

ВЕСЦІ НАЦЫЯНАЛЬнай АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ БІЯЛАГІЧНЫХ НАВУК 2009 № 4

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК 2009 № 4

ЗАСНАВАЛЬНІК – НАЦЫЯНАЛЬНАЯ АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

Часопіс выдаецца са студзеня 1956 г.

Выходзіць чатыры разы ў год

ЗМЕСТ

Шутова А. Г. Антирадикальная активність эфірных масел і входящих в их состав терпеновых і фенольных соединений в различных средах	5
Солоненко Ю. А., Тэйлор А. Г., Ламан Н. А. Влияние органических растворителей на проницаемость перисперм-эндоспермных покровов семян огурца (<i>Cucumis sativus</i>)	11
Сапегін Л. М., Дайнеко Н. М., Тимофеев С. Ф. Синтаксономія луговой растительности поймы р. Сож в пригороде г. Гомеля	16
Исламов Р. А. Химическая модификация лизина и аргинина в бифункциональном белковом ингибиторе α-амилазы/трипсина	24
Колеснева Е. В., Дубовская Л. В., Волотовский И. Д. Влияние оксида азота на внутриклеточную концентрацию ионов кальция в трансгенных растениях <i>Nicotiana plumbaginifolia</i>	28
Бакакина Ю. С., Дубовская Л. В., Волотовский И. Д. Влияние высокотемпературного стресса на внутриклеточную концентрацию NO и эндогенное содержание цГМФ в проростках <i>Arabidopsis thaliana</i>	34
Yaronskaya E. V., Averina N. G. The content and activity of magnesium chelatase in green barley (<i>Hordeum vulgare</i>) leaves treated with 5-aminolevulinic acid	40
Доманская И. Н., Будакова Е. А., Самович Т. В., Спивак Е. А., Шальго Н. В. Активність антиоксидантных ферментов в зеленых проростках ячменя (<i>Hordeum vulgare</i>) в условиях засухи	45
Мажуль В. М., Щербин Д. Г., Галец И. В., Черновец Т. С. Фосфоресценция индола и его производных в матрице поливинилового спирта	50

PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

BIOLOGICAL SERIES 2009 N 4

FOUNDER IS THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

The Journal has been published since January 1956

Issued four times a year

CONTENTS

Shutova A. G. Radical scavenger activity of essential oils and entering into their composition terpene and phenolic compounds in various environments	5
Salanenka Y. A., Taylor A. G., Laman N. A. The effect of organic solvents on the perisperm-endosperm envelope permeability of <i>Cucumis sativus</i> seeds	11
Sapegin L. M., Dajneko N. M., Timofeev S. F. Syntaxonomy of the river Sozh floodplain meadow vegetation in the suburb of Gomel	16
Islamov R. A. Chemical modification of lysine and arginine in bifunctional of protein inhibitor α -amilase/trypsin	24
Kolesneva E. V., Dubovskaya L. V., Volotovskii I. D. Effect nitric oxide on cytosolic free calcium concentration in transgenic <i>Nicotiana glauca</i> plants	28
Bakakina Y. S., Dubovskaya L. V., Volotovskii I. D. Heat stress modulates endogenous levels of NO and cGMP in <i>Arabidopsis thaliana</i> seedlings.	34
Yaronskaya E. B., Averina N. G. The content and activity of magnesium chelatase in green barley (<i>Hordeum vulgare</i>) leaves treated with 5-aminolevulinic acid	40
Domanskaya I. N., Budakova E. A., Samovich T. V., Spivak E. A., Shalygo N. V. Antioxidant enzymes activity in green barley seedlings (<i>Hordeum vulgare</i>) under water deficit	45
Mazhul V. M., Shcharbin D. G., Halets I. V., Charnavets T. S. Phosphorescence of indole and its derivatives in matrix of polyvinyl alcohol	50
Chernook T. V., Shcherba V. V., Babitskaya V. G., Smirnov D. A., Ikonnikova N. V., Puchkova T. A. Medicinal fungi – lipids producers: cultural and morphological characteristics and biochemical composition	55
Rakhuba D. V., Novik G. I., Kolomiets E. I., Sidarenka A. V., Belyasova N. A. Growth and morphology of microorganisms <i>Bifidobacterium</i> genus in anaerobic station Bug Box M.	59
Kuis L. V., Markevich R. M., Lajkovskaja I. V. Influence of nutrient medium composition to accumulation of organic acids by bacteria of the genus <i>Bacillus</i>	65
Ryabzeva T. V., Kapich A. N. Peculiarities of the process of lipid peroxidation during phagocytosis of microorganisms with different structure of cell wall	70
Kravchenko E. V., Maksimova L. V. Influence of zoosocial factor on habituation processes in inbred mice BALB/c and C57Bl/6 with different anxiety levels	76
Ivanova S. V., Kirpichonok L. N. Own fluorescence of human serum albumin and products of its proteolysis.	82
Zhurikhina L. N. Complex biological estimation of the influence of multicomponent FDS on the growth of infusorium <i>Tetrahymena periformis</i>	89
	3

