբերում է քարազկեռ կլորատերևի տերևների ($1.4 \cdot 10^5$ լ/մոլ·վ) էքստրակտը: Նշված էքստրակտները հաջողությամբ կարող են կիրառվել տարբեր հիվանդությունների բուժման նպատակով:

SUMMARY
THE STUDY OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF ETHYLACETATE EXTRACTS OF
MEDICINAL PLANTS
L. R. VARDANYAN, L. V. ATABEKYAN, S. A. HAYRAPETYAN,
R. L. VARDANYAN

The antioxidant properties of ethylacetate extracts from 15 various medicinal plants growing in the Goris region of the Republic of Armenia were investigated. The total contents of antioxidant substances and their antioxidant activity (the constant of rate of $InH + RO_2 \xrightarrow{k_7} ROOH + I\cdot$ reaction) are determined. It is shown that the biggest amount of antioxidants contains in extracts from flowers of cornflower meadow (*Centaurea jacea*) ($1.3 \cdot 10^{-4}$ mol/l), from leaves of white clover (*Trifolium repens*) ($1.3 \cdot 10^{-4}$ mol/l) and white cornflower (*Centaurea dealbata*) ($1.17 \cdot 10^{-4}$ mol/l). It is established, that the greatest antioxidant activity show the extract from leaves of snowy mespilus (*Amelanchier ovalis*) ($1.4 \cdot 10^5$ l/mol·s). These extracts can be successfully used for the treatment of various diseases.