Химия растительного сырья. 2026. №3. С. 237–248.
Khimiya rastitel'nogo syr'ya, 2026, no. 3, pp. 237–248.
DOI: 10.14258/jcprm.20260316953

УДК 615.322 : 615.272

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОДУКЦИИ НА ОСНОВЕ ПИТЬЕВОГО ХЛОРОФИЛЛА*

© ***А.Н. Шаров[1], М.А. Носова[2], А.А. Андреев[2], М.Н. Качалкин[2], Д.А. Жданов[2], Е.В. Авдеева[2], В.А. Куркин[2], Т.К. Рязанова[2]*****

[1] ООО «Стоматологический магазин «РОМАШКА», Невский пр., 46, Санкт-Петербург, 191186, Россия
[2] Самарский государственный медицинский университет, ул. Чапаевская, 89, Самара, 443099, Россия, t.k.ryazanova@samsmu.ru

Природные красители – это естественные химические соединения, которые содержатся в различных продуктах питания или биологических объектах. Хлорофиллы являются одними из наиболее известных биологически активных соединений и, по данным научной литературы, оказывают положительное воздействие на здоровье благодаря своим противовоспалительным, противоопухолевым, ранозаживляющим и антимутагенным свойствам. Одним из наиболее возможных механизмов действия хлорофиллов и его производных являются антиоксидантные свойства.

Целью исследования является изучение антиоксидантных свойств производных хлорофилла и коммерческих продуктов на основе питьевого хлорофилла.

Для выделения природного хлорофилла была получена настойка листьев крапивы двудомной (*Urtica dioica* L.) в соотношении 1 : 5 (сырье : этиловый спирт 96%). Настойку упаривали и смешивали с силикагелем для колоночной хроматографии, высушивали до получения сыпучего порошка. Разделение проводили в режиме вакуумной хроматографии на силикагеле. Для извлечения медного комплекса хлорофилла из заводского экстракта крапивы была проведена адсорбционная жидкостная колоночная хроматография.

Исследуемые в условиях эксперимента хлорофиллы, выделенные из заводских экстрактов и настойки крапивы, занимали промежуточное положение по суммарной антиоксидантной активности между аскорбиновой кислотой и синтетическим антиоксидантном (тролоксом). Практически все исследуемые образцы (с учетом содержания хлорофилла) показали более высокую антиоксидантную активность по отношению к аскорбиновой кислоте.

Ключевые слова: крапива двудомная, *Urtica dioica* L., препаративная хроматография, хлорофиллы, медный комплекс хлорофилла, антиоксидантная активность.

Для цитирования: Шаров А.Н., Носова М.А., Андреев А.А., Качалкин М.Н., Жданов Д.А., Авдеева Е.В., Куркин В.А., Рязанова Т.К. Исследование антиоксидантной активности продукции на основе питьевого хлорофилла // Химия растительного сырья. 2026. №3. С. 237–248. https://doi.org/10.14258/jcprm.20260316953.

Введение

Природные красители – это естественные химические соединения, которые содержатся в различных продуктах питания или биологических объектах. Натуральные красители обычно выделяют из природных источников в виде смеси соединений, различных по своей химической природе, состав которой зависит от источника и технологии получения, в связи с чем затруднительно обеспечить его постоянство [1–4].

Хлорофиллы – это природные пигменты (магнийзамещенные производные порфирина), придающие зеленую окраску наземным растениям и водорослям. По своему химическому строению хлорофилл близок к пигменту крови человека – гемоглобину [2].

Наиболее распространенными хлорофиллами являются хлорофилл *a* ($C_{55}H_{72}MgO_5N_4$) с метильной (-CH_3) группой в 7 положении углерода, в то время как хлорофилл *b* ($C_{55}H_{70}MgN_4O_6$) имеет альдегидную (-CHO) группу в том же положении [5]. Хлорофиллид *b* (биосинтетический предшественник хлорофилла) может быть получен из хлорофиллида *a* (предшественника хлорофилла *a*) под действием фермента

*Данная статья имеет электронный дополнительный материал (приложение), который доступен читателям на сайте журнала. DOI: 10.14258/jcprm.20260316953s

** Автор, с которым следует вести переписку.

хлорофиллид *a* оксигеназы. Различные структурные характеристики хлорофиллов приводят к вариациям в их цвете, при этом хлорофилл *a* обладает сине-зеленой окраской, а хлорофилл *b* – желто-зеленой [1, 3, 4].

По данным литературы, экстракты зеленых частей растений, в частности, листьев, могут содержать 6.0–8.0% хлорофилла. Овощи более богаты хлорофиллом по сравнению с фруктами. Среди овощей наибольшее количество хлорофиллов накапливают шпинат, брокколи, рукола, лук-порей, латук и др. Содержание хлорофиллов в зеленых частях этих растений в зависимости от способа экстракции может превышать 500 мг на 1 кг воздушно-сухого сырья и достигать 20 г на 1 кг воздушно-сухого сырья [2]. Листья крапивы двудомной (*Urtica dioica* L.) являются перспективным источником хлорофилла и могут содержать около 5 г суммы хлорофиллов в 1 кг воздушно-сухого сырья [3, 6–8].

Хлорофиллы и их производные широко применяются в пищевой, фармацевтической и парафармацевтической промышленности. В связи с нестабильностью хлорофилла используют различные методы для ее повышения, в том числе образование комплексов с металлами (медный комплекс и его соли) [1, 2].

Пищевой краситель хлорофилл (Е140) состоит из сине-зеленого хлорофилла *a* и желто-зеленого хлорофилла *b*, находящихся в соотношении 3 : 1. Применение их в качестве красителя в пищевой промышленности сдерживается их нестойкостью, так как при повышенной температуре в кислых средах зеленый цвет переходит в оливковый, затем в грязно-желто-бурый вследствие образования феофитина. Для окраски продуктов питания в настоящее время используют хлорофиллы, выделенные из капусты, ботвы моркови, крапивы и др. Производные хлорофилла используются в медицине для фотодинамической терапии рака. В литературе описано применение хлорофилла для окраски мыла, масел, жиров, кремов, алкогольных и безалкогольных напитков, косметических средств, одеколона, духов, в качестве дезодоранта и в других целях. В Японии хлорофиллы используют для подкрашивания рыбных паст и некоторых других кулинарных изделий. В Европе хлорофилл применяется для подкрашивания масел, жиров, ароматических эссенций [1, 2].

