

УДК 541.127

## ВЛИЯНИЕ РАСТВОРИТЕЛЕЙ НА СТЕПЕНЬ ЭКСТРАКЦИИ АНТИОКСИДАНТОВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

© Л.Р. Варданян, Л.В. Атабекян, С.А. Айрапетян, Р.Л. Варданян\*

Горисский государственный университет, ул. Авангард, 4, Горис, 3204  
(Республика Армения), e-mail: vrazmik@rambler.ru

На примерах девяти лекарственных растений исследовано влияние экстрагентов на антиоксидантное действие индивидуальных экстрактов и их смесей на кинетику окисления кумола. Показано, что с повышением полярности экстрагентов (за исключением этанола) увеличивается эффективное содержание антиоксидантов (АО) в экстрактах. Для каждого использованного экстракта определены их АО активности (АОА) – константы скорости реакции  $RO_2 + InH \rightarrow ROOH + In$ .

При совместном действии экстрактов различных растений, а также экстрактов одного и того же растения, экстрагированного разными экстрагентами, обнаружены явления аддитивности, синергизма и антагонизма ингибирования. Максимальный эффект синергизма проявила смесь этанольного экстракта листьев земляники обыкновенной с ацетоновым экстрактом листьев резака обыкновенного (23%), а антагонизм – смесь этанольного и бензольного экстрактов резака обыкновенного (39%).

Полученные результаты могут быть использованы при применении экстрактов в различных областях как стабилизаторов окисления и как препаратов для лечебных целей.

*Ключевые слова:* экстракты растительного сырья, экстрагенты, окисление, антиоксидантная активность, ингибирование, синергизм, антагонизм.

### Введение

Известно, что в живых организмах существует равновесие между антиоксидантной системой и активными формами кислорода (АФК). Причем когда равновесие нарушается, АФК приводят к окислительному повреждению биомолекул, что является причиной старения и возникновения ряда заболеваний – болезни сердца, гипертония, рак и др. Антиоксиданты АО являются одним из средств, которые предотвращают эти негативные явления. Кроме лечебного назначения, добавление АО к пищевым продуктам приводит к увеличению сроков их годности за счет торможения процесса перекисного окисления липидов, находящихся в пищевых продуктах. В отличие от природных АО, в научной медицине и в кулинарии использование синтетических АО (фенолы, ароматические амины и др.) не рекомендуется, поскольку они могут оказывать канцерогенное – токсичное действие [1]. В связи с этим огромное значение приобрели поиск и разработка природных АО растительного происхождения [2, 3].

Наиболее удобным способом получения природных АО является экстракция растительного сырья. Экстрагирование растительного сырья, имеющего клеточную структуру, является сложным физико-химическим процессом, на которое оказывает влияние ряд факторов: температура экстракции, степень измельченности сырья, подбор экстрагента и т.д. В связи с этим в настоящее время однозначных данных о способах и условиях экстракции из растительного сырья веществ с АО свойствами недостаточно, и зачастую они противоречивы. Извлечение активных природных соединений из растительного сырья зависит

Варданян Луиза Размиковна – кандидат химических наук, доцент, e-mail: vrazmik@rambler.ru  
Атабекян Лилит Валериковна – кандидат химических наук, e-mail: Lilit\_alilit\_a@mail.ru  
Айрапетян Сюзанна Арсеновна – кандидат химических наук, ассистент, e-mail: vrazmik@rambler.ru  
Варданян Размик Левонович – доктор химических наук, профессор, e-mail: vrazmik@rambler.ru

от типа растворителя, используемого при экстракции растительного сырья [4]. Причем использование органических растворителей для экстракции обеспечивает более надежную антибактериальную и антирадикальную активность, чем в тех случаях, когда экстракция проводится водой [5].

\* Автор, с которым следует вести переписку.

В данной работе приведены результаты определения эффективного содержания АО в экстрактах и их антиоксидантные активности (АОА) различных лекарственных растений, полученные методом мацерации различными растворителями. Целью работы является оптимизация, т.е. достижение максимального извлечения АО веществ растительного происхождения, обладающих наибольшей АОА.

