

N 11.96; S 13.69. Спектр ПМР ( $\text{CF}_3\text{COOH}$ ),  $\sigma$  м.д.: 9.55 (с, 1H, CHO), 9.03 (д, 2H,  $\text{HC}^2$ ,  $\text{HC}^6$ ), 8.18 (д, 2H,  $\text{HC}^3$ ,  $\text{HC}^5$ ), 3.20 (кв., 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.50 (т, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

*5-Формил-4-(4-изопропил-1-пиридилио)тиазол-2-олят (3з).* Выход 0,17 г (68 %). Оранжево-желтые блестящие чешуйчатые кристаллы с  $T_{\text{пл}}$  248–250°C. Найдено, %: C 57.97; H 4.80; N 11.39; S 12.74.  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ . Вычислено, %: C 58.04; H 4.87; N 11.28; S 12.91. Спектр ПМР ( $\text{CF}_3\text{COOH}$ ),  $\sigma$  м.д.: 9.55 (с, 1H, CHO), 9.03 (д, 2H,  $\text{HC}^2$ ,  $\text{HC}^6$ ), 8.23 (д, 2H,  $\text{HC}^3$ ,  $\text{HC}^5$ ), 3.93 (кв., 1H, HC-изопропил), 1.55 (д, 6H,  $2\text{CH}_3$ ).

*5-Формил-4-(4-бензил-1-пиридилио)тиазол-2-олят (3д).* Выход 0,19 г (65 %). Мелкие серовато-фиолетовые кристаллы с  $T_{\text{пл}}$  206–208°C. Найдено, %: C 64.89; H 4.15; N 9.36; S 10.71.  $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ . Вычислено, %: C 64.82; H 4.08; N 9.46; S 10.82.

*5-Формил-4-(4,4-пиридил-1-пиридилио)тиазол-2-олят (3е).* Выход 0,20 г (70 %). Мелкие желтые кристаллы с  $T_{\text{пл}}$  258–259°C. Найдено, %: C 59.24; H 3.33; N 14.89; S 11.21.  $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$ . Вычислено, %: C 59.35; H 5.20; N 14.83; S 11.32. Спектр ПМР ( $\text{DMSO-D}_6$ ),  $\sigma$  м.д.: 9.17 (с, 1H, CHO), 9.20 (д, 2H,  $\text{HC}^2$ ,  $\text{HC}^6$ ), 8.23 (д, 2H,  $\text{HC}^3$ ,  $\text{HC}^5$ ).

*5-Формил-4-(2-изохинолинио)тиазол-2-олят (3ж).* Выход 0,18 г (70 %). Мелкие ярко-желтые кристаллы с  $T_{\text{пл}}$  230–231°C. Найдено, %: C 60.82; H 3.21; N 11.00; S 12.62.  $\text{C}_{13}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ . Вычислено, %: C 60.92; H 3.15; N 10.93; S 12.51.

### Литература

1. **Истомин А.Л., Семенов Н.С., Спицын Н.В.** // Наукові праці ДонНТУ. Серія: Хімія і хім. технологія, 2004. — Вып. 77. — С. 13–17.
2. **Пожарский А.Ф.** Теоретические основы химии гетероциклов. — М.: Химия, 1985. — С. 126.
3. **Альберт А.** Физические методы химии гетероциклических соединений / под. ред. А.Р. Катрицкого. — М.–Л.: Химия, 1966. — С. 119.
4. **Fischer A., Galloway W.J., Voughan J.** // J.Chem.Soc, 1964. — № 10. — P. 3591–3596; 3596–3599.
5. **Нейланд О.Я., Кампаре Р.Б., Прикуле Д.Э., Лиепиньш Э.Э.** // Химия гетероциклических соединений, 1979. — № 3. — С. 379–383.
6. **Каминская В.Ф., Шибеева Р.П., Нейланд О.Я.** // Журнал структурной химии, 1976. — Т. 17. — № 5. — С. 898–903.
7. **Перельман Л.А., Попов А.Ф., Костенко Л.И.** / Ин-т физ-орган. Химии и углехимии НАНУ, г. Донецк. — Донецк, 1975. — Деп. ВИНТИ 17.12.75. — № 1248-76.
8. **Баранов Н.С., Кочканян Р.О., Заритовский А.Н., Белова Г.И., Радкова С.С.** // Химия гетероциклических соединений, 1975. — № 1. — С. 85.