Хлорофиллы являются одними из наиболее известных биологически активных соединений и по данным научной литературы оказывают положительное воздействие на здоровье благодаря своим противовоспалительным, противоопухолевым, ранозаживляющим и антимутагенным свойствам. Более того, установлено, что хлорофилл обладает стимулирующим и тонизирующим действием, активизирует основной обмен, тонус кишечника, сердечно-сосудистой системы, дыхательного центра, стимулирует грануляцию и эпителизацию тканей, влияет на формулу крови, увеличивая лейкоциты и гемоглобин, оказывает бактериостатическое действие [1, 2, 9]. Опубликованы данные о защитном действии хлорофиллов и его медных комплексов (хлорофиллина) в отношении специфических генотоксических агентов. Хлорофиллин достоверно снижал кластогенное действие ряда солей металлов у мышей *in vivo*. Степень ингибирования варьировала в зависимости от природы солей и пути введения. Было сделано предположение, что он либо удаляет свободные радикалы, связывается с активными группами мутагенов, либо действует как стабилизатор мембраны [10, 11].

Одним из наиболее возможных механизмов действия хлорофиллов и его производных являются антиоксидантные свойства [5]. Однако следует отметить, что понимание антиоксидантных свойств природных хлорофиллов является развивающейся областью, и необходимы дальнейшие исследования, чтобы полностью выяснить их потенциал и установить их значимость по сравнению с другими веществами [5, 10, 12, 13].

Цель исследования – изучение антиоксидантных свойств производных хлорофилла и коммерческих продуктов на основе питьевого хлорофилла.

Экспериментальная часть

Объекты исследования. В качестве объектов исследования использовали: Листья крапивы двудомной; Экстракт крапивы (хлорофилл), номер партии: 1910 от 19.10.2023 г. (производитель ООО «ЭВКЛаб», ТУ 10.89.15-019296672-2020); «Хлорофилл травяной питьевой» (22.05.2023 г.); Образцы тролокса и натриевая соль медного комплекса хлорофилла (хлорофиллина) (производства Alfa Chemical).

Методы пробоподготовки. Для получения концентрированного извлечения из сырья крапивы при обеспечении максимальной стабильности биологически активных соединений с целью дальнейшего фитохимического изучения готовили настойку на этаноле 96% методом модифицированной дробной мацерации в трех экстракторах (в соотношении «сырье : экстрагент» 1 : 5, при изготовлении учитывали поглощение экстрагента сырьем) с включением заключительной термической стадии – нагревание в течение 30 мин при температуре 70 °С [14]. Полученное извлечение отстаивали в течение 2 сут. при температуре 8 °С в

защищенном от света места и профильтровали через фильтр обеззоленный «Красная лента» во флакон темного стекла объемом 1 л, укупоривали полиэтиленовыми пробками с навинчивающейся крышкой. Органолептические свойства настойки травы крапивы двудомной: темно-зеленая непрозрачная в толстом слое жидкость с травяным запахом.

Настойку упаривали и смешивали с силикагелем для колоночной хроматографии, высушивали до получения сыпучего порошка. Для заполнения колонок использовали суспензионный метод. Разделение проводили в режиме вакуумной хроматографии на сорбенте силикагеле L 15/45 мкм с использованием в качестве элюентов гексана, смесей гексана и хлороформа с постепенным увеличением концентрации хлороформа [15].

С целью выделения медного комплекса хлорофилла из заводского экстракта крапивы была проведена адсорбционная жидкостная колоночная хроматография [6, 16]. Экстракт упаривали и смешивали с силикагелем для колоночной хроматографии, высушивали до получения сыпучего порошка. Для заполнения колонок использовали суспензионный метод. Хроматографическое разделение проводили на сорбенте силикагеле L 50/100 мкм с использованием в качестве элюентов спирто-хлороформных смесей в различных соотношениях.

Фракции собирали объемом по 100–200 мл; упаривали в роторно-вакуумном испарителе при температуре 50±2 °С до остаточного объема 5–6 мл. Ход хроматографического разделения контролировали методом тонкослойной хроматографии в нескольких системах с использованием различных способов детекции (визуально в видимой области; в УФ-свете при длине волны 254 и 366 нм).

Количественное определение. Количественное определение хлорофиллов в исследуемых образцах (фракции, продукция) проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Условия хроматографирования: колонка – 150 × 4.6 мм, октадецилсилильный силикагель, 5 мкм; подвижная фаза – А – ацетонитрил, В – 1% раствор уксусной кислоты в деионизированной воде, 0–5 мин – градиент А 50% → А 90% 5–25 мин – изократический режим А – 90%; скорость потока – 1.0 мл/мин; температура колонки – 30 °С; детектор – УФ, 410, 430, 458 нм; объем пробы – 10 мкл.

В качестве стандартного образца использовали хлорофиллин ($C_{34}H_{31}CuN_4Na_3O_6$) со степенью чистоты 98%. При расчетах использовали поправочные коэффициенты, учитывающие соотношение молекулярных масс хлорофиллов и хлорофиллина (натриевой соли медного комплекса хлорофилла).

Антиоксидантная активность

Оценка общей антиоксидантной активности методом FRAP. Оценку антиоксидантной активности (АОА) проводили в соответствии с методикой, описанной в работе [10].

Метод позволяет провести прямое определение суммарной АОА соединений по восстановлению ими железа. В методе FRAP вводят в избытке ионы Fe^{3+} и фотометрический реагент – трипиридилтриазин, 1,10-фенантролин, 2,2'-дипиридил и др. Под действием антиоксидантов образуется интенсивно окрашенный комплекс железа (II) с реагентом. При низких значениях pH восстановление трипиридилтриазинового комплекса Fe(III) в комплекс с Fe(II) сопровождается появлением интенсивной голубой окраски. Измерения основаны на способности антиоксиданта подавлять окислительный эффект реакционных частиц, генерируемых в реакционной смеси. Окраска развивается медленно, поэтому аналитический сигнал измеряют через τ минут после смешивания реагентов, не дожидаясь установления равновесия. АОА находят по градуировочному графику, предварительно построенному по растворам стандартного вещества (аскорбиновой кислоты).

Оценка антирадикальной антиоксидатной активности методом DPPH. Метод основан на реакции стабильного свободного радикала $DPPH^*$ (2,2-дифенил-1-пикрилгидразила) с антиоксидантом-донором водорода, при этом образуется восстановленная форма DPPH, что приводит к исчезновению фиолетовой окраски. Реакция контролируется по изменению оптической плотности при 515 нм методом спектрофотометрии [15, 17].

Оценка антирадикальной активности проводилась методом DPPH по методике, описанной в работе [18] в небольшой модификации.