### Экспериментальная часть

АО свойства экстрактов исследовали на примере модельной реакции инициированного окисления кумола. В качестве инициатора радикалов служил азодиизобутиронитрил (АИБН). Концентрация кумола во всех опытах составляла 2,87 моль/л, растворитель реакционной смеси – хлорбензол. Сбор растительного сырья осуществляли в фазу цветения в окрестностях г. Гориса, Республика Армения. Все лекарственные растения высушивали в тени при комнатной температуре. Высушенное сырье измельчали в керамической ступке, просеивали через сито с диаметром отверстий 1 мм. Экстракцию проводили методом мацерации в плоскодонной колбе. На 1 г порошка добавляли 20 мл экстрагента, выдерживали при комнатной температуре с периодическим перемешиванием в течение суток. Полученный раствор отфильтровали через бумажный фильтр. Экстрагент испаряли при комнатной температуре. Экстракт окончательно высушивали до постоянной массы в вакуумном шкафу в анаэробных условиях при температуре 313 К. В качестве экстрагента использовали органические растворители разной полярности и температурой кипения <373 К (табл. 1).

АО действие полученных экстрактов характеризовали по периодам индукции ( $\tau$ ) поглощения кислорода при окислении кумола в присутствии соответствующих экстрактов. За кинетикой окисления кумола следили по поглощению кислорода волюмометрическим методом на манометрической установке [6]. Использованные реактивы – кумол, АИБН, хлорбензол очищали по методике описанной в [7], экстрагенты перегоняли без предварительной очистки. 100% этанол получали, перегоняя 96% этанол над окисью кальция.

### Обсуждение результатов

Опыты показали, что независимо от экстрагента все исследованные экстракты проявляют АО свойства. В их присутствии на кинетических кривых поглощения кислорода появляются периоды индукции (рис. 1), которые описываются уравнением (1) (рис. 2).

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

где  $f$  – стехиометрический коэффициент ингибирования – число радикалов обрывающихся на одной молекуле АО;  $[InH]_0$  – суммарное содержание АО в данной навеске экстракта;  $V_i$  – скорость инициирования первичных радикалов.

Поскольку экстракты растений представляют собой многокомпонентную систему, в том числе содержащую по химическому составу несколько АО веществ, нами не идентифицировано, какие именно соединения проявляют АО свойства. Следовательно, и не уточнено численное значение параметра  $f$ , и в связи с этим определяли не абсолютное, а эффективное содержание АО, т.е. производное  $f[InH]_0$ , что имеет важное прикладное значение. Результаты этих измерений приведены в таблице 1.

Экстракты лекарственных растений характеризуются не только эффективным содержанием АО, но и их АО активностью (АОА), т.е. константой скорости ( $k_7$ ) реакции линейного обрыва пероксильных радикалов на ингибиторе (InH) содержащихся в экстрактах:



При расчетах  $k_7$  пользовались уравнением (2) [8]:

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

где  $[O_2]$  – концентрация поглощенного кислорода за время  $t < \tau$ ;  $\tau$  – период индукции;  $[RH]$  – концентрация кумола (во всех опытах 2,87 моль/л);  $k_2$  – константа скорости реакции продолжения цепи:  $RO_2 + RH \rightarrow ROOH + R$ .

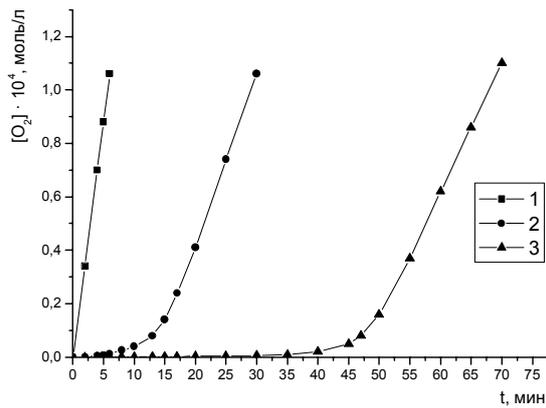


Рис. 1. Кинетические кривые поглощения кислорода при окислении кумола в отсутствие (1) и в присутствии 2,5 мг этанольного (2) и этилацетатного (3) экстракта листьев конопли посевной.  $V_i = 1,25 \cdot 10^{-7}$  моль/л·с;  $T=348$  К

