

УДК 543.422

## ИССЛЕДОВАНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ МЕТОДОМ ЭПР

Богушевич С.Е., Матвейчук С.В.

*Институт физико-органической химии НАН Беларуси, г. Минск  
e-mail: bse@ifoch.bas-net.by; msv@ifoch.bas-net.by*

Ингибирующие свойства лекарственных растений и их экстрактов связаны с участием содержащихся в них фенолов и полифенолов (флавоноидов) в реакциях с радикалами, возникающими в организме при протекании ряда заболеваний, под воздействием УФ- и ионизирующих излучений. При этом парамагнитные центры (ПМЦ), присутствующие в растении, оказываются вовлеченными в эти процессы. Поэтому изучение парамагнитных характеристик объектов растительного происхождения дает важную информацию о механизме их антиоксидантной активности и представляет не только научный, но и практический интерес.

Методом ЭПР исследованы сухие экстракты коры дуба и шелухи репчатого лука, полученные из полярных растворителей – воды и этанола. Для экстракции измельченное сырье навеской 10 г помещали в круглодонную колбу, добавляли 125 мл растворителя и кипятили с обратным холодильником в течение 6 часов. По окончании процесса экстрагирования раствор фильтровали, растворитель удаляли выпариванием образцов на водяной бане. Спектры ЭПР снимали при 20°C на спектрометре РЭ-1306 с компьютерным обеспечением ( $\lambda=3$  см). Элементный спектральный анализ водных экстрактов проводили на атомно-эмиссионном спектрометре Varian Vista Pro с индукционно-связанной плазмой.

Еще в исходном растительном сырье обнаружено несколько видов ПМЦ, спектры 1, 2 которых изображены на рис. 1. Первый, обуславливающий узкий псевдоизотропный сигнал ЭПР (А) с шириной линии  $\Delta H_{pp}=0,6$  мТ и  $g$ -фактором  $g(\text{iso})=2,0051$ , принадлежит к типу семихинонных радикалов (СР) [1]. Второй, характеризующийся 6-компонентным сигналом (Б) в области  $g=2,003$  с константой  $A=9,6$  мТ разрешенной сверхтонкой структуры, отнесен к ионам  $\text{Mn}^{2+}$ . Последние, по форме и параметрам секстета, имеют симметрию окружения, близкую к октаэдрической [2]. Предположительно, в коре дуба и луковой шелухе они окружены атомами кислорода благодаря образованию аквакомплексов либо комплексов с фенольными и полифенольными соединениями.

Сигнал Б перекрывается более широким (обозначенным В) с  $\Delta H_{pp} \sim 50$  мТ и близким ему средним значением  $g=2,00$ . Второе обстоятельство позволяет предположить, что он также обусловлен ионами  $Mn^{2+}$ , отличающимися от предыдущих степенью спин-спинового и дипольного взаимодействий. Существование двух типов ПМЦ, обусловленных одним видом ионов, вероятно, связано как с различным состоянием последних в растительной ткани, так и с неравномерным распределением в ней. Четвертый вид ПМЦ, описываемый широким сигналом ЭПР с  $\Delta H_{pp} \sim 68$  мТ и  $g \sim 2,11$  (обозначен Г), идентифицирован как ионы  $Fe^{3+}$  [3].

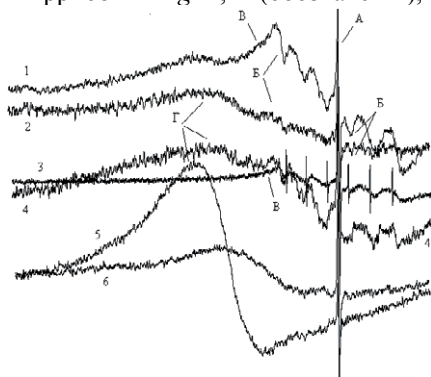


Рис. 1. Спектры ЭПР исходных образцов коры дуба (1), луковой шелухи (2), их высушенных водных экстрактов (3 и 4 соответственно) и экстракта луковой шелухи, находившегося в виде водного раствора 21 сутки (5), 42 суток (6)