УДК 577.152.1

А. Г. ШУТОВА

**АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ
И ВХОДЯЩИХ В ИХ СОСТАВ ТЕРПЕНОВЫХ
И ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РАЗЛИЧНЫХ СРЕДАХ**

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск

(Поступила в редакцию 20.11.2008)

Введение. Эфирные масла пряно-ароматических растений могут быть использованы в качестве природных антиоксидантов для продления сроков хранения пищевых продуктов, подверженных быстрому окислению [1].

Приведенные в литературе данные по антиоксидантным свойствам эфирных масел немногочисленны [2, 3], так же как и работы, посвященные оценке антиоксидантной активности их индивидуальных компонентов [4, 5]. Если антиоксидантное действие ди- и тетратерпенов, в том числе каротиноидов, к настоящему времени изучено достаточно хорошо [6], то антиоксидантные свойства моно- и сесквитерпенов эфирных масел практически неизвестны. Также следует отметить, что приводимые в литературе результаты оценки антиоксидантной активности эфирных масел зачастую не коррелируют между собой [4, 7]. Одной из причин этого могут являться особенности поведения компонентов эфирных масел в различных средах, обусловленные их взаимодействием с растворителем. Поэтому нами проведена оценка антирадикальной активности (АРА) ряда эфирных масел и входящих в их состав терпеновых и фенольных соединений в двух различных средах: воде и водно-спиртовой смеси с объемной долей этанола 80%.

Материалы и методы исследования. В качестве объектов исследования были выбраны эфирные масла шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L.), чабера горного (*Satureja montana* L.), мяты перечной (*Mentha piperita* L.), мяты лимонной (*Mentha piperita* var. *citrata* (Ehrh.) Briq), душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.), иссопа лекарственного (*Hyssopus officinalis* L.), многоколосника морщинистого *Agastache rugosa* (Fisch. et Mey), монарды дудчатой (*Monarda fistulosa* L.), шалфея мускатного (*Salvia sclarea* L.), базилика благородного (*Ocimum basilicum* L.). Выбор индивидуальных фенольных и терпеновых соединений для исследования (эвгенол, карвакрол, тимол, 1,8-цинеол, цитраль, (+)-пулегон, линалоол, β -кариофиллен, R-(+)-лимонен, (-)-ментон, линалилацетат) обусловлен их присутствием в эфирных маслах данных растений [9, 12, 13].

Для оценки АРА индивидуальных соединений и эфирных масел использовали их реакцию с катион-радикалами 2,2'-азино-бис(3-этилбензтиазолин-6-сульфоной кислоты (АБТС⁺) [8]. Для определения АРА 5–200 мкл раствора исследуемого соединения или эфирного масла добавляли к 3,0 мл водного либо водно-спиртового раствора АБТС⁺ и при температуре 25 °С измеряли поглощение смеси при 734 нм во времени. Для характеристики АРА использовали значение оптической плотности спустя 1 и 6 мин после смешивания.