*О Семенов Н.С., Спицын Н.В., Котенко Е.Н., 2006*

УДК 615.322:577.16:615.272:014.425

**Дмитрук А.Ф., Лесишина Ю.О.** (ДонГУЭТ им. Туган-Барановского),  
**Опейда И.А.** (ИнФОРУ НАНУ)

### АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭТАНОЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ ЛИСТОВОГО ОПАДА

*Изучен групповой химический состав листового опада различных видов древесных растений, исследована антирадикальная активность этанольных экстрактов лис­твы в реакции с дифенилпикрилгидразильным радикалом, установлена высокая антирадикальная активность экстрактов по сравнению со стандартными ингибиторами.*

### Введение

В последние годы резко повысился интерес к многотоннажным возобновляемым растительным отходам, как к перспективному сырью для получения на его основе материалов, полезных человеку. К таким отходам следует отнести и лиственный опад, ежегодно накапливающийся на территории населенных пунктов. Как правило, лиственный опад сжигают. Однако известно, что в стареющих листьях при подготовке перед будущим листопадом происходит накопление некоторых соединений, в первую очередь, фенольных производных, которые проявляют свойства природных ингибиторов [1]. Поэтому стремление к переработке и рациональному использованию листового опада является весьма уместным, и может позволить решить ряд задач, в частности, расширить сырьевую базу природных источников эффективных ингибиторов окисления.

Цель данной работы заключалась в изучении качественного и количественного состава этанольных экстрактов листового опада, широко распространенных на Украине видов древесных растений, и оценке их антиоксидантной активности.

### Экспериментальная часть

В качестве объектов исследования были выбраны лиственный опад каштана, клена, тополя, дуба, так как эти виды широко используются в озеленении г.Донецка. Отбор листового опада проводили в осенний период года. Листья тщательно промывали дистиллированной водой для удаления неорганических загрязнений, высушивали до воздушно-сухого состояния при температуре 20–25°C в темноте и измельчали до размеров частиц 2–5 мм.

Органические соединения из листьев извлекали экстрагированием этанолом в аппарате Сокслета при температуре кипения растворителя. Количество извлеченных веществ в экстракте характеризовали величиной сухого остатка ( $W_{с.о.}, \%$ ), определяемом методом гравиметрии [2]. Содержание в экстрактах суммы фенольных соединений (в перерасчете на таннин) определяли перманганатометрическим методом [3], суммы флавоноидов (в перерасчете на кверцетин) — спектрофотометрическим методом [4]. Качественный анализ экстрактов проводили методами УФ-спектроскопии на спектрофотометре «Helios-γ», ИК-спектроскопии на ИКФурье-спектрофотометре «Tensor-27», ЯМР-спектроскопии.

Для оценки антирадикальной активности фенольных соединений экстрактов листьев исследовалась их реакция со стабильным радикалом дифенилпикрилгидразилом (ДФПГ). Кинетика реакций взаимодействия ДФПГ с экстрактами и растительными фенолами изучалась спектрофотометрическим методом.

### Результаты и обсуждение

Для извлечения фенольных соединений из листьев использовали этанол, который, согласно литературным данным [5], экстрагирует фенолкарбоновые кислоты и их производные, флавоноиды, их гликозиды, катехины, дубильные вещества. Данные по количеству извлеченных при экстракции веществ ( $W_{с.о.}, \%$ ), а также по содержанию в листьях фенольных и флавоноидных соединений представлены в таблице 1.

