

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

ИДЕНТИФИКАЦИЯ СОСТОЯНИЯ ЖЕЛЕЗА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЯХ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО БАЛАНСА ЧЕЛОВЕКА

IDENTIFICATION OF IRON STATE IN MEDICINAL PLANTS USED FOR CORRECTION OF HUMAN MINERAL BALANCE

**В.Ф. Бабанин^{1*}, А.А. Залуцкий¹, П.А. Иванов¹, Н.В. Михалева², А.С. Панфилов³
V.F. Babanin^{1*}, A. A. Salutskiy¹, P.A. Ivanov¹, N.V. Mikhaleva², A.S. Panfilov³**

¹ Ярославский государственный технический университет

² Российский федеральный центр судебной экспертизы при Министерстве юстиции РФ, Москва

³ Физико-технический институт низких температур НАН Украины, Харьков, Украина

¹ Yaroslavl State Technical University, Yaroslavl, Russia

² Russian Federal Center of Forensic Expertise at the Ministry of Justice of the Russian Federation, Moscow, Russia

³ Institute for Low Temperature Physics and Engineering at NAS of Ukraine, Kharkov, Ukraine

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: анемия, лекарственные растения, ядерный гамма-резонанс (ЯГР), магнитометрия, магнитная восприимчивость

KEYWORDS: anaemia, medicinal plant, nuclear gamma resonance (NGR), magnetometry, magnetic susceptibility

РЕЗЮМЕ: Неразрушающими методами ядерной гамма-резонансной спектроскопии (ЯГРС) и магнитометрии (ММ) в постоянном магнитном поле — методом Фарадея исследовано состояние железа в лекарственных растениях: айр обыкновенный (корень), валериана лекарственная (корень), календула лекарственная (цветок), крапива двудомная (лист), мята перечная (лист), сельдерей пахучий (лист), смородина черная (лист), чабрец (лист). В качестве модели гидроксида железа в суперпарамагнитном состоянии использован ферритин из печени млекопитающих. Установлено, что железо в изученных растениях находится в виде частиц гидроксида размером менее 10 нм, атомы Fe — в виде ионов Fe(III) со спином 5/2, в шестерной координации. Параметры ЯГРС позволяют идентифицировать гидроксиды изученных образцов как ядра ферритина. Большинство перечисленных лекарственных растений входит в противораковый фитосбор; часть также входит в сборы, содержащие железо как биологический антагонист марганца, свинца, никеля, лития.

ABSTRACT: The state of iron in medicinal plants *Acorus calamus L.*, *Valeriana officinalis L.*, *Calendula*

officinalis L., *Urtica dioica L.*, *Mentha piperita L.*, *Apium graveolens L.*, *Ribes nigrum L.*, *Thymus serpyllum L.* was investigated by nondestructive methods of nuclear gamma resonance spectroscopy (NGR spectroscopy) and magnetometry in stable magnetic field by Faraday's method. The ferritine received from mammalian (beef, equine, human) liver was taken as a specimen of super paramagnetic ferric hydroxide. It was determined that iron in the investigated plants is present as super paramagnetic particles with size less than 100 nm, Fe atoms are speciated as Fe(III) ions with spin 5/2 in sixth coordination. NGR spectroscopy parameters allow identifying the nanoparticles as kernels of ferritine. It is to be noted that: (1) most of the mentioned medicinal plants are included in anticancer tea; (2) some of them is included in teas that contain iron as a biological antagonist of Mn, Pb, Ni, Li.

ВВЕДЕНИЕ

Сущность патологии, вызванной пониженным содержанием железа в организме человека, рассмотрена в работах ряда авторов (Закревский и др., 1996; Палеев, 2002). Известны способы лечения нарушения микроэлементного баланса минеральными солями железа (Александров и др., 1990) и лекарственными средствами растительного происхождения (Закревский и др., 1996; Садовская, 2002). Лекарственные растения объеди-

* Адрес для переписки: Бабанин Вячеслав Федорович; Ярославский государственный технический университет; 150023, Ярославль, Московский просп., 88; e-mail: vbabanin@bk.ru