Сравнительная оценка АРА велась по величине антирадикального параметра (АП), который рассчитывался как тангенс угла наклона прямых зависимостей $D_0 - D$ от концентрации эфирного масла, индивидуального компонента или тролокса и АРА, представляющей собой величину, показывающую количество молей стандартного антиоксиданта тролокса, оказывающего такое же действие, как 1 моль индивидуального компонента или 1 мл эфирного масла, которая рассчитывалась по формуле:

$$APR = \frac{AP}{AP_{\text{тролокс}}}$$

Результаты и их обсуждение. Эвгенол, присутствующий в эфирном масле базилика благородного [9], среди изученных индивидуальных соединений эфирных масел наиболее эффективно обесцвечивал раствор АБТС⁺.

На рис. 1, А представлены зависимости изменения оптической плотности раствора АБТС⁺ в водно-спиртовой и водной средах спустя 1 и 6 мин после добавления карвакрола, основного компонента эфирного масла чабера горного, от концентрации этого соединения, которые носили прямолинейный характер. Очевидно, что в водной среде АРА этого соединения намного выше, чем в среде с высоким содержанием этанола. Влияние тимола, доминирующего в эфирном масле монарды дудчатой, на изменение оптической плотности раствора АБТС⁺ также носило концентрационно зависимый характер (рис. 1, Б). Следует отметить, что и в этом случае наблюдалась картина, отмеченная выше для карвакрола, т.е. в водной среде тимол гораздо эффективнее обесцвечивал раствор АБТС⁺.