Таблица 1. Результаты группового химического анализа листового опада

Экстракт	Ус.о., масс.%	К-во фено.соед., масс.%	Сумма флаво-лов, масс.%
каштан	23	33	2,5
клен	19	12	0,972
тополь	25	19	0,885
дуб	4,5	19	0,219

Как следует из приведенных в таблице 1 данных, исследуемые образцы листы значительно отличаются по содержанию экстрактивных веществ, количеству фенольных и флавоноидных соединений. Наибольшим выходом сухого остатка характеризуются образцы листы тополя, каштана и клена. Содержание суммы фенольных и флавоноидных соединений в листе каштана почти в два раза больше, чем в остальных образцах. Присутствие в этанольных экстрактах листового опада фенольных соединений было также подтверждено методами УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии.

Так, в УФ-спектрах этанольных экстрактов всех образцов листы (исследовался интервал от 220 до 750 нм) имеются две полосы поглощения с максимумами в диапазоне 320–380 нм (I полоса) (в УФ-спектре экстракта листы дуба эта полоса практически отсутствует) и 250–280 нм (II полоса). Полоса поглощения в области 250–280 нм является признаком наличия в системе бензольных колец, входящих в состав молекул фенольных соединений и флавоноидов. Максимум в интервале 320–380 нм является характерным для различных групп флавоноидов. Для сравнения были изучены УФ-спектры стандартных образцов фенолов ионола, кверцетина и танина. В УФ-спектре ионола имеется одна полоса поглощения с максимумом при 275 нм, УФ-спектр флавонола кверцетина характеризуется наличием двух полос поглощения с максимумами при 256 и 371 нм, что соответствует данным спектрофотометрического анализа экстрактов и может свидетельствовать о присутствии в экстрактах соединений подобных кверцетину. УФ-спектр высокомолекулярного полифенола танина характеризуется максимумом поглощения при 275 нм и практически совпадает со спектром этанольного экстракта листы дуба.

В ИК-спектре этанольного извлечения листового опада каштана (исследовался интервал ИК-колебаний от  $4000\text{ см}^{-1}$  до  $400\text{ см}^{-1}$ ), представленном на рис. 1, имеется полоса поглощения при  $3400\text{--}3450\text{ см}^{-1}$ , что указывает на наличие соединений с фенольным гидроксильным группом. Полоса валентных колебаний гидроксильных групп значительно сдвинута в сторону

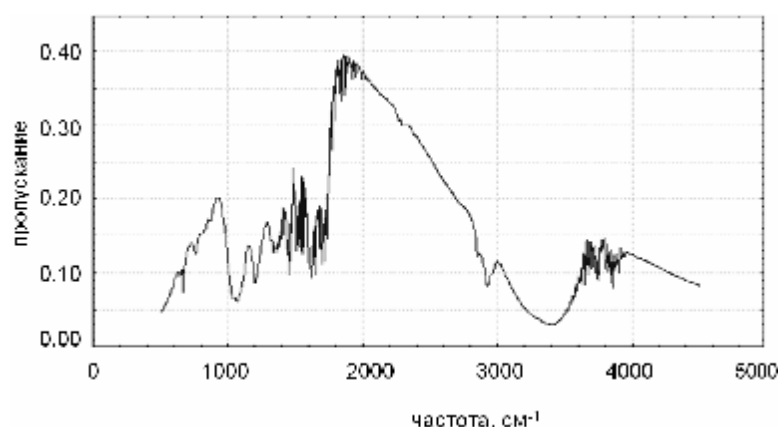


Рис. 1. ИК-спектр сухого остатка этанольного экстракта листы каштана. Таблетки KBr.  $T=293\text{K}$ .

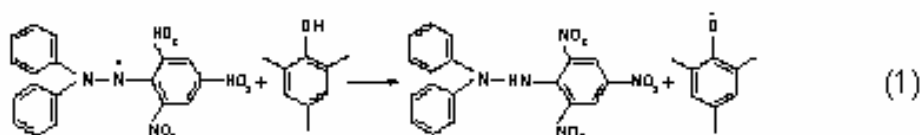
низких частот, интенсивность ее в максимуме снижена, полоса сильно размыта. Это можно объяснить возможным образованием внутримолекулярных водородных связей в молекулах экстрагируемых соединений. В области спектра от  $3000$  до  $2700\text{ см}^{-1}$  отмечается основной максимум при  $2920\text{ см}^{-1}$  с плечом  $2960\text{ см}^{-1}$