Аликвоты этанольного раствора исследуемых образцов (аскорбиновая кислота, тролокс, заводской экстракт крапивы, хлорофилл питьевой, натриевая соль медного комплекса хлорофилла, фракции с колоночной хроматографии, содержащие хлорофилл), содержащих различные концентрации действующих веществ, добавляли к постоянному объему DPPH. Абсорбцию измеряли на спектрофотометре ПЭ-5400ВИ при длине волны 515 нм один раз в минуту в течение 20 мин.

В качестве показателя АОА использовали концентрацию, которая необходима для снижения на 50% исходной концентрации субстрата (EC_{50}).

Оценка способности ингибировать перекисное окисление липидов. Измерение способности антиоксидантов подавлять образование реакционных частиц, которые взаимодействуют с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) с образованием окрашенных комплексов.

Метод применяется для оценки ингибирования перекисного окисления липидов (ПОЛ). Окисление моделировали в липосомальной системе лецитина, приготовленной инжекционным способом. В качестве инициатора ПОЛ использовали ионы Fe^{2+}. Продукты ПОЛ связываются 2-тиобарбитуровой кислотой в окрашенный комплекс, придающий растворам оранжевый цвет. Следовательно, антиоксиданты, связывая перекисные радикалы, препятствуют окислению лецитина, тем самым уменьшая оптическую плотность в сравнении с холостой пробой. Количественную оценку осуществляли измерением оптической плотности при длине волны 535 нм по сравнению с контрольным опытом.

Липосомальную систему готовили инжекционным способом: 1 мл раствора лецитина 440 мг в 25 мл *н*-бутанола при перемешивании через тонкую иглу инсулинового шприца вводили в 20 мл дистиллированной воды.

5 мл полученной тонкой эмульсии отмеряли в термостойкую пробирку с навинчивающейся крышкой, прибавляли 0.15 мл 10% фосфорной кислоты, 0.5 мл 0.6% 2-ТБК, 50 мкл 2.8 мг/мл железа сернокислого 7-водного, 100 мкл раствора антиоксиданта. Полученную смесь перемешивали, затем инкубировали в кипящей водяной бане в течение 1 ч. Продукт реакции 2-ТБК с пероксидами экстрагировали 2 мл *н*-бутанола и центрифугировали 10 мин при 1800 об./мин. Слой *н*-бутанола отделяли, помещали в кювету и измеряли оптическую плотность на СФ-2000 при 535 нм [18].

Оценка антиоксидантной активности методом вольтамперометрии. Для водорастворимых соединений оценивалась АОА электрохимическим методом. Из литературных источников известен электрохимический способ определения антиоксидантной активности на примере растительных объектов, пищевых продуктов и других объектов аналитического контроля с применением Fe(III)-медиаторов. Описанные методы основаны на измерении смещения максимума анодного тока на единицу концентрации объекта сравнения. В качестве объектов сравнения в основном используют кислоту аскорбиновую, тролокс, кислоту галловую и др.

В настоящем исследовании в качестве медиатора использовали 0.005 М раствор калия гексацианоферрата (III) в 1 М растворе калия хлорида. Объем электролитической ячейки составил 30 мл. В качестве основного и вспомогательного электродов использовали платиновые электроды ЭРП-101, а электродов сравнения – насыщенный хлорсеребряный электрод ЭСр-10101/7. Измерение вольтамперометрических характеристик проводили в линейной развертке от 0 до 1 В со скоростью изменения потенциала 100 мВ/с.

Расчет антиоксидантной активности на единицу массы пробы проводили по формуле:

$$AOA = \frac{E_x - E_{хол}}{m},$$

где $E_{хол}$ – потенциал максимума анодного тока холостой пробы, мВ; E_x – потенциал максимума анодного тока пробы, мВ; m – масса пробы, взятой на анализ, г.

Расчет коэффициента относительной антиоксидантной активности проводили по формуле:

$$K = \frac{AOA_x}{AOA_0},$$

где AOA_0 – антиоксидантная активность стандартного образца (кислоты аскорбиновой); AOA_x – антиоксидантная активность пробы.

Обсуждение результатов

Фитохимические исследования

При анализе методом тонкослойной хроматографии, УФ-спектрофотометрии в излечении из крапивы двудомной, заводском экстракте крапивы обнаруживались хлорофиллы или медные комплексы. В извлечении обнаруживался и хлорофилл *a*, и хлорофилл *b*.

На УФ-спектре извлечения из крапивы обнаруживались максимумы поглощения при длинах волн 430 и 660 нм, соответствующие данным литературы о максимумах поглощения хлорофилла *a* (рис. 1).

В УФ-спектрах «Хлорофилл питьевой травяной» и заводского экстракта крапивы максимумы поглощения находились в области 410–417 нм и 620–623 нм, что в целом приближено к данным по максимуму поглощения натриевой соли медного комплекса хлорофилла (404 и 626 нм) – пищевого красителя Е141, но отличается от данных для медного комплекса феофитина *a* (молекула хлорофилла с недостающим ионом Mg^{2+}) – 410 и 665–670 нм, что свидетельствует об использовании других сырьевых источников, отличных от крапивы (рис. 1).

В результате хроматографического разделения настойки крапивы из фракций, полученных при элюировании гексаново-хлороформными смесями в соотношении 60/40 (об./об.), выделен хлорофилл *a*. Во фракциях, полученных при элюировании смесью гексана и хлороформа 50/50 (об./об.), содержался хлорофилл *b*. Хлорофилл *a* был преобладающим компонентом, соотношение по массе с хлорофиллом *b* примерно 3.2 : 1. Другие формы хлорофилла не обнаруживались. В УФ-спектре фракций с преобладанием хлорофилла *a* максимум поглощения приходился на 665 нм, хлорофилла *b* – на 650 нм, что совпадает с литературными данными [19].

При препаративном разделении коммерческого экстракта крапивы (хлорофилл) комплекс хлорофилла *a* был выделен из фракций, полученных при элюировании гексаново-хлороформными смесями в соотношении 60/40 (об./об.). В заводском экстракте крапивы максимумы поглощения находились при 408–412 нм и 645–649 нм, что соответствует литературным данным по медному комплексу феофитина *a*.

Согласно результатам ВЭЖХ-анализа, содержание хлорофиллов в «Хлорофилле питьевом травяном» составило 0.02% (в пересчете на сухой остаток – 20%), в заводском экстракте крапивы – 1.0% (в пересчете на абсолютно сухую субстанцию – 1.6%).