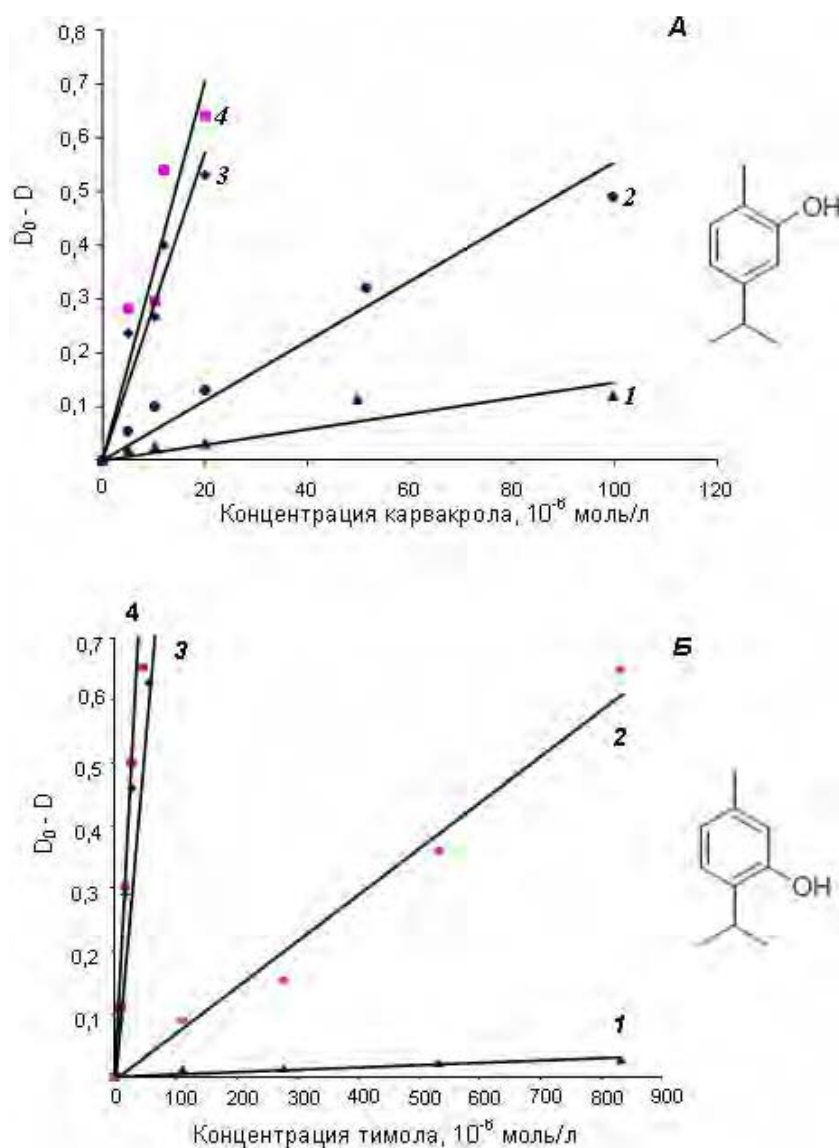


Рис. 1. Зависимость изменения оптической плотности раствора АБТС⁺ от концентрации карвакрола (А) и тимола (Б): 1 – водно-спиртовая среда, 1 мин, 2 – водно-спиртовая среда, 6 мин, 3 – водная среда, 1 мин, 4 – водная среда, 6 мин

Среди исследованных монотерпеноидов только пулегон продемонстрировал способность реагировать с АБТС⁺ в водной среде, а цитраль – в водно-спиртовой, где его способность обесцвечивать раствор катион-радикала была показана в концентрациях порядка 10⁻³ моль/л.

АП и АРА индивидуальных компонентов эфирных масел приведены в табл. 1, откуда видно, что по величине АРА изученные соединения можно расположить в порядке возрастания:

в водной среде: линалоол = 1,8-цинеол = линалилацетат = ментон = лимонен = β-кариофиллен = цитраль (не проявляют) < пулегон < тимол < карвакрол < эвгенол;

в водно-спиртовой среде: линалоол = 1,8-цинеол = линалилацетат = ментон = лимонен = β-кариофиллен = пулегон (не проявляют) < цитраль < тимол < карвакрол < эвгенол.

Т а б л и ц а 1. АП и АРА индивидуальных соединений эфирных масел

Соединение	АП, л/моль				АРА, моль тролокса/моль соединения			
	Среда							
	водная		водно-спиртовая		водная		Водно-спиртовая	
	1 мин	6 мин	1 мин	6 мин	1 мин	6 мин	1 мин	6 мин
Эвгенол	1,3·10 ⁵	2,5·10 ⁵	1,2·10 ⁵	2,0·10 ⁵	34,2	65,8	31,6	52,6
Карвакрол	2,9·10 ⁴	3,5·10 ⁴	1,4·10 ³	5,5·10 ³	7,6	9,2	0,37	1,5
Тимол	1,4·10 ⁴	1,5·10 ⁴	0,4·10 ²	7,0·10 ²	3,7	4,0	1,1·10 ⁻²	18·10 ⁻²
(+)-Пулегон	1,4·10 ³	3,7·10 ³	0	0	0,4	1,0	0	0
(±)-Цитраль	0	0	0,1·10 ²	0,2·10 ²	0	0	2,6·10 ⁻³	5,3·10 ⁻³

Среди изученных соединений наибольшую АРА проявляли фенольные соединения – эвгенол, карвакрол и тимол, причем их ранжирование по величине АРА сохранялось как в водной, так и в водно-спиртовой среде. Очевидно, что особенности проявляемой АРА этих фенольных соединений обусловлены их строением. Так, перемещение достаточно объемного алкильного заместителя из мета-положения по отношению к –ОН группе в молекуле карвакрола в орто-положение в молекуле тимола привело к уменьшению АРА в 2,3 раза в водной и в 8,1 раз в водно-спиртовой средах (для времени реакции 6 мин). Действительно, в литературе имеются данные [10], что активность фенольных соединений в радикальных реакциях зависит от двух факторов: прочности О–Н-связи и наличия объемных заместителей в орто-положении, создающих стерические препятствия. Эвгенол проявлял АРА, превышающую АРА карвакрола в 7,1 раза в водной и в 36,3 раза в водно-спиртовой среде (время реакции 6 мин). Имеющиеся в структуре эвгенола заместители, метокси-заместитель в орто-положении и ненасыщенный алкильный заместитель в пара-положении, по-видимому, уменьшают энергию связи О–Н и способствуют стабилизации радикальных продуктов, образующихся из эвгенола, что ускоряет его реакцию с АБТС⁺.