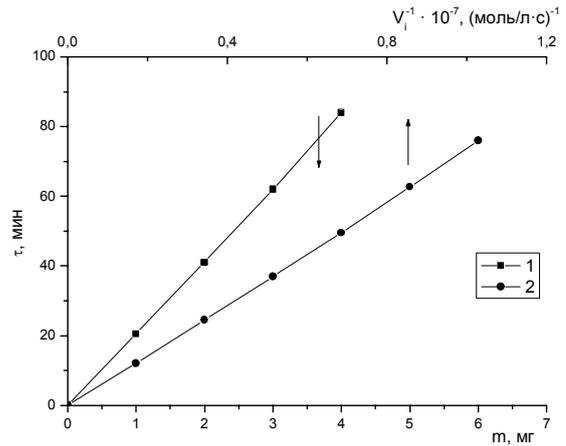


Рис. 2. Зависимость периодов индукции поглощения кислорода при окислении кумола 1) от содержания этилацетатного экстракта листьев конопли посевной,  $V_i = 1,25 \cdot 10^{-7}$  моль/л·с и 2) от скорости инициирования.  $m=2,5$  мг,  $T=348$  К

Спрямляя экспериментальные данные поглощения кислорода за время индукционного периода в координатах уравнения (2), для исследованных экстрактов вычислили значения параметра  $k_7$ . В этих расчетах учитывали, что  $k_2 = 4,677 \cdot 10^7 \cdot \exp(-6800/RT)$  [10].

Результаты по измерению эффективного содержания АО ( $f \cdot [\text{InH}]_0$ ) и их АОА ( $k_7$ ) приведены в таблице 1. Анализируя приведенные результаты, можно отметить, что с увеличением полярности экстрагентов увеличивается степень экстракции АО. Выяснилось, что из исследованного растительного сырья в наибольшем количестве АО экстрагируются ацетоном и этилацетатом. Сравнивая эффективное содержание АО и АОА, видим, что отсутствует однозначная зависимость между этими параметрами и полярностью экстрагентов. Это свидетельствует о том, что из одного и того же растительного сырья разные экстрагенты экстрагируют по химическому строению различные АО. Например, из плодов лавра благородного диэтиловый эфир экстрагирует всего  $3 \cdot 10^{-5}$  моль/л АО, с константой скорости реакции  $k_7 = 1,8 \cdot 10^5$  л/моль·с, а ацетон, соответственно, –  $5 \cdot 10^{-5}$  моль/л и  $4,32 \cdot 10^4$  л/моль·с.

Согласно литературным данным [11, 12], этанол из растительного сырья экстрагирует больше АО, чем этилацетат и ацетон, что противоречит нашим полученным данным (за исключением экстракта из листьев земляники). Этот факт можно объяснить эффектом антагонизма смесью АО, находящихся в этанольных экстрактах.

Для подтверждения этого были исследованы АО свойства смеси экстрактов как из отдельного растительного сырья, так и экстрактов одного и того же растительного сырья полученных различными экстрагентами. При этом составляли суммы периодов индукции как для индивидуальных ( $\Sigma \tau_i$ ), так и для смеси ( $\tau_\Sigma$ ) экстрактов. Результаты приведены в таблице 2. Из данных таблицы следует, что смесь этанольного экстракта листьев земляники обыкновенной (ЗО) с экстрактами листьев боярышника кроваво-красного (БКК), полученные различными экстрагентами, приводит к явлению антагонизма. Например, антагонизм этанольного экстракта ЗО с бензольным экстрактом БКК составляет 30%. В наибольшей степени антагонизм (примерно 39%) проявила смесь ацетонового и бензольного экстракта листьев резака обыкновенного (РО). Синергизм проявили этанольный экстракт ЗО с ацетоновым экстрактом листьев калины обыкновенной (КО) (23%), а также ацетоновые экстракты КО и конопли посевной (КП) (20%). Обнаружены также факты аддитивности ингибирования смесями ряда экстрактов. Это свидетельствует, что данные экстракты содержат по химическому составу одни и те же АО.