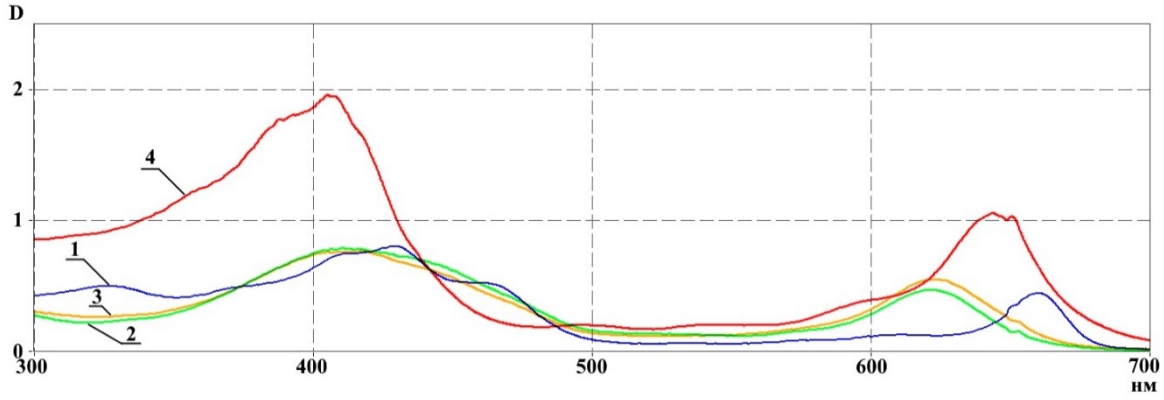


Рис. 1. Спектры поглощения в ультрафиолетовой и видимой области следующих образцов: 1 – извлечение из листьев крапивы двудомной; 2 – «Хлорофилл питьевой травяной»; 3 – заводской экстракт крапивы; 4 – фракция медного комплекса хлорофилла, полученная при делении заводского экстракта

Антиоксидантная активность

Оценка антирадикальной антиоксидантной активности методом FRAP. Для интерпретации данных по общей АОА важно ввести понятие силы FRAP. Сила FRAP – это число микромолей вещества, которое может восстановить эквивалентное число микромолей Fe^{III}-TPTZ. Для аскорбиновой кислоты сила FRAP равна удвоенной концентрации аскорбиновой кислоты, так как 1 мкмоль аскорбиновой кислоты восстанавливает 2 мкмоль комплекса.

Исследуемые в условиях эксперимента хлорофиллы, выделенные из заводских экстрактов и настойки крапивы, занимали промежуточное положение по суммарной антиоксидантной активности между аскорбиновой кислотой и синтетическим антиоксидантном (тролоксом). Практически все исследуемые образцы (с учетом содержания хлорофилла) показали более высокую АОА по отношению к аскорбиновой кислоте (табл. 1).

Низкие значения АОА, полученные для тролокса, могут быть обусловлены медленным протеканием окислительно-восстановительной реакции с Fe(III).

Оценка антирадикальной антиоксидатной активности методом DPPH. Результаты оценки антирадикальной активности представлены в таблице 2.

Как видно из представленных данных, исследуемые образцы практически не обладают антирадикальной активностью в условиях эксперимента. Значения, полученные для аскорбиновой кислоты и тролокса, не противоречат литературным данным [20].

Оценка способности ингибировать перекисное окисление липидов. Результаты оценки способности ингибировать перекисное окисление липидов (определяемой как разность значений оптической плотности до и после добавления антиоксиданта) представлены в таблице 3. В отношении ПОЛ исследуемые продукты также уступали тролоксу и аскорбиновой кислоте, за исключением хлорофиллина, который показал статистически незначимые отличия от аскорбиновой кислоты.

Электрохимическое определение антиоксидантной активности. Электрохимические анализы проводили только для водорастворимых компонентов.

Результаты исследования с пересчетом на антиоксидантную активность и коэффициент относительной антиоксидантной активности предоставлены в таблице 4.

Зарегистрированные вольтамперограммы представлены на рисунке 2. Отмечено изменение максимума анодного тока для медного комплекса хлорофилла *a* заводского экстракта крапивы с 425 до 345 мВ, что говорит о возможной индукции окислительного процесса биологически активных соединений пробы с комплексами Fe(III). В остальных случаях наблюдается смещение потенциала максимума анодного тока в область более высокого потенциала. Для заводского образца «Хлорофилл травяной питьевой» и натриевой соли медного комплекса хлорофиллина отмечена более высокая АОА по отношению к аскорбиновой кислоте.

Таблица 1. Значения антиоксидантной активности для образцов хлорофилла и коммерческих образцов, содержащих хлорофилл

Образец	Концентрация, мг/мл	Антиоксидантная активность, в нормированных значениях по стандартному образцу аскорбиновой кислоты *
Хлорофилл *a* (ЛРС)	1.04	2.2 (0.3)
Медный комплекс хлорофилла *a* (заводской экстракт)	1.00	1.1 (0.3)
Натриевая соль медного комплекса хлорофилла (Alfa Chemical)	0.25	6.1 (1.2)
Заводской экстракт крапивы	2.0	в пересчете на сухой остаток – 0.59 (0.09)) в пересчете на содержание хлорофилла – 3.7 (0.5)
«Хлорофилл питьевой травяной»	–**	Сумма антиоксидантов (ммоль-экв/г субстанции) – 0.28 (0.05) в пересчете на сухой остаток – 15.3 (2.3) в пересчете на содержание хлорофилла – 19.2 (2.5) Сумма антиоксидантов (ммоль-экв/г субстанции) – 7.8 (1.1)
Тролокс	0.25	0.26 (0.05)

Примечание: *Числовые данные представлены в формате «среднее значение (стандартное отклонение)».
** При проведении анализа использовали неразбавленный раствор хлорофилла питьевого (100 мкл).

Таблица 2. Значения антиоксидантной активности для образцов хлорофилла и коммерческих образцов, содержащих хлорофилл

Образец	Концентрация IC_{50}, г/кг DPPH *	Диапазон времени наступления равновесного состояния, мин	T_{EC50} (мин)
Медный комплекс хлорофилла *a* (заводской экстракт)	5601 (258)	10–35	27 (4.3)
Натриевая соль медного комплекса хлорофилла (Alfa Chemical)	3043 (157)	5–12	8.0 (3.5)
Заводской экстракт крапивы	21374 (515)** 344.7 (84)***	8–32	25 (3.9)
Хлорофилл питьевой	13123 (910)** 2583 (101)***	6–30	23 (3.4)
Тролокс	80 (2.0)	5–18	9.2 (1.6)
Аскорбиновая кислота	120 (4.0)	Менее 30 сек	Менее 30 сек

Примечание. * Числовые данные представлены в формате «среднее значение (стандартное отклонение)». ** В пересчете на сухой остаток. *** В пересчете на содержание хлорофилла.

