

ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ РАСТЕНИЙ, ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

К. А. Пупыкина

Башкирский государственный медицинский университет

В работе представлены исследования по изучению качественного и количественного состава основных групп биологически активных веществ, содержащихся в тринадцати видах пряно-ароматических и эфирномасличных растений, интродуцированных в лесостепную зону Башкирского Предуралья и обуславливающих возможность их применения в профилактике различных заболеваний, и результаты определения их антиоксидантной активности.

В современную эпоху мощных антропогенных воздействий на природные экосистемы интродукция растений стала одним из действенных путей рационального использования, воспроизводства и охраны природных растительных ресурсов, в том числе лекарственных, ценных для практического использования. В последние годы возрос интерес к проблеме интродукции пряно-ароматических и эфирномасличных растений, используемых в пищу. Это связано с тем, что они содержат богатый набор биологически активных веществ (эфирные масла, флавоноиды, каротиноиды, аскорбиновую кислоту и др.), обеспечивающих организм человека необходимыми витаминами, пектиновыми веществами, макро- и микроэлементами, что имеет большое значение в профилактике различных заболеваний. Биологически активные вещества эфирномасличных растений обладают антиоксидантной активностью, регулируют деятельность организма человека, в том числе процессы окисления липидов, белков и нуклеиновых кислот, в результате которых в клетках образуются высокоактивные соединения кислорода (свободные радикалы), необходимые для нормального дыхания, обмена веществ и уничтожения чужеродных бактерий и т.д. Эти вещества, при ослаблении антиоксидантной «защиты» организма, накапливаются, возникает «синдром липидной перекисидации», способствующий развитию язвы желудка и двенадцатиперстной кишки, различных заболеваний ЖКТ, злокачественных образований [1, 2, 3, 4, 5].

Целью данной работы являлось фитохимическое изучение тринадцати видов пряно-ароматических и эфирномасличных растений, интродуцированных в лесостепную зону Башкирского Предуралья, и определение их антиоксидантной активности. Для этого необходимо было решить следу-

ющие задачи: провести качественный и количественный анализ отдельных групп биологически активных веществ, содержащихся в тринадцати образцах интродуцированных растений, и определить их антиоксидантную активность.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В качестве сырья использовали образцы наземной части тринадцати видов интродуцированных пряно-ароматических и эфирномасличных растений, собранных в фазу цветения и высушенных до воздушно-сухого состояния.

Числовые показатели качества эфирномасличных растений определяли в аналитических пробах исследуемых объектов, изготовленных в лабораторных условиях в трех повторностях. Образцы хранили в сухом, чистом, хорошо вентилируемом помещении, без прямого попадания солнечных лучей. Для всех тринадцати образцов определяли показатель влажности сырья, который учитывали при расчетах количественного содержания действующих веществ.

Определение содержания эфирного масла в образцах сырья проводили по методу Гинзберга [6], путем перегонки с водяным паром, измерения объема и расчета процентного содержания по отношению к аналитической пробе.

Определение флавоноидов проводили методами качественного и количественного анализа. Для этого готовили извлечения из образцов сырья (1:10) с использованием 96%-ного этанола после предварительной форэкстракции гексаном в аппарате Сокслета. С полученной очищенной суммой фенольных соединений проводили качественные реакции, хроматографический анализ на бумаге и в тонком слое сорбента, с использованием различных систем растворителей, хромогенных реактивов, в присутствии «свидетелей» [7]. В связи с тем, что флавоноиды

Содержание некоторых биологически активных веществ в образцах пряно-ароматических и эфирномасличных растений