Существенные различия величин АРА соединений в различных средах, вероятно, можно объяснить особенностями взаимодействия индивидуальных веществ с молекулами растворителя, в частности, влиянием специфической и неспецифической сольватации [11]. Согласно [10], фенолы могут образовывать водородные связи с молекулами, содержащими гетеро-атомы или π-связи. Поэтому в таких растворителях ингибитор фенольного типа (InH) присутствует в двух формах: свободной и связанной в комплекс через водородную связь (InH и InH... OH₂ соответственно). Радикал атакует как раз ту связь О–Н в феноле, которая не участвует в комплексообразовании, и снижение констант скорости в таких растворителях связано с уменьшением концентрации свободных и поэтому более активных молекул InH [10]. В зависимости от структуры молекулы комплексообразование выражено в различной степени. Кроме того, катион-радикалы сами являются сильно полярными частицами и могут образовывать комплексы с такими соединениями, как вода и спирты [10].

Еще один фактор, влияющий на скорость реакций с участием полярных частиц, – неспецифическая сольватация. Поскольку полярными являются как исходные частицы (InH, АБТС⁺), так и активированный комплекс между ними, то константа скорости может зависеть от полярности среды, в частности, от величины диэлектрической постоянной [10, 11], которая в водной и водно-спиртовой среде будет различаться.

Из табл. 2, где приведены значения АРА эфирных масел в различных средах, видно, что по возрастанию АРА в водной среде исследованные эфирные масла можно расположить следующим образом: шалфей лекарственный < мята лимонная < шалфей мускатный < многоколосник морщинистый < иссоп лекарственный < мята перечная < душица обыкновенная < базилик благородный < монарда дудчатая < чабер горный. В водно-спиртовой среде АРА увеличивается в следующем порядке: иссоп лекарственный < мята перечная < шалфей лекарственный < мята лимонная < многоколосник морщинистый < шалфей мускатный < базилик благородный < душица обыкновенная < монарда дудчатая < чабер горный.

Т а б л и ц а 2. Показатели АРА эфирных масел*

Эфирное масло	АП, л/мл			АРА, ммоль тролокса/мл эфирного масла		
	водная среда		водно-спирто- вая среда	водная среда		водно-спирто- вая среда
	исходное	6 мес хране- ния		исходное	6 мес хра- нения	
Чабера горного	182,4	92,7	108,3	48,0	24,4	28,5
Монарды дудчатой	42,9	–	17,6	11,3	–	4,6
Базилика благородного	21,1	12,6	2,5	5,6	3,3	0,7
Душицы обыкновенной	7,9	3,0	2,6	2,1	0,8	0,7
Мяты перечной	4,6	2,0	0,6	1,2	0,5	0,2
Иссопа лекарственного	4,3	–	0,4	1,1	–	0,1
Многоколосника морщинистого	3,5	1,7	1,5	0,9	0,5	0,4
Шалфея мускатного	2,2	–	1,9	0,6	–	0,5
Мяты лимонной	1,8	–	1,4	0,5	–	0,4
Шалфея лекарственного	1,8	1,1	0,8	0,5	0,3	0,2

* Показатели рассчитаны для времени реакции 6 мин.

Чабер горный проявлял высокую АРА и в водно-спиртовой, и в водной среде, однако в среде с высоким содержанием этанола его активность была значительно меньше (рис. 2, А). Данный эффект можно связать с присутствием в составе эфирного масла фенольных соединений – карвакрола и тимола [12], для которых было показано существенное уменьшение АРА в водно-спиртовой среде по сравнению с водной средой.