и дополнительный максимум при  $2846\text{ см}^{-1}$ . Полосы поглощения при  $2960$ ,  $2920$ ,  $2850\text{ см}^{-1}$  обусловлены валентными колебаниями алифатических  $\text{CH}_3$ -,  $\text{CH}_2$ - групп, соответственно. Им соответствуют полосы поглощения при  $1440\text{ см}^{-1}$  и при  $1375\text{ см}^{-1}$ , относящиеся к алифатическим деформационным колебаниям. Четкие полосы поглощения с максимумами при  $1600\text{ см}^{-1}$  и  $1510\text{ см}^{-1}$  относятся к валентным колебаниям связи  $\text{C}=\text{C}$  в ароматических соединениях. Им при  $1700\text{ см}^{-1}$  соответствуют валентные колебания карбонильной группы в ароматических (фенолкарбоновых) кислотах. Группа  $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$  и вторичные спиртовые группы, входящие в состав гликозидов, обнаруживаются в этанольном экстракте наличием интенсивных полос поглощения при  $1195\text{ см}^{-1}$  и  $1070\text{ см}^{-1}$ .

Анализ этанольного экстракта листы каштана методом ЯМР-спектроскопии показал наличие сигналов с химическими сдвигами по отношению к сигналу тетраметилсилана (ТМС) в области  $6,8-7,5$  м.д., что указывает на присутствие в этанольном извлечении фенольных соединений, содержащих  $\text{C}_6\text{H}_5\text{OR}$  и  $\text{C}_6\text{H}_5\text{COR}$  группировки.

Таким образом, качественный и количественный анализ этанольных экстрактов листового опада каштана, клена, тополя и дуба, показал присутствие в них соединений, содержащих различные по химической структуре функциональные группы, что позволяет прогнозировать активность экстрактов в различного рода реакциях, а значительное содержание фенольных соединений — антиокислительную активность экстрактов.

Простой и удобной моделью для оценки антирадикальной активности экстракта является его реакция (1) со свободным стабильным радикалом дифенилпикрилгидразилом (ДФПГ), который реагирует с фенолами по механизму гомолитического отрыва атома водорода от гидроксильной группы фенола [6,7].



Кинетику реакции взаимодействия ДФПГ с экстрактами листы изучали спектрофотометрическим методом в этанольном растворе. Выбор растворителя обусловлен достаточно хорошей растворимостью исследуемых соединений в этом растворителе. Электронный спектр этанольного раствора ДФПГ представлен на рис. 2.

Как видно из рис. 2, этанольный раствор ДФПГ имеет две интенсивные полосы поглощения с максимумами при  $327$  и  $518$  нм. Кинетику взаимодействия ДФПГ с экстрактами листы изучали при длине волны  $518$  нм (соответствующей  $\pi \rightarrow \pi^*$  переходу), поскольку ни исследуемые экстракты, ни продукты их взаимодействия с ДФПГ не поглощают свет в данной области спектра. Для определения молярного коэффициента поглощения ( $\epsilon$ ) была изучена зависимость оптической плотности растворов радикала от его концентрации и установлено, что молярный коэффициент экстинкции раствора ДФПГ в этаноле равен  $\epsilon = 4706\text{ л}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$ .

Для сравнения антирадикальной активности экстрактов листы исследовали реакцию взаимодействия ДФПГ с известными ингибиторами — ионолом и кверцитином.

Концентрация сухого экстракта ( $\text{C}_{\text{сух. экстр.}}$ ) составляла  $0,4$  масс.%. Сухие экстракты предварительно растворяли в этаноле и далее смешивали с

этанольным раствором ДФПГ ( $C = 4,25 \cdot 10^{-4}$  моль·л<sup>-1</sup>) непосредственно в кювете прибора и регистрировали изменение оптической плотности раствора ДФПГ во времени на спектрофотометре Helios-γ при температуре 300К.