Таблица 3. Значения антиоксидантной активности для образцов хлорофилла и коммерческих образцов, содержащих хлорофилл

Образец	Концентрация, мг/мл	Антиоксидатная активность, Δ е.о.п./г субстанции*
Медный комплекс хлорофилла *a* (заводской экстракт)	4.81	1.71 (0.23)
Натриевая соль медного комплекса хлорофилла (Alfa Chemical)	0.63	3.04 (0.75)
Заводской экстракт крапивы	4.33	0.47 (0.06)†
		1.69 (0.22) ‡
Хлорофилл питьевой**	–	0.97 (0.19) †
		4.86 (0.54) ‡
Тролокс	0.11	9.51 (0.87)
Аскорбиновая кислота	0.14	3.76 (0.46)

Примечание. *Числовые данные представлены в формате «среднее значение (стандартное отклонение)». ** При проведении анализа использовали неразбавленный раствор хлорофилла питьевого (100 мкл). † в пересчете на сухой остаток. ‡ В пересчете на содержание хлорофиллов.

Таблица 4. Результаты исследования относительной антиоксидантной активности образцов методом вольтамперометрии

Наименование пробы	Концентрация аналита, мг/мл	Объем пробы, взятой на анализ, мл	Потенциал максимума анодного тока холостой пробы, мВ	Потенциал максимума анодного тока пробы, мВ	Антиоксидантная активность	Коэффициент антиоксидантной активности по отношению к аскорбиновой кислоте
Аскорбиновая кислота	40.30		334	376	1042	1.00
Хлорофилл питьевой травяной	10.16		419	453	3366	3.23
Медный комплекс хлорофилла *a* (заводской экстракт)	–	1	425	345	–	–
Натриевая соль медного комплекса хлорофилла (хлорофиллин)	24.38		423	488	2666	2.56

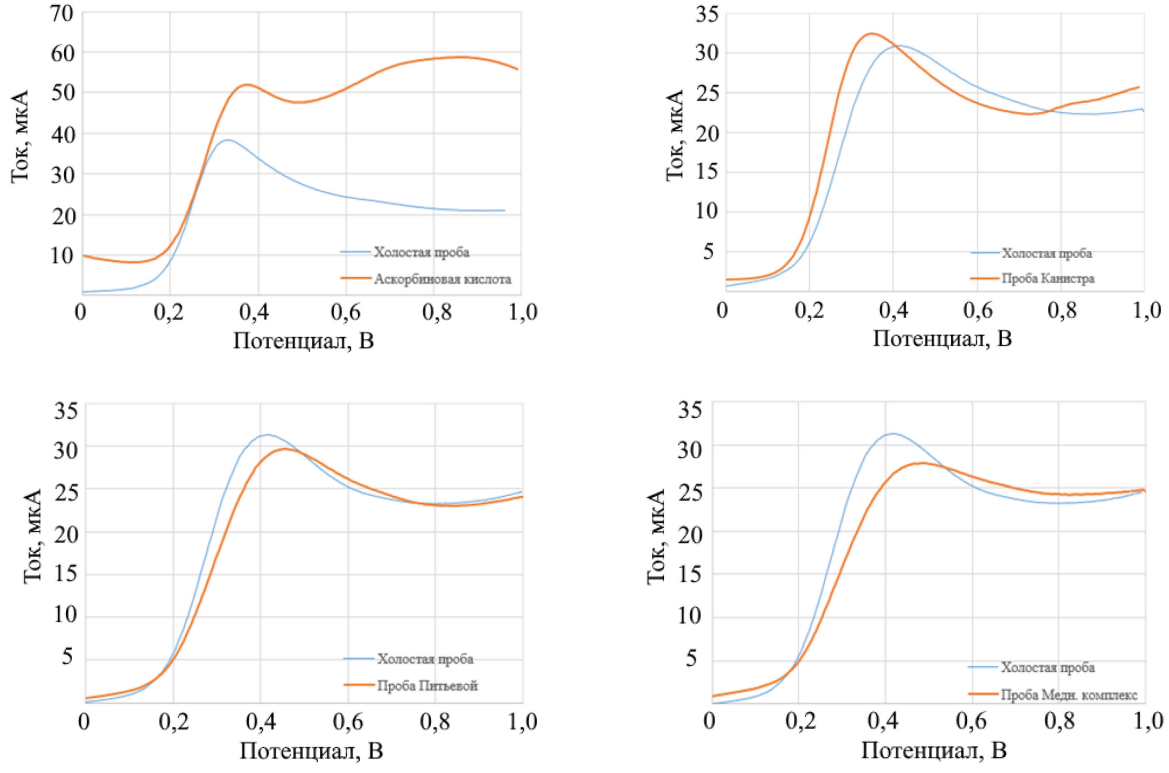


Рис. 2. Вольтамперограммы кислоты аскорбиновой, проб заводского экстракта крапивы, «Хлорофилла питьевого» и натриевой соли медного комплекса хлорофилла

Ранее для хлорофиллов уже были продемонстрированы антиоксидантные свойства за счет подавления перекисного окисления липидов в гомогенате печени крыс, а также в гомогенате мозга крыс с дефицитом витамина Е. Каничкова и соавт. и Ванкова и соавт. обнаружили, что клеточный окислительный стресс и окислительно-восстановительный статус клеток рака поджелудочной железы человека (PA-TU-8902) подвержены влиянию хлорофилла и хлорофиллина из-за увеличения восстановленного глутатиона, восстановленного H_2O_2 и/или восстановленного супероксида, что предполагает как прямую, так и, возможно, косвенную антиоксидантную активность. Имеются данные, что продукты, содержащие хлорофилл (из хвои), значительно уменьшают проявления воспалительно-дегенеративного поражения тканей пародонта у крыс, оцененные по состоянию перекисного окисления липидов и систем антиоксидантной защиты [5, 12, 13].

Сообщается, что выше пороговой концентрации антиоксидантная активность хлорофилла действует дозозависимым образом. Хлорофиллы снижают выработку АФК и, соответственно, способствуют снижению концентрации свободных радикалов внутри клетки, при этом хлорофилл *a* обладает большей способностью удалять свободные радикалы, чем хлорофилл *b*, а феофитины обладают более сильной антиоксидантной способностью, чем хлорофиллы [5, 10, 12, 13].