Исследуемый растительный объект	Эфирные масла, %	Флавоноиды		Каротиноиды, мг %	Аскорбиновая к-та, %
		коэф. пер.	%		
Мята перечная <i>Mentha piperita</i>	3.05±0.08	0.97	2.21±0.02	0.15±0.003	0.28±0.01
Тимьян ползучий <i>Thymus serpyllum</i>	1.63±0.05	1.40	2.86±0.04	0.11±0.004	0.14±0.006
Шалфей лекарственный <i>Salvia officinalis</i>	1.03±0.04	1.40	2.25±0.03	0.12±0.005	0.08±0.003
Чабер садовый <i>Satureia hortensis</i>	0.84±0.02	1.00	2.42±0.05	0.12±0.002	0.07±0.001
Иссоп лекарственный <i>Hyssopus officinalis</i>	1.32±0.03	1.05	0.68±0.02	0.10±0.002	0.25±0.01
Нивяник обыкновенный <i>Purethrum majus</i>	1.52±0.04	2.36	1.77±0.02	0.12±0.005	0.21±0.01
Полынь эстрагоновая <i>Artemisia dracuncul</i>	1.10±0.05	2.02	1.88±0.03	0.27±0.02	0.79±0.04
Сельдерей пахучий <i>Arium graveolens</i>	0.63±0.03	2.36	0.90±0.01	0.04±0.001	0.19±0.01
Фенхель обыкновенный <i>Foeniculum vulgare</i>	2.26±0.06	2.02	1.06±0.03	0.06±0.002	0.10±0.002
Рута пахучая <i>Ruta graveolens</i>	0.46±0.02	1.00	3.37±0.03	0.31±0.01	0.12±0.003
Пажитник голубой <i>Trigonella coerulea</i>	0.02±0.001	2.02	0.51±0.01	0.05±0.001	0.15±0.005
Базилик мятолистный <i>Ocimum menthaefol</i>	0.86±0.04	2.02	1.30±0.02	0.12±0.004	0.81±0.03
Базилик священный <i>Ocimum sanctum</i>	0.46±0.02	2.02	2.09±0.04	0.11±0.003	0.21±0.01

обладают значительной интенсивностью поглощения в УФ-области спектра с наличием максимумов, относящихся к первой (320—380) и второй (240—270) полосе поглощения, их количественное определение проводили наиболее точным и чувствительным методом — спектрофотометрическим [8], позволяющим определить сумму флавоноидов в пересчете на один из компонентов этой группы веществ (коэффициент пересчета — в табл. 1). Оптическую плотность измеряли при длине волны 415 нм, а не 363 нм — максимуме для рутина, так как при добавлении к извлечению раствора хлорида алюминия наблюдается батохромный сдвиг максимума поглощения на 52 нм.

Качественный анализ каротиноидов проводили в два этапа [9]: 1) многократная экстракция пигментов органическим растворителем и 2) разделение методом адсорбционной хроматографии в «сухой»

колонке на окиси алюминия (II степени активности по Брокману). Содержание суммы каротиноидов определяли спектрофотометрическим методом [10] в пересчете на β-каротин в мг%. Оптическую плотность измеряли при длине волны 450 нм. В качестве раствора сравнения использовали гексан. Параллельно определяли оптическую плотность раствора стандартного образца бихромата калия.

Для обнаружения аскорбиновой кислоты в образцах исследуемых эфирномасличных растений использовали тонкослойную хроматографию с закрепленным слоем окиси алюминия (растворители: этилацетат — ледяная уксусная кислота, 80:20); хроматограмму высушивали и обрабатывали 0,001 н водным раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия. Количественное содержание аскорбиновой кислоты определяли титриметрическим методом [11].