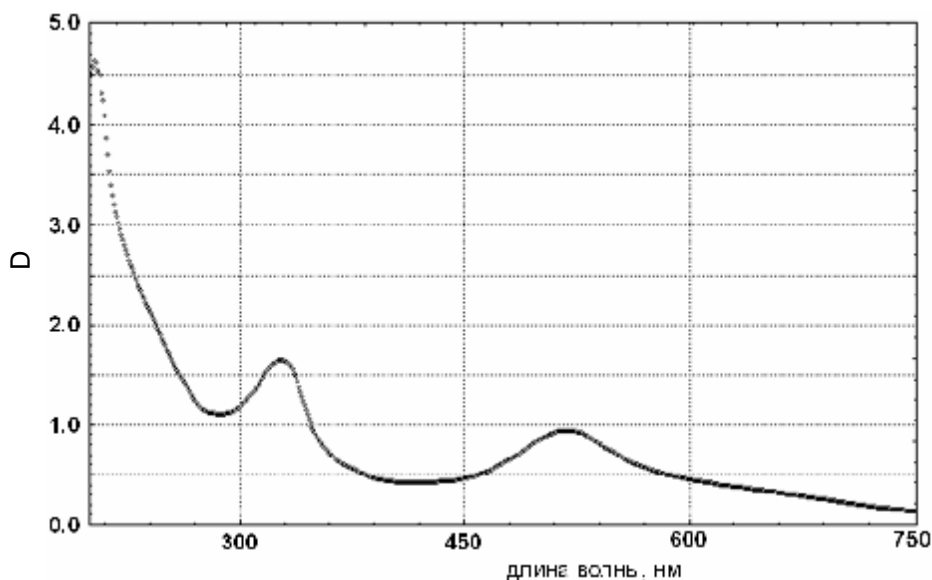


Рис. 2. УФ спектр ДФПГ.

Кинетические кривые взаимодействия ДФПГ с экстрактами и фенолами представлены на рис. 3, где точки представляют экспериментальные данные, линии — расчетные данные, полученные согласно уравнению (2) в соответствии с константами, представленными в таблице 2.

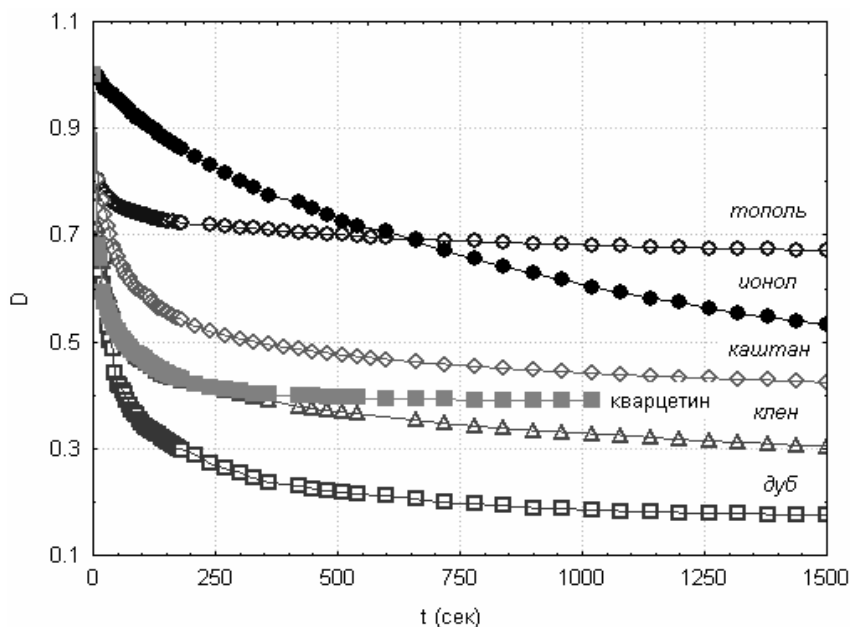


Рис. 3. Кинетические кривые изменения оптической плотности ДФПГ в реакции 1.

Кинетические кривые были обработаны в предположении, что реакции ДФПГ с активными веществами экстрактов имеют первый порядок по ДФПГ.