Анализ результатов по АРА показал, что в водно-спиртовой среде эфирные масла чабера и монарды снижают свою активность по отношению к АБТС⁺ в меньшей степени, чем индивидуальные соединения, карвакрол и тимол, доминирующие в этих маслах. Это указывает на сложный характер взаимодействия катион-радикала АБТС⁺ с эфирными маслами, являющимися многокомпонентными системами взаимодействующих между собой соединений, свойства которых существенно отличаются от простой аддитивной смеси.

Достаточно высокая АРА эфирного масла базилика связана, по-видимому, с присутствием эвгенола в составе этого эфирного масла [9], для которого показана очень высокая АРА. Высокое содержание метилхавикола в этом эфирном масле базилика, по всей вероятности, не оказывает значительного влияния на величину АРА в связи с тем, что в его молекуле фенольная группа этерифицирована. Это косвенно подтверждается низкой АРА эфирного масла многоколосника морщинистого, в котором было установлено еще более высокое содержание метилхавикола [14]. Интересной особенностью эфирного масла базилика оказалось резкое уменьшение АРА в водно-спиртовой среде (рис. 2, Б) в 8,4 раза в сравнении с водной средой, в то время как для эвгенола это снижение показано лишь в 1,3 раза.

При хранении всех изученных эфирных масел АРА значительно снижалась (от 39% у шалфея лекарственного до 62% у душицы обыкновенной), что связано, очевидно, с окислением соединений, обуславливающих АРА во время хранения.

Установлено, что существует положительная корреляция между содержанием фенольных соединений в эфирных маслах и проявляемой ими АРА в водной и водно-спиртовой средах. Коэффициент корреляции в водной среде равен 0,82 ($N = 12$, $P < 0,05$), а в водно-спиртовой –