Таблица 1. Эффективное содержание АО ( $f[InH]_0$ ) и АОА ( $k_7$ ) экстрактов исследованных растений, полученных различными экстрагентами. T=348K

Растение	Орган растения	Время сбора	Экстрагент / полярность [9]											
			Бензол $\mu=0,2 D$		Диэтиловый эфир $\mu=1,11 D$		Хлороформ $\mu=1,21 D$		Этанол 100% $\mu=1,77 D$		Этилацетат $\mu=1,83 D$		Ацетон $\mu=2,63 D$	
			$f[InH] \cdot 10^4$ , моль/л	$k_7 \cdot 10^{-4}$ , л/моль·с	$f[InH] \cdot 10^4$ , моль/л	$k_7 \cdot 10^{-4}$ , л/моль·с	$f[InH] \cdot 10^4$ , моль/л	$k_7 \cdot 10^{-4}$ , л/моль·с	$f[InH] \cdot 10^4$ , моль/л	$k_7 \cdot 10^{-4}$ , л/моль·с	$f[InH] \cdot 10^4$ , моль/л	$k_7 \cdot 10^{-4}$ , л/моль·с	$f[InH] \cdot 10^4$ , моль/л	$k_7 \cdot 10^{-4}$ , л/моль·с
Дерева обыкновенная ( <i>Lyxium barbarum</i> )	листья	15,07	0,45	3,30	0,58	19,65	0,52	9,75	0,32	4,25	0,66	6,76	0,80	2,65
	ягоды	15,10	0,12	3,76	0,16	22,50	0,14	11,75	<0,01	–	0,18	7,74	0,35	3,07
Гранат ( <i>Punica</i> )	листья	25,05	0,85	0,60	1,00	3,43	1,00	1,70	0,88	3,86	1,25	1,18	1,25	1,50
Земляника обыкновенная ( <i>Fragaria vesca</i> )	листья	15,04	0,77	2,20	1,00	13,08	0,90	6,47	1,39	1,24	1,13	4,50	1,34	1,76
Конопля посевная ( <i>Cannabis sativa</i> )	листья	27,08	0,40	3,85	0,64	12,50	1,10	7,00	0,61	0,60	1,37	4,87	0,56	2,00
Боярышник кроваво-красный ( <i>Crataegus sanguinea</i> )	листья	27,08	0,75	1,20	0,90	7,15	0,90	3,55	0,88	3,86	1,09	2,45	1,25	1,25
Калина обыкновенная ( <i>Viburnum opulus</i> )	листья	25,05	0,20	1,43	0,25	8,54	0,23	4,23	0,10	3,25	0,29	2,94	0,29	7,27
Лавр благородный ( <i>Laurus nobilis</i> )	плоды	14,09	0,03	3,00	0,03	18,00	0,03	8,90	–	–	0,04	6,18	0,05	4,32
Резак обыкновенный ( <i>Falcaria vulgaris</i> )	листья	28,04	0,65	1,61	0,60	9,15	–	–	0,17	4,50	0,75	3,14	1,24	1,63
Тимьян ползучий ( <i>Thymus serpyllum</i> )	трава	22,04	0,82	1,74	1,05	10,41	0,95	5,15	0,40	1,96	1,20	3,58	1,42	1,40

Примечание: точность измерения  $f[InH] \pm 0,01 \cdot 10^{-4}$  моль/л;  $k_7 - \pm 0,05 \cdot 10^{-4}$  л/моль·с.