И действительно, в общем виде можно представить, что ДФПГ расходуется в двух параллельных реакциях первого порядка по уравнению (2):

$$D = A_0 + A_1 \cdot \exp(-k_1 \cdot t) + A_2 \cdot \exp(-k_2 \cdot t) \quad (2)$$

где  $D$  — оптическая плотность,  $k_1$  и  $k_2$  эффективные константы скорости 1-ого порядка первой и второй реакции соответственно,  $t$  — время.

Результаты обработки кинетических кривых на рисунке 3 по уравнению 2 представлены в таблице 2.

**Таблица 2.** Результаты аппроксимации кинетических данных для реакции взаимодействия ДФПГ с этанольными растворами экстрактов листьев различных древесных пород ( $R$  — коэффициент корреляции).

	экстракт	$A_0$	$A_1$	$k_1(\text{с}^{-1})$	$A_2$	$k_2(\text{с}^{-1})$	$R$
1	ионол	0.421	0.556	$1.14 \cdot 10^{-3}$	0	0	0.9989
2	кварцетин	0.393	0.205	$9.69 \cdot 10^{-3}$	.400	$1.23 \cdot 10^{-1}$	0.999
3	дуб	0.175	0.239	$3.56 \cdot 10^{-3}$	0.559	$4.52 \cdot 10^{-2}$	0.996
4	каштан	0.427	0.217	$3.18 \cdot 10^{-3}$	0.329	$4.29 \cdot 10^{-2}$	0.996
5	тополь	0.670	0.091	$2.49 \cdot 10^{-3}$	0.236	$1,35 \cdot 10^{-1}$	0.994
6	клен	0.298	0.217	$2.33 \cdot 10^{-3}$	0.425	$5.43 \cdot 10^{-2}$	0.993

Как следует из результатов, полученные кривые достаточно хорошо (с высокими значениями коэффициента корреляции) описываются кинетическим уравнением (2). Причем то, что величины  $k_1$  и  $k_2$  различаются в среднем больше, чем на порядок, свидетельствует о присутствии в экстрактах соединений, содержащих два типа реакционных центров, существенно различающихся по реакционной способности в радикальных реакциях. В одном типе часть гидроксильных групп связаны непосредственно с бензольным кольцом, как в молекуле ионола, а часть гидроксильных — кверцетина, на это указывают близкие значения констант скорости  $k_1$  (порядка  $10^{-3}$ ). Второй тип более реакционноспособен (значения  $k_2$  находятся в пределах  $10^{-1}$ – $10^{-2}$ ) и соответствует либо гидроксилам, связанным с пирановым кольцом, как у кверцетина, либо входящим в состав таннинов. Необходимо отметить, что суммарная активность экстрактов в реакции 1 определяется как соотношением этих реакционноспособных групп (коэффициенты  $A_1$  и  $A_2$ ), так и абсолютным их содержанием в экстрактах.

Таким образом, можно констатировать, что лиственный опад является ценным источником природных соединений различного строения, которые являются более активными ингибиторами радикальных реакций, чем ионол.

### Литература

1. **Запрометов М.Н.** Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. — М., 1993. — 272 с.
2. **Химический анализ лекарственных растений.** / Ладыгина Е.Я., Сафронович Л.Н., Отрященко В.Э. и др.; под ред. Гринкевича Н.И. — М.: Высш. шк., 1983. — 143 с.
3. **Государственная фармакопея СССР.** — 11-е изд. — Москва, 1979. — Вып. 1. — 500 с.
4. **Ермаков А.И.** Методы биохимического исследования растений / Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. и др.; под ред. Ермакова А.И. — Л. Агропромиздат, 1987. — 430 с.
5. **Щербакова С.А.** Экстрагирование флавоноидных соединений из амаранта // Пищевая пр-ть, 2002. — №3. — С. 64.
6. **Белая Н.И.** Физико-химическое исследование реакции полифенольных соединений с пероксильными и дифенилпикрилгидразильными радикалами: Дис... канд. хим. наук.
7. **Розанцев Э.Г., Шолле В.А.** Органическая химия свободных радикалов. — М.: Химия, 1979. — 343 с.

О Дмитрук А.Ф., Лесишина Ю.О., Опейда И.А., 2006