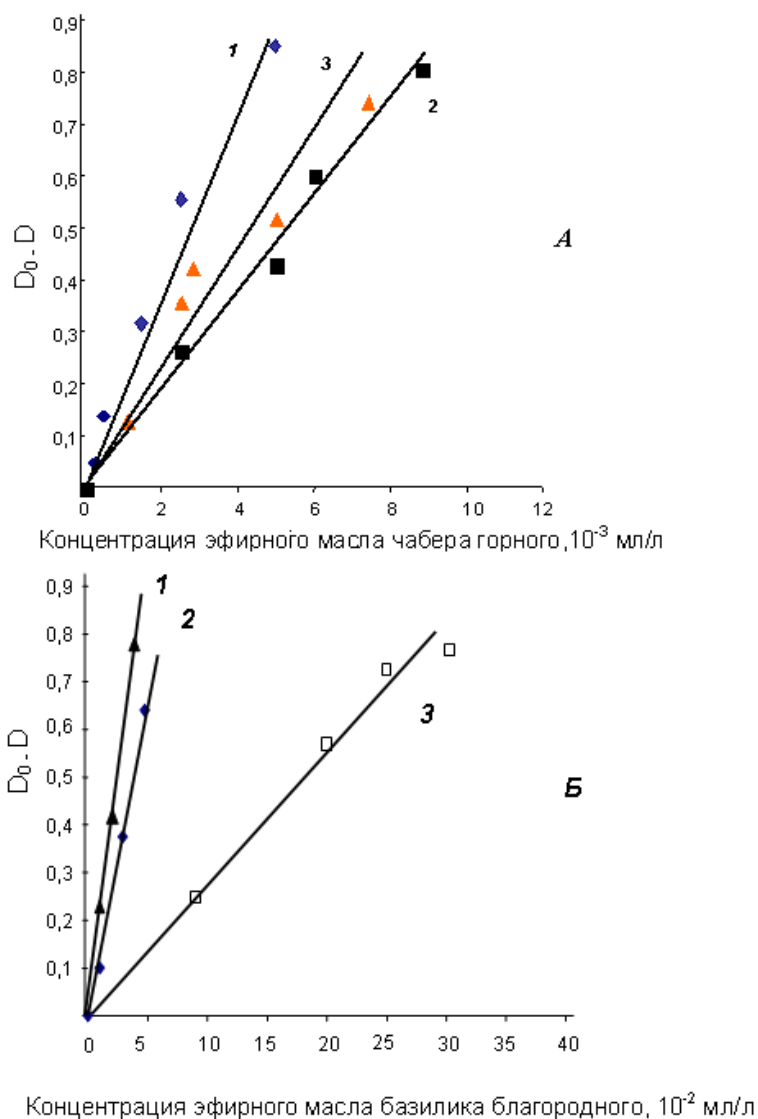


Рис. 2. Зависимость изменения оптической плотности раствора АБТС⁺ от концентрации эфирного масла чабера горного (А) и базилика благородного (Б): 1 – водная среда; 2 – водная среда, 6 мес хранения; 3 – водно-спиртовая среда

0,80 ($N = 10, P < 0,05$), что достоверно при данном количестве сравниваемых пар значений. Этот факт служит указанием на реальное существование связи между концентрацией фенольных соединений и проявляемой эфирными маслами АРА.

Заключение. Различия в АРА эфирных масел обусловлены особенностями их состава, в реакции с АБТС⁺ АРА наиболее выражена у эфирных масел с высоким содержанием фенольных соединений: чабера горного, монарды дудчатой, базилика благородного. Антирадикальные свойства эфирных масел и входящих в их состав фенольных и терпеновых соединений в реакции с катион-радикалами АБТС⁺ существенно отличаются в водной и водно-этанольной средах.

Литература

1. O u s s a l a h M. // J. Agric. Food Chem. 2004. Vol. 52, N 18. P. 5598–5605.
2. G u l l u c e M. // J. Agric. Food Chem. 2003. Vol. 51, N 14. P. 3958–3965.
3. M i m i c a – D u k i c N. // J. Agric. Food Chem. 2004. Vol. 52, N 9. P. 2485–2489.
4. R u b e r t o G., B a r a t t a M. T. // Food Chemistry. 2000. Vol. 69, N 2. P. 167–174.
5. C h o i H – S. // J. Agric. Food Chem. 2000. Vol. 48, N 9. P. 4156–4161.
6. G r a s s m a n n J. // Vitamins and Hormones. 2005. Vol. 72. P. 505–535.

7. Mantle D. // Comparative Biochemistry and Physiology. Part B: Biochemistry and Mol. Biology. 1998. Vol.121, N 4. P. 385–389.
8. Re R. // Free Radical Biology. 1999. Vol. 26. P. 1231–1237.
9. Шутова А. Г., Карпинская Е. В., Сергеенко Н. В. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2005. № 3. С. 10–13.
10. Денисов Е. Т. Ингибирование цепных реакций. М., 1997.
11. Лесникович А. И., Левчик С. В. Корреляции в современной химии. Мн., 1989. С. 103–106.
12. Решетников В. Н., Спиридович Е. В., Шутова А. Г. и др. // Нетрадиционные и редкие растения, природные соединения и перспективы их использования: Материалы VII Междунар. симпозиума, 24–27 мая 2006 г. Белгород, 2006. Т. 2. С. 488–491.
13. Шутова А. Г. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2006. № 5. С. 228—230.
14. Коваленко Н. А., Супиченко Г. Н., Шутова А. Г., Леонтьев В. Н. // Хроматографические методы анализа органических соединений: Материалы Междунар. конф. Киев, 2007. С. 33.

A. G. SHUTOVA

**RADICAL SCAVENGER ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS
AND ENTERING INTO THEIR COMPOSITION TERPENE
AND PHENOLIC COMPOUNDS IN VARIOUS ENVIRONMENTS**

Summary

The radical scavenger activity of essential oils and their individual components in relation to ABTS⁺ has been studied. Differences between antiradical activity in water and alcohol-water environments was found. Quantitative characteristics of essential oils radical scavenger activity are shown to correlate with contents of phenolic compounds.