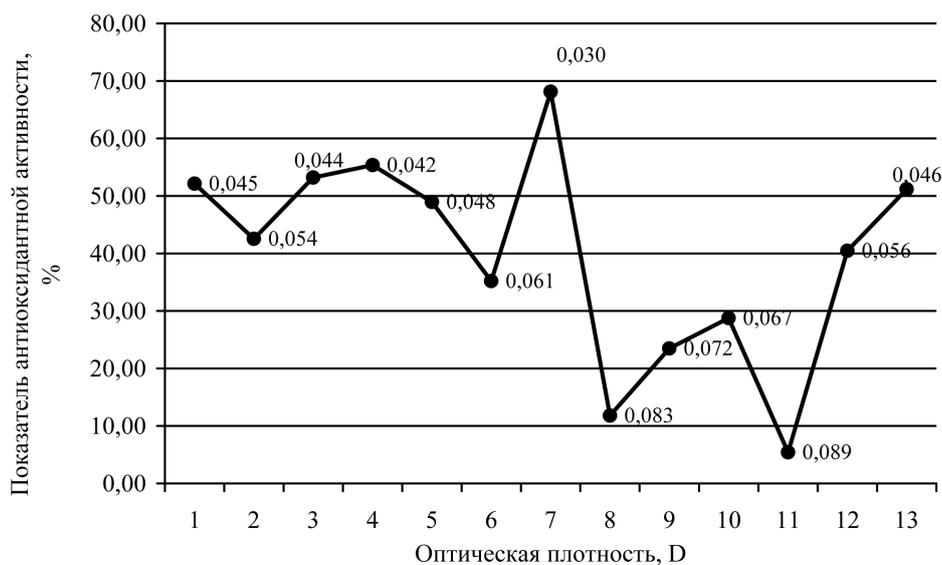


Рис. 1. Антиоксидантная активность интродуцированных эфирномасличных растений. Обозначения: 1 — мята перечная; 2 — тимьян ползучий; 3 — шалфей лекарственный; 4 — чабер садовый; 5 — иссоп лекарственный; 6 — нивяник обыкновенный; 7 — полынь эстрагоновая; 8 — сельдерей пахучий; 9 — фенхель обыкновенный; 10 — рута пахучая; 11 — пажитник голубой; 12 — базилик мятолистный; 13 — базилик священный

Антиоксидантную активность исследуемых пряно-ароматических и эфирномасличных растений определяли добавлением 0,2 мл экстрактов растений и 0,4 мл 2,25 мМ водного раствора адреналина ($pH = 2,2$) к 2 мл 0,15 М **Na-карбонатного буфера**, содержащего 2,5 мМ ЭДТА ($pH = 9,0$). Пробы инкубировали при температуре 36 °С в течение 6 мин. Изменение оптической плотности регистрировали спектрофотометрически при длине волны 480 нм, характерной для поглощения адренохрома. Показатель антиокислительной активности препаратов — процент ингибирования аутоокисления адреналина — рассчитывали по формуле:

$$A = (OD_1 - OD_2) \cdot 100 / OD_1,$$

где OD_1 — изменение оптической плотности пробы в отсутствие экстракта; OD_2 — изменение оптической плотности пробы в присутствии экстракта.

При расчетах антиоксидантной активности также учитывалось то, что экстракты имели свою собственную окраску, которая поглощает определенную длину волны в видимой области спектра [12].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Методами качественного анализа установлено присутствие в растениях флавоноидов (свободных агликонов и гликозидов) производных флавона, флавонола, в том числе со свободной ОН-группой у С-3 и С-7 атомов, 5-оксифлавонов и 5-оксифлавонолов, катехинов, халконов; каротиноидов, которые на колонке проявились в виде ярко-оранжевой и

желтой зон окраски; аскорбиновой кислоты, проявившейся на пластинках с закрепленным слоем сорбента в виде белого пятна на розовом фоне.

Результаты количественного определения содержания биологически активных веществ в исследуемых образцах эфирномасличных растений представлены в табл. 1.

Полученные данные показывают, что содержание биологически активных веществ в растениях варьируется в широких пределах: максимальное количество эфирного масла накапливается в мяте перечной и фенхеле обыкновенном, а минимальное — в пажитнике голубом; максимальное количество флавоноидов накапливается в руте пахучей, тимьяне ползучем, а минимальное — в пажитнике голубом; максимальное количество каротиноидов накапливается в руте пахучей, полыни эстрагоновой, а минимальное — в сельдерее пахучем; максимальное количество аскорбиновой кислоты накапливается в базилике мятолистном, полыни эстрагоновой, а минимальное — в чабере садовом.

Антиоксидантную активность оценивали по способности ингибировать аутоокисление адреналина до адренохрома **in vitro** и тем самым предотвращать образование активных форм кислорода [13]. Если показатель антиоксидантной активности больше 10%, то экстракт обладает высокой активностью, а если меньше — то это слабый антиоксидант. Результаты исследования представлены на рисунке 1 (значения оптической плотнос-

ти даны относительно оптической плотности ад- реналина $D = 0,094$).