няют в фитосбор и готовят из него настой или отвар. Для сбора отбирают растения, способные накапливать железо в количестве не менее 0,5 г/кг сухого растительного сырья с коэффициентом биологического накопления более 1,0. Заметим, что содержание железа в фармакологической практике в растениях определяют разрушающими химическими методами (Листов, 1989) с предварительным озолением биомассы. Эта обработка приводит к потере ценной информации о физико-химических свойствах ионов железа в натуральном сырье. Поэтому невозможно надежно прогнозировать или контролировать действие железа лекарственного препарата, полученного из сбора, так как неизвестно исходное состояние атомов железа, которое полностью определяет характер его метаболизма. Целью работы было получение с помощью неразрушающих физических методов мессбауэровской спектроскопии (ЯГРС) и магнитометрии (ММ) информации о спиновом и валентном состоянии ионов железа, их координации и участии в формировании областей магнитного упорядочения в нативных растениях. Для изучения состояния железа методами ЯГРС и ММ были собраны растения, перечисленные в патенте РФ RU2238749.2002 (Садовская, 2002). Большинство перечисленных лекарственных растений также входит в противораковый фитосбор (Бизиков и др., 2003).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования были выбраны воздушно-сухие растения *Acorus calamus* L. (аир обыкновенный, корень), *Valeriana officinalis* L. (валериана лекарственная, корень), *Calendula officinalis* L. (календула лекарственная, цветок), *Urtica dioica* L. (крапива двудомная, лист), *Mentha piperita* L. (мята перечная, лист), *Apium graveolens* L. (сельдерей пахучий, лист), *Ribes nigrum* L. (смородина черная, лист), *Thymus serpyllum* L. (чабрец, лист). Растения растирали в фарфоровой ступке и просеивали через сито с ячейкой 0,25 мм². В качестве эталона суперпарамагнетика использовали ферритин, выделенный из печени млекопитающих (корова, лошадь, человек). Мессбауэровские спектры регистрировали в геометрии пропускания (Суздаев, 1988) при комнатной температуре, источником излучения служил ⁵⁷Со в матрице хрома. Регистрацию гамма-квантов осуществляли на амплитудном анализаторе NTA-1024. Для магнитных измерений использовались парамагнитные весы Фарадея. По данным измерений удельной магнитной восприимчивости χ в зависимости от напряженности магнитного поля H для каждой из проб определяли (при $T = 293$ К, а для части из них при $T = 80$ К) две величины: удельную магнитную восприимчивость χ_∞ в больших полях и удельную спонтанную намагниченность σ_s , соответствующую области магнитного насыщения. Для этих целей нами использовалась известная интерполяционная формула $\chi = \chi_\infty + \sigma_s/H$ (Бабанин и др., 2009). В качестве независимого кон-

троля опытов избран рентгенодифрактометрический метод.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований приведены на рис. 1—3 и в таблице 1. На рис. 1 показан в качестве примера мессбауэровский спектр ядер ⁵⁷Fe при различных температурах для календулы, выращенной в естественных условиях, и ферритина, используемого в качестве эталона. Параметры этого спектра (табл. 1) соответствуют случаю нахождения ионов железа в высокоспиновом состоянии Fe(III), $S=5/2$ (Суздаев, 1988) и совпадают с параметрами гумусовых кислот из почв, на которых выращивали календулу (Соломонов, 1992).

Отсутствие в спектре видимых следов квадрупольного дублета, который соответствовал бы двухвалентным ионам железа Fe²⁺ (для него характерна существенно большая величина расщепления Δ), можно рассматривать как следствие того, что железо в растениях при достаточной малых его концентрациях накапливается преимущественно в виде ионов Fe³⁺.

Магнитные свойства проб заслуживают особого внимания — прежде всего в связи с вопросом о концентрации и состоянии содержащихся в них атомов железа. Судя по данным о магнитной восприимчивости в больших полях χ_∞ (табл. 1), эти концентрации оказываются столь малыми, что исследуемый образец ведет себя в магнитном поле как диамагнетик ($\chi_\infty < 0$). С другой стороны, с тех же образцов обнаруживаются и области магнитного упорядочения, о чем свидетельствуют данные о наличии у них областей самопроизвольной намагниченности σ_s (табл. 1, рис. 2). Этим областям должен, конечно, соответствовать зеемановский «секстет» в мессбауэровском спектре (или, точнее, суперпозиция парциальных секстетов, соответствующих неэквивалентным позициям атомов железа в «структуре» растения). Его интенсивность, однако, оказывается за пределами чувствительности метода — опять-таки из-за ничтожно малой концентрации железа (рис. 1). Наличие областей, обладающих $\sigma_s \neq 0$, можно понять, исходя из физиологии питания растений (Петербургский, 1971; Бабанин и др., 2009).