Исследования *in vitro*, проведенные Ferruzi и др., продемонстрировали, что производные хлорофилла *a* демонстрируют более высокую антиоксидантную способность по сравнению с производными хлорофилла *b* [21, 22]. В то же время Lanfer-Marquez и др. сообщили о противоположных результатах, показав, что феофорбид *b* и феофитин *b* являются наиболее мощными природными антиоксидантными производными по сравнению с производными хлорофилла *a* [23]. Ferruzi и др. также наблюдали, что комплексы хлорофиллов с металлами (такие как Mg-хлорофиллы, Zn-феофитины, Zn-пирофеофитины, Cu-феофитин a и Cu-хлорофиллины) демонстрируют более высокую антирадикальную активность, чем производные без металлов (такие как хлорины, феофитины и пирофеофитины) [22]. Это говорит о том, что в дополнение к фундаментальной структуре порфирина, способствующей восстановлению свободных радикалов, хелатирование металлов усиливает антиоксидантную активность. В работе Lanfer-Marquez и др. продемонстрировано, что медный комплекс хлорофилла проявляет более высокую антиоксидантную активность по сравнению с природными хлорофиллами, подчеркивая влияние хелатированного металла в порфириновом кольце на силу антиоксидантной способности [23]. В исследовании *in vitro*, проведенном Kang и др., комплексы феофитинов с цинком показали самую высокую способность к удалению, превзойдя антиоксидантную активность хлорофиллов и феофитинов [24]. Цинковые комплексы феофитинов также продемонстрировали ингибирующую активность против липополисахаридом индуцированной продукции оксида азота и подавили экспрессию индуцируемой синтазы оксида азота в стимулированных липополисахаридом макрофагальных клетках, не оказывая цитотоксического действия [24]. Предварительное введение мышам хлорофилла *b* приводило к снижению окислительного стресса и перекисного окисления липидов, вызванных цисплатином, хотя антиоксидантные эффекты были непоследовательными. Несмотря на потенциальную антиоксидантную активность природных хлорофиллов, исследования в этой области были относительно ограниченными в последние годы. Это может быть связано с восприятием того, что хлорофиллы менее важны по сравнению с другими фитохимическими веществами, обнаруженными во фруктах и овощах, а также с убеждением, что хлорофиллы плохо усваиваются желудочно-кишечным трактом человека [25].

В нашем исследовании для натриевой соли медного комплекса хлорофиллина (водорастворимого хлорофиллина) продемонстрирована более высокая общая антиоксидантная активность (FRAP) и способность ингибировать ПОЛ по сравнению с хлорофиллом *a*, выделенным из растительного сырья, и пигментами, полученными из коммерческих образцов (заводской экстракт крапивы, «Хлорофилл питьевой травяной»). При оценке общей антиоксидантной активности *in vitro* для «Хлорофилла питьевого травяного» выявлена наиболее высокая активность (в том числе в пересчете на сухой остаток и содержание хлорофиллов), превышающая аскорбиновую кислоту и тролокс.

Полученные результаты подтверждают известные данные по антиоксидантной активности хлорофиллов и перспективы их применения, так как известно, что нарушение окислительно-восстановительного баланса может приводить к развитию различного рода заболеваний всех систем организма, в том числе иммунной, центральной нервной, сердечно-сосудистой систем, желудочно-кишечного тракта. С окислительным стрессом связывают преждевременное старение организма и, как следствие, сокращение жизни человека.

Заключение

Таким образом, проведены фитохимические исследования субстанций и продуктов, содержащих хлорофилл (листья крапивы двудомной, «Хлорофилл травяной питьевой», заводской экстракт крапивы, натриевая соль медного комплекса хлорофилла (краситель Е141), фракции, содержащие хлорофилл). В сырье обнаруживались хлорофилл *a* и хлорофилл *b* в примерном соотношении 3 : 1.

В анализе антиоксидантной активности исследуемых образцов методом FRAP (общая активность) продемонстрировано, что все исследуемые образцы (с учетом содержания хлорофиллов) превосходят вещества сравнения (аскорбиновую кислоту и тролокс). Согласно результатам вольтамперометрического определения, «Хлорофилл травяной питьевой» превосходил аскорбиновую кислоту. По антирадикальной активности и способности ингибировать перекисное окисление липидов исследуемые субстанции уступали веществам сравнения.

Дополнительная информация
В электронном приложении к статье (DOI: https://www.doi.org/10.14258/jcprm.20260316953s) приведен дополнительный экспериментальный материал, раскрывающий основные положения, изложенные в статье.

Финансирование
Работа выполнена при финансовой поддержке ООО «Стоматологический магазин «РОМАШКА».

Конфликт интересов
Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Открытый доступ
Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы предоставите соответствующие ссылки на автора(ов), источник и Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

1. Аллахвердиев С.И., Креслаеский В.Д., Жармухамедов С.К. и др. Хлорофиллы d и f и их роль в первичных процессах фотосинтеза цианобактерий (обзор) // Биохимия. 2016. Т. 81, №3. С. 315–328.
2. Kazemi M., Abdossi V. Chemical composition of the essential oils of Anethum graveolens L. // Bangladesh J. Bot. 2015. Vol. 44, no. 1. Pp. 159–161. https://doi.org/10.3329/bjb.v44i1.22742.
3. Martins T., Barros A.N., Rosa E. et al. Enhancing Health Benefits through Chlorophylls and Chlorophyll-Rich Agro-Food: A Comprehensive Review // Molecules. 2023. Vol. 28, no. 14. 5344. https://doi.org/10.3390/molecules28145344.
4. Mujović M., Šojić B., Peulić T. et al. Effects of Dill (Anethum graveolens) Essential Oil and Lipid Extracts as Novel Antioxidants and Antimicrobial Agents on the Quality of Beef Burger // Foods. 2024. Vol. 13, no. 6. 896. https://doi.org/10.3390/foods13060896.
5. Charles D.J., Simon J.E., Widrlechner M.P. Characterization of Essential Oil of Dill (Anethum graveolens L.) // Journal of Essential Oil Research. 1995. Vol. 7, no. 1. Pp. 11–20. https://doi.org/10.1080/10412905.1995.9698456.
6. Дейл З., Мацек К., Янак Я. Жидкостная колоночная хроматография (пер. с англ.). М.: Мир, 1978. 544 с.
7. Плавинский С.Л., Плавинская С.И. Роль антиоксидантов в лечении и профилактике заболеваний человека // Медицина. 2013. №1. С. 41–54.
8. Paulauskienė A., Tarasevičienė Ž., Laukagalis V. Influence of Harvesting Time on the Chemical Composition of Wild Stinging Nettle (Urtica dioica L.) // Plants. 2021. Vol. 10, no. 4. 686. https://doi.org/10.3390/plants10040686.
9. Perez-Galvez A., Viera I., Roca M. Chemistry in the Bioactivity of Chlorophylls: An Overview // Curr. Med. Chem. 2017. Vol. 24, no. 40. Pp. 4515–4536. https://doi.org/10.2174/0929867324666170714102619.
10. Benzie I.F.F., Strain J.J. Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration // Methods in Enzymology. 1999. Pp. 15–27. https://doi.org/10.1016/s0076-6879(99)99005-5.
11. Pérez-Gálvez A., Viera I., Roca M. Carotenoids and Chlorophylls as Antioxidants // Antioxidants. 2020. Vol. 9, no. 6. 505. https://doi.org/10.3390/antiox9060505.
12. Ebrahimi P., Shokramraji Z., Tavakkoli S. et al. Chlorophylls as Natural Bioactive Compounds Existing in Food By-Products: A Critical Review // Plants. 2023. Vol. 12, no. 7. 1533. https://doi.org/10.3390/plants12071533.
13. Parcheta M., Świsłocka R., Orzechowska S. et al. Recent Developments in Effective Antioxidants: The Structure and Antioxidant Properties // Materials. 2021. Vol. 14, no. 8. 1984. https://doi.org/10.3390/ma14081984.
14. Патент №2134584 (РФ). Способ получения иммуномодулирующего препарата «Настойка эхинацеи пурпурной» / В.А. Куркин и др. – 20.08.1999.
15. Pedersen D.S., Rosenbohm C. Dry column vacuum chromatography // Synthesis. 2001. Vol. 16. Pp. 2431–2434. https://doi.org/10.1055/s-2001-18722.