Таблица 2. Совместное антиоксидантное действие некоторых растительных экстрактов, полученных разными экстрагентами. T=343K,  $V_i=1,25 \cdot 10^{-7}$  моль/л·с

Экстрагент	Экстракт растительного сырья	Навеска экстракта, мг	$\tau_i$ , мин	$\Sigma \tau_i$ , мин	$\tau_{\Sigma}$ , мин	$\Delta \tau$ , мин	$(\Delta \tau / \Sigma \tau_i) \cdot 100$ %
Этанол <sup>а</sup> , этанол <sup>а</sup>	ЗО <sup>б</sup> +БКК <sup>б</sup>	1,0 <sup>в</sup> ; 1,0 <sup>в</sup>	19 <sup>г</sup> ; 12 <sup>г</sup>	31	25	-6	-19,35
Этанол; ацетон	ЗО+БКК	1,0; 1,0	19; 17	36	35	-1	-2,77
Этанол; этилацетат	ЗО+БКК	1,25; 1,25	23; 21	44	35	-9	-20,45
Этанол; бензол	ЗО+БКК	1,45; 1,45	27; 15,5	42,5	30	-12,5	-29,41
Этанол; ацетон	ЗО+РО	1,25; 1,25	23; 20	43	53	10	23,25
Ацетон; этилацетат	КО+КО	3,50; 3,50	14; 14	28	28	0,00	0,00
Ацетон; этилацетат	РО+РО	2,50; 2,50	41; 25	66	50	-16	-24,24
Ацетон; бензол	РО+РО	2,40; 3,60	39; 36	75	46	-29	-38,67
Этилацетат; ацетон	ЛБ+ЛБ	7,75; 7,75	4; 7	11	12	1	9,10
Ацетон; ацетон	КО+КП	3,50; 3,50	14; 26	40	48	8	20,00
Этилацетат; этилацетат	Г+ЛБ	2,20; 2,20	36; 32	68	69	1	1,50

Примечание: а – экстрагент при помощи которого экстрагировали растительное сырье; б – название сырья см. в таблице 1; в – содержание данного экстракта в реакционной смеси; г – периоды индукции поглощения кислорода окисления кумола в присутствии данного экстракта.

### **Выводы**

Таким образом, обобщая полученные экспериментальные данные, приходим к следующим выводам.

При экстракции одного и того же растительного сырья различными экстрагентами в наибольшем количестве АО экстрагируются ацетоном и этилацетатом.

Установлено, что при совместном использовании смеси экстрактов, полученные как отдельными экстрагентами, так и их смесью, обнаруживаются эффекты синергизма, антагонизма и аддитивности ингибирования. Причем неаддитивность ингибирования наблюдается также при совместном действии экстрактов из одного и того же растительного сырья, полученного различными экстрагентами.

### **Список литературы**

1. Medhavi D.L., Deshpande S.S., Salunkhe D.K. Toxicological aspects of food antioxidants. New-York, 1995. 267 p.
2. Гаммерман А.Ф., Кадаев Г.Н., Яценко-Хмелевский А.А. Лекарственные растения. Растения целители. М., 1990. 549 с.
3. Яковлев Г.П. Лекарственное сырье растительного и животного происхождения. Фармакогнозия. СПб., 2006. 844 с.
4. Parekh J., Jadeja D., Chanda S. Efficacy of aqueous and methanol extracts of some medicinal plants for potential antibacterial activity // Turkish J. of Biology. 2005. Vol. 29. Pp. 203–210.
5. Mejhenic L., Skerget M., Knez Z. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts // Food Chemistry. 2007. Vol. 104. Pp. 1258–1268.
6. Эмануэль Н.М., Денисов Е.Т., Майзус З.К. Цепные реакции окисления углеводов в жидкой фазе. М., 1965. 375 с.
7. Гордон А., Форд Р. Спутник химика. М., 1976. 541 с.
8. Денисов Е.Т., Азатян В.В. Ингибирование цепных реакций. Черноголовка, 1995. 267 с.
9. Осипов О.А., Минкин В.И., Гарновский А.Д. Справочник по дипольным моментам. М., 1971. 414 с.
10. Денисов Е.Т. Константы скорости гомолитических жидкофазных реакций. М., 1971. 712 с.
11. Базыкина Н.И., Николаевский А.Н., Филиппенко Т.А., Калоерова В.Г. Оптимизация условий экстрагирования природных антиоксидантов из растительного сырья // Химико-фармацевтический журнал. 2002. Т. 36, №2. С. 46–49.
12. Еремеева Н.Б., Макарова Н.Б. Влияние использованного растворителя на антиоксидантную активность экстрактов вишни // Техника и технология пищевых производств. 2015. Т. 39. №4. С. 26–29.