Как и другие элементы питания, железо при потреблении его растениями находится в почвенном растворе. В растворенном виде оно транспортируется по капиллярам к месту биосинтеза органического вещества. При высоких внешних концентрациях железа клетки переполняются избыточными катионами и вынуждены их депонировать. Поскольку избыточное железо поступает в растение из водной среды, естественно предположить, что оно откладывается в растении в виде гидроксидов. Требование минимизации поверхностной энергии областей, где накапливаются гидроксиды, будет выполнено при условии плотной упорядоченной упаковки, чему способствует процесс кристаллизации. Наличие у растений областей само-

Таблица 1. Параметры мессбауэровских спектров и данные магнитных измерений лекарственных растений

Образец	ЯГР (воздушно-сухая проба)		Магнитометрия						
	δ	Δ	Воздушно-сухие препараты		После гидротермической обработки ≥100 °С, 2 ч		После отжига на воздухе 500 °С, 1 ч		Магнитная фракция из отожженных образцов
			χ _∞	σ _s	χ _∞	σ _s	χ _∞	σ _s	
Аир обыкновенный (корень)	0,65 ± 0,03	0,55 ± 0,03	-4,40	0,41	-3,77	1,25	+0,25	4,94	15,2
Валериана лекарственная (корень)	0,61 ± 0,03	0,66 ± 0,03	-3,04	0,39	-5,15	3,04	13,65	119,5	15,4
Календула лекарственная (цветок)	0,64 ± 0,05	0,53 ± 0,05	-5,10	1,71	-3,85	3,12	1,5	48,1	14,8
Крапива двудомная (лист)	0,56 ± 0,08	0,62 ± 0,08	-2,26	1,53	-2,24	2,58	10,2	12,9	25,9
Мята перечная (лист)	0,56 ± 0,08	0,62 ± 0,08	-3,14	1,10	-2,14	3,87	79,4	84,2	19,6
Сельдерей пахучий (лист)	0,56 ± 0,08	0,62 ± 0,08	-3,50	2,52	-4,64	2,17	47,7	50,8	12,8
Смородина черная (лист)	0,44 ± 0,03	0,53 ± 0,03	-3,64	0,50	-5,02	1,34	2,10	222	19,2
Чабрец (лист)	0,56 ± 0,08	0,62 ± 0,08	-1,76	1,25	-4,56	2,70	17,9	237,2	20,0
Ферритин из печени коровы	0,56 ± 0,08	0,66 ± 0,05	+2,26	2,59	3,2	5,82	29,1	49,6	28,5

Примечание: δ — изомерный сдвиг относительно нитропрussa натрия (мм/с); Δ — квадратное расщепление (мм/с); χ_∞ — удельная магнитная восприимчивость (×10⁻⁸ м³/кг); σ_s — удельная намагниченность насыщения (×10⁻³ А · м²/кг). В последней колонке σ_s — целые единицы в СИ.

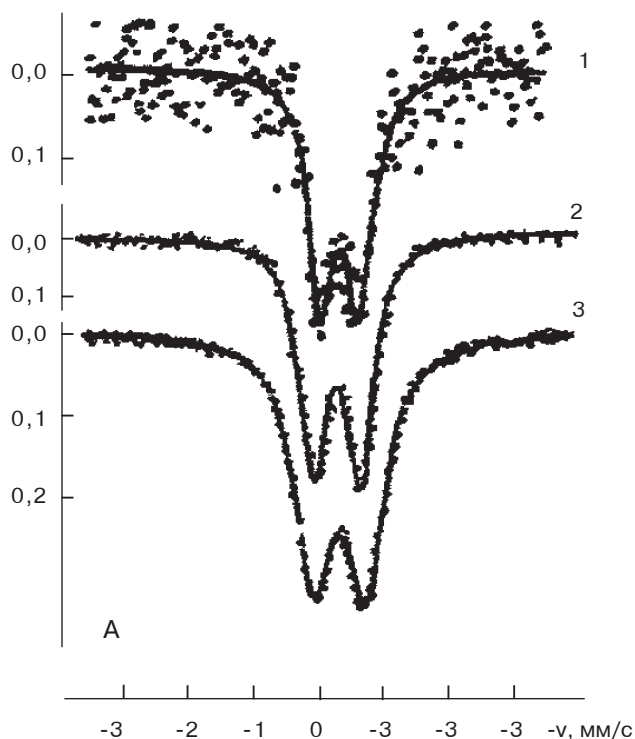


Рис. 1. Мессбауэровский спектр ядер ^{57}Fe воздушно-сухих образцов: 1 — цветков календулы при комнатной температуре; 2 — цветков календулы при температуре $T \approx 80\text{ K}$; 3 — ферритина из печени млекопитающего (спектр снят при комнатной температуре)