16. Государственная Фармакопея Российской Федерации, 15 изд. М., 2024. URL: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/
17. Вяткин А.В., Пастушкова Е.В., Феофилактова О.В. Обзор методов определения общей антиоксидантной активности // Современная наука и инновации. 2018. №1. С. 58-66.
18. Тринеева О.В. Методы определения антиоксидантной активности объектов растительного и синтетического происхождения в фармации (обзор) // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. №4. С. 180–197.
19. Taniguchi M., Lindsey J.S. Absorption and Fluorescence Spectral Database of Chlorophylls and Analogues // Photochem Photobiol. 2021. Vol. 97, no. 1. Pp. 136–165. https://doi.org/10.1111/php.13319.
20. Sánchez-Moreno C., Larrauri J.A., Saura-Calixto F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols // Journal of the Science of Food and Agriculture. 1998. Vol. 76, no. 2. Pp. 270–276. https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0010(199802)76:2<270::aid-jsfa945>3.0.co;2-9.
21. Ferruzzi M.G., Failla M.L., Schwartz S.J. Sodium copper chlorophyllin: In vitro digestive stability and accumulation by Caco-2 human intestinal cells // J. Agric. Food Chem. 2002. Vol. 50, no. 7. Pp. 2173–2179. https://doi.org/10.1021/jf010869g.
22. Ferruzzi M.G., Bohm V., Courtney P.D. et al. Antioxidant and Antimutagenic Activity of Dietary Chlorophyll Derivatives Determined by Radical Scavenging and Bacterial Reverse Mutagenesis Assays // Journal of Food Science. 2002. Vol. 67, no. 7. Pp. 2589–2595. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08782.x.
23. Lanfer-Marquez U.M., Sinnecker P. Chlorophylls: Properties, Biosynthesis, Degradation and Functions // Food Colorants Chemical and Functional Properties. California: CRC Press, 2007. Pp. 195–211.
24. Kang Y.-R., Park J., Jung S.K. et al. Synthesis, characterization, and functional properties of chlorophylls, pheophytins, and Zn-pheophytins // Food Chem. 2018. Vol. 245. Pp. 943–950. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.079.
25. Serpeloni J.M., Grotto D., Aissa A.F. et al. An evaluation, using the comet assay and the micronucleus test, of the antigenotoxic effects of chlorophyll b in mice // Mutat. Res. 2011. Vol. 725. Pp. 50–56. https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.06.009.

Поступила в редакцию 7 марта 2025 г.

После переработки 19 апреля 2025 г.

Принята к публикации 21 мая 2026 г.

*Sharov A.N.[1], Nosova M.A.[2], Andreyev A.A.[2], Kachalkin M.N.[2], Zhdanov D.A.[2], Avdeyeva Ye.V.[2], Kurkin V.A.[2], Ryazanova T.K.[2]** STUDY OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PRODUCTS BASED ON CHLOROPHYLL

[1] ROMASHKA Dental Store LLC, Nevsky ave, 46, St. Petersburg, 191186, Russia

[2] Samara State Medical University, st. Chapaevskaya, 89, Samara, 443099, Russia, t.k.ryazanova@samsmu.ru

Natural dyes are natural chemical compounds that are found in various foods or biological objects. Chlorophylls are one of the most well-known biologically active compounds and, according to scientific literature, have a positive effect on health due to their anti-inflammatory, antitumor, regenerative and antimutagenic properties. One of the most possible mechanisms of action of chlorophylls and its derivatives is their antioxidant properties.

The aim of the study was to study the antioxidant properties of chlorophyll derivatives and commercial products based on drinking chlorophyll.

To isolate natural chlorophyll, a tincture of stinging nettle leaves (*Urtica dioica* L.) was obtained in a ratio of 1 : 5 (raw material: 96% ethyl alcohol). The tincture was evaporated and mixed with silica gel for column chromatography, dried to obtain a loose powder. The separation was performed using vacuum chromatography on silica gel. Adsorption liquid column chromatography was performed to extract the copper chlorophyll complex from the factory stinging nettle leaves extract.

The chlorophylls studied in the experiment, isolated from factory extracts and tincture of leaves of stinging nettle, occupied an intermediate position in terms of total antioxidant activity between ascorbic acid and synthetic antioxidant (trolox). Almost all of the studied samples (taking into account the chlorophyll content) showed higher antioxidant activity than ascorbic acid.

Keywords: stinging nettle, *Urtica dioica* L., preparative chromatography, chlorophylls, sodium copper chlorophyllin, antioxidant activity.

For citing: Sharov A.N., Nosova M.A., Andreyev A.A., Kachalkin M.N., Zhdanov D.A., Avdeyeva Ye.V., Kurkin V.A., Ryazanova T.K. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2026, no. 3, pp. 237–248. (in Russ.). https://doi.org/10.14258/jcprm.20260316953.

* Corresponding author.