Таким образом, выявлено, что в основном все пряно-ароматические и эфирномасличные растения проявляют высокую антиоксидантную активность (АОА), так как этот показатель больше 10%. Максимально выраженная активность — у полыни эстрагоновой (68,10%), чабера садового (55,32%), шалфея лекарственного (53,15%), мяты перечной (52,10%), базилика священного (51,12%). Пажитник голубой проявляет слабую антиоксидантную активность, значение АОА составляет 5,33%, что объясняется меньшим содержанием биологически активных веществ по сравнению с другими исследуемыми образцами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Проведенный качественный и количественный анализ пряно-ароматических и эфирномасличных растений, интродуцированных в лесостепную зону Башкирского Предуралья, показал, что максимальное количество биологически активных веществ накапливается в мяте перечной, фенхеле обыкновенном, руте пахучей, тимьяне ползучем, полыни эстрагоновой, базилике мятолистном, а минимальное — в пажитнике голубом, сельдерее пахучем, чабере садовом.

2. При оценке антиоксидантной активности исследуемых интродуцированных образцов установлено, что виды, накапливающие большее количество биологически активных веществ, проявляют более высокую антиоксидантную активность (полынь эстрагоновая, чабер садовый, шалфей лекарственный, мята перечная, базилик священный), а с меньшим содержанием — слабую активность (пажитник голубой).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Иванченко В.А. Растения и работоспособность / В.А. Иванченко. — М.: Знание, 1984. — 63 с.
2. Battistutta F., Condido E., Ciola L., Giomo A., Comi G., Cjnte L., Zironi R. *Valutazione delle attivita antiossidanti ed antimicrobiche degli oil esserziali di Salvia officinalis e di Thymus vulgaris. // Coltivazione e miglioramento di piante officinale. Trento, 1996. P. 481—486.*
3. Kahkonen M.P., Hopia A.I., Vuorela H.J., Raiha J.P., Pihhaja K., Kujala T.S., Heinonen M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds // *J. Agr. Food Chem.*, 1999, Vol. 47, № 10. — P. 3954—3962.
4. Filipek J. Antioxidative properties of Alcheilla xanthochlora, Salvia officinalis and Solidago virgaurea water extracts // *Biologia, Bratislava*, 1994, Vol. 49, № 3. — P. 359—364.
5. Szabo L.G., Zsoldos T., Puppi A. Screening of antioxidative capacity of water extracts of Hungaria medicinal plants and wild species // *Acta bot. hung.*, 1993/1994, Vol. 38, № ¼. — P. 325—333.
6. Государственная фармакопея СССР. — XI изд. — Вып.1. — М.: Мед., 1987. — 336 с.
7. Гринкевич Н.И., Сафронович Л.Н. Химический анализ лекарственных растений / Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронович. — М.: Высшая школа, 1983. — 176 с.
8. Беликов В.В., Колесник Н.Т. Способ количественного определения флавоноидов в растительном сырье: А.с. №1507394. — А1.
9. Плешков Б.П. Практикум по биохимии растений / Б.П. Плешков. — М.: Колос, 1978. — 255 с.
10. Ветров П.П., Гарная Л.Р. Определение содержания липофильных веществ и суммы каротиноидов в растительном сырье / П.П. Ветров, Л.Р. Гарная // *Хим.-фарм. журн.* — 1989. — №3 — С. 34—38.
11. Государственная фармакопея СССР. — XI изд. — Вып. 2. — М.: Мед., 1990. — 400 с.
12. Герчиков А.Я., Гарифуллина Г.Г., Хайруллина Л.Т. и др. Оценка антиоксидантной активности трех видов солодки / А.Я. Герчиков, Г.Г. Гарифуллина, Л.Т. Хайруллина и др. // *Итоги биологических исследований.* — 2000. — Вып. 6. — С. 38—40.
13. Куликов В.Ю., Амбага М., Хайдав Ц. Оценка суммарной концентрации антиоксидантов жирно-спиртоводорастворимой природы из препаратов растительного и животного происхождения / В.Ю. Куликов, М. Амбага, Ц. Хайдав // *Тез. докл. Всесоюз. конф.* — Новосибирск, 1983. — С. 198—199.