*Поступило в редакцию 19 апреля 2017 г.*

*После переработки 25 сентября 2017 г.*

Vardanyan L.R., Atabekyan L.V., Hayrapetyan S.A., Vardanyan R.L.\* THE INFLUENCE OF SOLVENTS ON EXTRACT OF ANTIOXIDANTS EXTRACTION FROM VEGETABLE RAW MATERIALS

Goris State University, ul. Avangard, 4, Goris, 3204, (Republic of Armenia), e-mail: vrazmik@rambler.ru

In this work the influence of extragent on the antioxidant (AO) effect of individual extracts and their mixtures on kinetics of cumene oxidation were investigated on the example of nine medicinal plants. It was shown that the effective concentration of AO in investigated extracts increases with increasing of polarity of extragent (except for ethanol). For each used extract have been defined their antioxidant activities (AOA), i.e.  $RO_2 + InH \rightarrow ROOH + In$  reaction speed constants.

At combined action of various plants extracts, and also same plant extracts extracted by different extragents the there were found effects of additivity, synergism and antagonism of inhibition. Maximum effect of synergism was shown by the mixture of strawberry leaves ethanol extract with falcaria leaves acetone extract (23%), and maximum effect of antagonism was shown the mixture of ethanol and benzene extracts of falcaria leaves (39%).

The received results can be used in various scopes of extracts (or in various areas of extracts use) as stabilizers of oxidation and as medicines for the medical purposes.

**Keywords:** extracts of vegetable raw materials, extragent, oxidation, antioxidant activity, inhibition, synergism, antagonism.

### References

1. Medhavi D.L., Deshpande S.S., Salunkhe D.K. *Toxicological aspects of food antioxidants*. New-York, 1995, 267 p.
2. Gammerman A.F., Kadaev G.N., Yatsenko-Khmelevskiy A.A. *Lekarstvennie rastenia. Rastenia tseliteli* [Medicinal plants. Plants healers]. Moscow, 1990, 549 p. (in Russ.).
3. Yakovlev G.P. *Lekarstvennoe syr'ie restitel'nogo i zhivotnogo proiskhozhdenia. Farmakognozia* [Medicinal raw materials of a vegetable and animal origin. Pharmacognosy] Sankt-Peterburg, 2006, 844 p. (in Russ.).
4. Parekh J., Jadeja D., Chanda S. *Turkish J. of Biology*, 2005, vol. 29, pp. 203–210.
5. Mejhenic L., Skerget M., Knez Z. *Food Chemistry*, 2007, vol. 104, pp. 1258–1268.
6. Emanuel' N.M., Denisov E.T., Mayzus Z.K. *Tsepnie reaktsii okisleniya uglevodorodov v zhidkoy faze*. [Chain reactions of hydrocarbons oxidation in a liquid phase]. Moscow, 1965, 375 p. (in Russ.).
7. Gordon A., Ford R. *Sputnik khimika*. [Traveller (or companion) of chemist]. Moscow, 1976, 541 p. (in Russ.).
8. Denisov E.T., Azatyan V.V. *Ingibirovanie tsepnikh reaktsiy*. [Inhibition of chain reactions]. Chernogolovka, 1995, 267 p. (in Russ.).
9. Osipov O.A., Minkin V.I., Gamovskiy A.D. *Spravochnik po dipol'nim momentam*. [Reference book of the dipolar moments]. Moscow, 1971, 414 p. (in Russ.).
10. Denisov E.T. *Konstanty gomoliticheskikh zhidkofaznikh reaktsiy*. [Speed constants of homolytic liquid-phase reactions]. Moscow, 1971, 712 p. (in Russ.).
11. Bazykina N.I., Nikolaevskiy A.N., Filippenko T.A., Kaloerova V.G. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*. 2002, vol. 36, no. 2, pp. 46–49. (in Russ.).
12. Ereemeeva N.B., Makarova N.B. *Tekhnika i tekhnologia pishhevikh proizvodstv*. 2015, vol. 39, no 4, pp. 26–29. (in Russ.).

Received April 19, 2017

Revised September 25, 2017

---

\* Corresponding author.