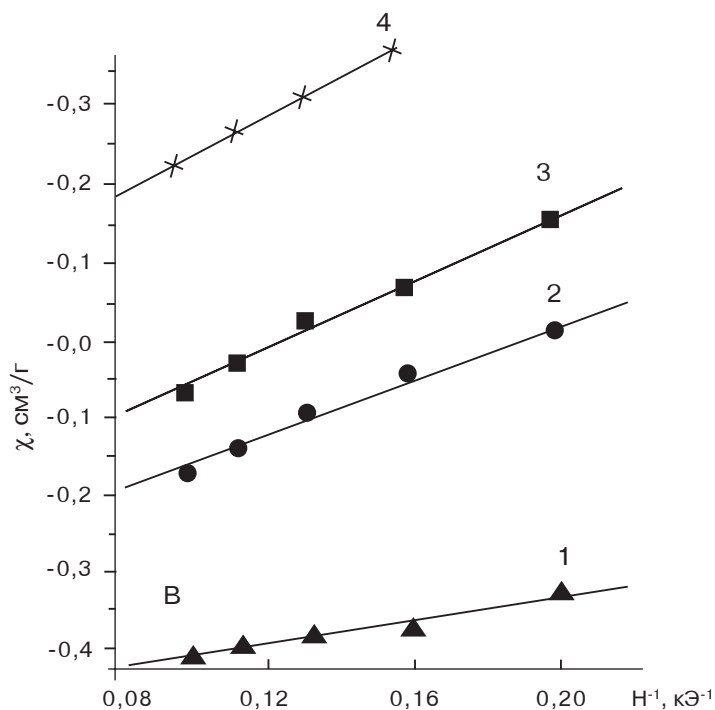


Рис. 2. Зависимость магнитной восприимчивости χ от обратной величины магнитного поля $1/H$ для воздушно-сухих образцов: 1 — печень коровы, из которой выделен ферритин (график 4); 2 — плоды клюквы мелкоплодной (*Oxycoccus microcarpus* Turcz. ex Rupr.); 3 — листья чабреца; 4 — ферритин

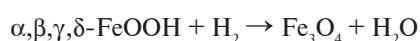
произвольной намагниченности можно рассматривать как одно из подтверждений правильности данной качественной интерпретации процессов накопления железа в растениях. Кроме того, вполне логично из результатов эксперимента (Бабанин и др., 2009, 2010) и публикаций в обзорах (Эйхгорн, 1978; Суздальев, 1988) предположить, что этот тип глобулярного белка — ферритин с ядром в виде ферригидрита — является звеном круговорота гидроксида железа в экосистеме.

Другим подтверждением этой версии о содержании в растениях гидроксида в виде ядра ферритина являются результаты воздействия гидротермической обработки проб (при температуре ≥ 100 °С от 1,5 до 50 ч) на их магнитные свойства. Практически у всех проб после обработки отмечено возрастание намагниченности насыщения σ_s (табл. 1). В этой связи возникает вопрос об идентификации соединений железа, которые могут быть причиной возникновения намагниченности σ_s — как до гидротермической обработки, так и после нее.

Для обсуждения этого вопроса целесообразно привлечь результаты исследований магнитных свойств проб после проведенной нами еще одной их обработки — отжига на воздухе (при температуре около 450 °С в течение 1,5 ч). Этот дополнительный отжиг приводит к новому росту намагниченности σ_s , причем гораздо большему, чем в случае гидротермической обработки (табл. 1).

Таким образом, всю совокупность данных о магнитных свойствах проб — в исходном состоянии (в виде воздушно-сухого сырья), после гидротермической обработки и после отжига на воздухе — можно объяснить следующим образом. В исходном состоянии пробы содержат железо в виде гидроксидов (с общей формулой $\text{Fe} \cdot \text{OOH}$), следствием чего является наличие у них не только диамагнитных, но также парамагнитных и ферримагнитных свойств. Гидротермическая обработка стимулирует перевод гидроксидов в оксиды, главным образом в гематит $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$. Это соединение является слабым ферромагнетиком ($T_c = 677$ °С), благодаря чему возникает некоторое увеличение намагниченности σ_s . Отжиг свежих воздушно-сухих образцов при температурах около 450 °С также приводит к росту σ_s , но уже на 1–2 порядка (табл. 1).

В ходе озонения железосодержащих органических веществ гидроксиды трансформируются в магнетит Fe_3O_4 , видимо, по реакциям типа:



(в этих формулах $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ — разновидности гидроксидов по типу кристаллической и магнитной решетки минерала).