В спектрах ЭПР высушенных водных экстрактов коры дуба и луковой шелухи параметры и формы линий, обусловленных ионами  $Mn^{2+}$  и  $Fe^{3+}$ , остаются прежними (рис. 1, спектры 3, 4). Это говорит о сохранении исходного состояния последних. Следовательно, диффузия  $Mn^{2+}$  и  $Fe^{3+}$  из растительного сырья в водный экстракт происходит без изменения их локального координационного окружения. При этом отношение интенсивностей  $I_{Mn}/I_{Fe}$  их сигналов ЭПР, оцененное для коры дуба как  $\sim 1,73$ , луковой шелухи  $\sim 0,80$  и почти не изменяющееся после перехода ионов в экстракт (1,60 и 0,86 соответственно), говорит об одинаковой степени их извлечения водой. Более точное отношение концентраций  $C_{Mn}/C_{Fe}$  в сухих водных экстрактах получено методом атомно-эмиссионного анализа и составляет для экстракта коры дуба 36,7, луковой шелухи – 2,7. Этим же методом зафиксировано присутствие в образцах  $Cu^{2+}$  в следующем отношении к ионам  $Mn^{2+}$  и  $Fe^{3+}$  – в экстракте коры дуба  $C_{Cu}:C_{Fe}:C_{Mn} = 1:4:150$  и в экстракте луковой шелухи  $C_{Cu}:C_{Fe}:C_{Mn} = 1:4:11$ . С помощью ЭПР-спектроскопии ионы  $Cu^{2+}$ , вследствие достаточно малой их концентрации, приводящей к перекрыванию соответствующей спектральной линии более интенсивными, обнаружить не удастся.

Установлено, что из растительного сырья ионы металлов извлекаются только водой, в этанольных экстрактах они не регистрируются. В

В спектрах ЭПР высушенных водных экстрактов коры дуба и луковой шелухи параметры и формы линий, обусловленных ионами  $Mn^{2+}$  и  $Fe^{3+}$ , остаются прежними (рис. 1, спектры 3, 4). Это говорит о сохранении исходного состояния последних. Следовательно, диффузия  $Mn^{2+}$  и  $Fe^{3+}$  из растительного сырья в водный экстракт происходит без изменения их локального координационного окружения. При этом отношение интенсивностей  $I_{Mn}/I_{Fe}$  их сигналов ЭПР, оцененное для коры дуба как  $\sim 1,73$ , луковой шелухи  $\sim 0,80$  и почти не изменяющееся после перехода ионов в экстракт (1,60 и 0,86 соответственно), говорит об одинаковой степени их извлечения водой.

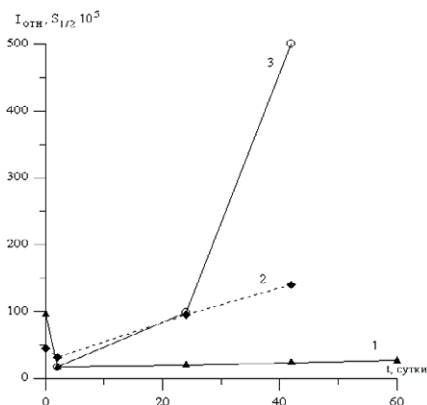


Рис. 2. Кинетика накопления ПМЦ в водном экстракте луковой шелухи: СР при хранении его в сухом состоянии (1) и в виде раствора (3),  $Fe^{3+}$  при хранении в виде раствора (2). Положение точек при нулевом времени соответствует относительному количеству ПМЦ в исходном образце шелухи