References

1. Allakhverdiyev S.I., Kreslayeskiy V.D., Zharmukhamedov S.K. i dr. *Biokhimiya*, 2016, vol. 81, no. 3, pp. 315–328. (in Russ.).
2. Kazemi M., Abdossi V. *Bangladesh J. Bot*., 2015, vol. 44, no. 1, pp. 159–161. https://doi.org/10.3329/bjb.v44i1.22742.
3. Martins T., Barros A.N., Rosa E. et al. *Molecules*, 2023, vol. 28, no. 14, 5344. https://doi.org/10.3390/molecules28145344.
4. Mujović M., Šojić B., Peulić T. et al. *Foods*, 2024, vol. 13, no. 6, 896. https://doi.org/10.3390/foods13060896.
5. Charles D.J., Simon J.E., Widrlechner M.P. *Journal of Essential Oil Research*, 1995, vol. 7, no. 1, pp. 11–20. https://doi.org/10.1080/10412905.1995.9698456.
6. Deyl Z., Matsek K., Yanak Ya. *Zhidkostnaya kolonochnaya khromatografiya (per. s angl.)*. [Liquid Column Chromatography (trans. from English)]. Moscow, 1978, 544 p. (in Russ.).
7. Plavinskiy S.L., Plavinskaya S.I. *Meditsina*, 2013, no. 1, pp. 41–54. (in Russ.).
8. Paulauskienė A., Tarasevičienė Ž., Laukagalis V. *Plants*, 2021, vol. 10, no. 4, 686. https://doi.org/10.3390/plants10040686.
9. Perez-Galvez A., Viera I., Roca M. *Curr. Med. Chem*., 2017, vol. 24, no. 40, pp. 4515–4536. https://doi.org/10.2174/0929867324666170714102619.
10. Benzie I.F.F., Strain J.J. *Methods in Enzymology*, 1999, pp. 15–27. https://doi.org/10.1016/s0076-6879(99)99005-5.
11. Pérez-Gálvez A., Viera I., Roca M. *Antioxidants*, 2020, vol. 9, no. 6, 505. https://doi.org/10.3390/antiox9060505.
12. Ebrahimi P., Shokramraji Z., Tavakkoli S. et al. *Plants*, 2023, vol. 12, no. 7, 1533. https://doi.org/10.3390/plants12071533.
13. Parcheta M., Świsłocka R., Orzechowska S. et al. *Materials*, 2021, vol. 14, no. 8, 1984. https://doi.org/10.3390/ma14081984.
14. Patent 2134584 (RU). 20.08.1999. (in Russ.).
15. Pedersen D.S., Rosenbohm C. *Synthesis*, 2001, vol. 16, pp. 2431–2434. https://doi.org/10.1055/s-2001-18722.
16. *Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossiyskoy Federatsii, 15 izd*. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 15th ed.]. Moscow, 2024. URL: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/ (in Russ.).
17. Vyatkin A.V., Pastushkova Ye.V., Feofilaktova O.V. *Sovremennaya nauka i innovatsii*, 2018, no. 1, pp. 58–66. (in Russ.).
18. Trineyeva O.V. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*, 2017, no. 4, pp. 180–197. (in Russ.).
19. Taniguchi M., Lindsey J.S. *Photochem Photobiol*., 2021, vol. 97, no. 1, pp. 136–165. https://doi.org/10.1111/php.13319.
20. Sánchez-Moreno C., Larrauri J.A., Saura-Calixto F. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1998, vol. 76, no. 2, pp. 270–276. https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0010(199802)76:2<270::aid-jsfa945>3.0.co;2-9.
21. Ferruzzi M.G., Failla M.L., Schwartz S.J. *J. Agric. Food Chem*., 2002, vol. 50, no. 7, pp. 2173–2179. https://doi.org/10.1021/jf010869g.
22. Ferruzzi M.G., Bohm V., Courtney P.D. et al. *Journal of Food Science*, 2002, vol. 67, no. 7, pp. 2589–2595. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08782.x.
23. Lanfer-Marquez U.M., Sinnecker P. *Food Colorants Chemical and Functional Properties*. California: CRC Press, 2007, pp. 195–211.
24. Kang Y.-R., Park J., Jung S.K. et al. *Food Chem*., 2018, vol. 245, pp. 943–950. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.079.
25. Serpeloni J.M., Grotto D., Aissa A.F. et al. *Mutat. Res*., 2011, vol. 725, pp. 50–56. https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.06.009.

Received March 7, 2025

Revised April 19, 2025

Accepted May 21, 2026

Сведения об авторах

Шаров Алексей Николаевич – провизор, магистр экономики, частный научный исследователь, генеральный директор, клинический консультант по материалам, me@sharovalex.ru

Носова Мария Александровна – врач-стоматолог, хирург, пародонтолог, клинический консультант, mashanosova2013@gmail.com

Андреев Аркадий Алексеевич – аспирант, инженер-химик научно-образовательного центра «Фармация», лаборант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, a.a.andreev@samsmu.ru

Качалкин Максим Николаевич – кандидат фармацевтических наук, главный специалист научно-образовательного центра «Фармация», m.n.kachalkin@samsmu.ru

Жданов Дмитрий Александрович – кандидат фармацевтических наук, главный специалист научно-образовательного центра «Фармация», ассистент кафедры химии, d.a.zhdanov@samsmu.ru

Авдеева Елена Владимировна – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой фармакологии имени заслуженного деятеля науки РФ, профессора А.А. Лебедева, e.v.avdeeva@samsmu.ru

Куркин Владимир Александрович – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, v.a.kurkin@samsmu.ru

Рязанова Татьяна Константиновна – доктор фармацевтических наук, директор научно-образовательного центра «Фармация», доцент кафедры управления и экономики фармации, t.k.ryazanova@samsmu.ru

Information about authors

Sharov Alexey Nikolaevich – pharmacist, Master of Economics, independent researcher, General Director, clinical consultant on materials, me@sharovalex.ru

Nosova Maria Alexandrovna – dentist, surgeon, periodontist, clinical consultant, mashanosova2013@gmail.com

Andreev Arkady Alekseevich – Postgraduate student, chemical engineer at the "Pharmacy" Research and Educational Center, laboratory assistant at the Department of Pharmacognosy with Botany and Fundamentals of Phytotherapy, a.a.andreev@samsmu.ru

Kachalkin Maxim Nikolaevich – Candidate of Pharmaceutical Sciences, chief specialist at the "Pharmacy" Research and Educational Center, m.n.kachalkin@samsmu.ru

Zhdanov Dmitry Alexandrovich – Candidate of Pharmaceutical Sciences, chief specialist at the "Pharmacy" Research and Educational Center, assistant at the Department of Chemistry, d.a.zhdanov@samsmu.ru

Avdeeva Elena Vladimirovna – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacology (named after Honored Scientist of the Russian Federation Professor A.A. Lebedev), e.v.avdeeva@samsmu.ru

Kurkin Vladimir Alexandrovich – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacognosy with Botany and Fundamentals of Phytotherapy, v.a.kurkin@samsmu.ru

Ryazanova Tatiana Konstantinovna – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Director of the "Pharmacy" Research and Educational Center, Associate Professor at the Department of Pharmacy Management and Economics, t.k.ryazanova@samsmu.ru