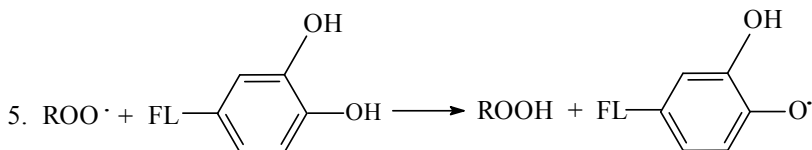
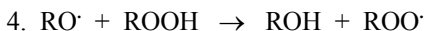
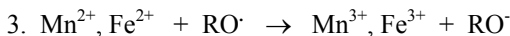
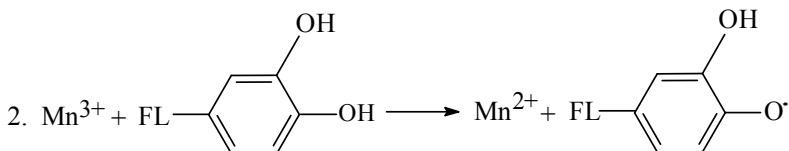
стоянии. При выдерживании в тех же условиях водного экстракта луковой шелухи в виде раствора количество СР в нем по сравнению с сухим образцом резко возрастает. Контроль за изменением  $I_{отн}$  соответствующего сигнала ЭПР (образцы перед регистрацией спектров высушивали) показывает, что через 21 сутки она увеличивается в 5 раз, через 42 суток — почти в 30 (рис. 2, кривая 3). Одновременно наблюдается уменьшение концентрации ионов  $Mn^{2+}$  и накопление  $Fe^{3+}$  так, что происходит практически полное перекрывание соответствующих сигналов Б и В сигналом Г. Причем последний претерпевает сначала сильное сужение до  $\Delta H_{pp} \sim 28$  мТ и некоторое увеличение значения  $g$ -фактора до  $\sim 2,30$  (рис.1, спектр 5). Затем наблюдается обратное его уширение до 41,5 мТ (спектр 6). Кинетику накопления в образце ионов  $Fe^{3+}$ , оцениваемую по площади верхней половины сигнала  $S_{1/2} = I_{1/2} \Delta H_{pp}^2$ , отображает кривая 2 на рис. 2.

Значительный рост концентрации СР и ионов  $Fe^{3+}$ , сопровождаемый падением концентрации ионов  $Mn^{2+}$ , свидетельствует об интенсивном протекании в водном растворе экстракта луковой шелухи окислительных процессов. При этом регистрация в нем через 42 суток намека на секстет на фоне сигнала Г (при большом усилении спектра 6, рис. 1)

то же время СР переходят с малыми изменениями спектральных параметров ( $g(iso)=2,0044$ ;  $\Delta H_{pp}=0,5$  мТ) как в спиртовой, так и в водный экстракт. При этом, как показано на примере свежеприготовленных сухих экстрактов луковой шелухи, их содержание уменьшается: в первом случае в 10 раз, во втором — в 5. С течением времени относительная интенсивность  $I_{отн}$  обусловленного ими сигнала ЭПР для спиртового экстракта практически не изменяется, а для водного увеличивается примерно в 1,5 раза за 60 суток выдерживания на воздухе при 20°C (рис. 2, кривая 1). Это говорит о слабом протекании окислительных процессов в водных экстрактах, хранящихся даже в высушенном состоянии.

позволяет нам предположить обратное накопление  $Mn^{2+}$ . Такие изменения в рассматриваемой системе должны быть связаны с электронным переносом от одного координационного центра к другому, сопровождающимся взаимными превращениями  $Mn^{2+} \rightarrow Mn^{3+}$  и  $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ . Ионы  $Mn^{3+}$  обычно не фиксируются, что связано с малыми временами релаксации и значительным расщеплением энергетических уровней кристаллическим полем [2]. Возможно, эти же причины, а также существование в низкоспиновом состоянии не позволяют нам также наблюдать спектр ЭПР ионов  $Fe^{2+}$ .

Таким образом, представленный материал показывает, что водные экстракты из растительного сырья подвержены окислительным процессам, которые, вероятно, катализируются содержащимися в них ионами биогенных металлов. В реакцию включаются потенциальные антиоксиданты – фенольные и полифенольные соединения – с образованием семихинонных радикалов, которые с течением времени накапливаются даже в экстрактах, хранящихся в сухом виде. С учетом полученных результатов можно ожидать протекания следующих элементарных реакций данного окислительного процесса (в схеме символом FL обозначен бензопирановый гетероцикл – составная часть молекул группы флавоноидов):



## Литература

1. Hales B. // J. Amer. Chem. Soc. 1975. V. 97, № 1. P. 5993-5997
2. Иконников И.А., Логинов А.Ю. // Журн. физ. химии. 1995. Т. 69, № 12. С. 2160-2163
3. Вишневецкая Г.П., Молочников Л.С., Сафин Р.Ш. // ЭПР в ионитах. М.: Наука, 1992. 165 с.