Пока нет удовлетворительной теории, объясняющей образование магнетита из гидроксидов (при отжиге с органическим веществом), трудно

«уловить» температуру образования магнетита и написать реакции реального перехода гидроксида в магнетит.

Магнетит — ферримагнитное соединение с температурой Кюри 675 °С, чем и объясняется вызванное отжигом значительное возрастание намагниченности насыщения (табл. 1). Отжиг проб при еще более высоких температурах, порядка 800 °С, в условиях доступа воздуха ведет к падению намагниченности, что связано с превращением магнетита в гематит.

К числу аргументов, подтверждающих приведенную здесь интерпретацию магнитных свойств проб, подвергнутых различным видам обработки, можно отнести также результаты проведенных нами исследований магнитных фракций тех проб, которые отжигались при 450 °С. Для получения этих фракций отожженные пробы сначала растирали в агатовой ступке и обрабатывали разбавленной уксусной кислотой, а затем из них путем магнитной сепарации извлекали сильномагнитные частицы. Описанная подготовка образцов обусловлена тем фактом, что отжиг сопровождался спеканием вещества в агрегаты, которые при растирании разрушали. Обработка раствором кислоты приводила к растворению цементирующих карбонатов, о присутствии последних свидетельствует интенсивное вскипание вещества в растворе (Бабанин и др., 2010).

На дифрактограммах порошкообразных образцов, полученных таким путем, видны (на фоне других линий) хорошо разрешенные рефлексы магнетита (рис. 3). По ширине пиков удалось оценить характерный линейный размер частиц магнетита, он оказался порядка 20 нм. На некоторых дифрактограммах были обнаружены следы гематита, что свидетельствовало о частичном превращении гидроксидов и магнетита в гематит. Магнитные фракции были подвергнуты дополнительному отжигу при температуре около 800 °С. Величина намагниченности для них существенно уменьшилась от

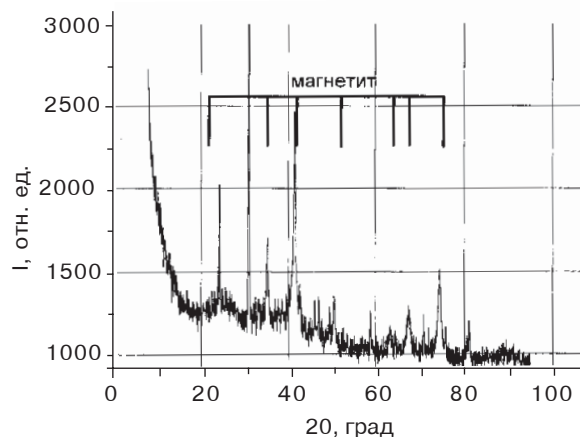


Рис. 3. Дифрактограмма магнитной фракции, выделенной из образца листьев чабреца, подвергнутого термообработке при 450 °С

$(2000 \div 23\ 000) \times 10^{-3}$ до $(50 \div 200) \times 10^{-3} \text{ А} \cdot \text{м}^2/\text{кг}$ и менее, что как раз и соответствует превращению магнетита в гематит при высоких температурах отжига на воздухе.

ВЫВОДЫ

Анализируя полученные результаты и информацию обзоров (Эйхгорн, 1978; Суздалев, 1988; Александров и др., 1990), можно сделать следующие выводы:

1. В лекарственных растениях (айрный корень, валериана, календула, крапива двудомная, мята перечная, сельдерей пахучий, смородина черная, чабрец) идентифицирован глобулярный белок ферритин. Ионы нетоксичного трехвалентного железа со спином 5/2 в белке агрегированы в магнетоупорядоченную глобулу ферригидрита с размером < 10 нм. Установлено, что при получении настоев трав ферритин экстрагируется в раствор в неизменном виде. Железо глобул в виде Fe(III), в отличие от железа минеральных ионов Fe³⁺, нетоксично.

2. Для идентификации ферритина в растительном сырье необходимы и достаточны следующие условия:

а) Дублет в спектрах ЯГР, снятых при комнатной температуре или температуре 80 К, с параметрами Fe(III) (табл. 1) и спином 5/2.

б) Диамагнетизм или слабый парамагнетизм вещества в магнитных полях подобных магнитному полю Земли ($\approx 1\text{--}100$ Гс).

в) Линейная зависимость намагниченности вещества от величины обратной Н, т.е. $\chi = \chi_{\infty} + \sigma_{\text{с}}/Н$, что свидетельствует о наличии в веществе магнетоупорядоченных наноразмерных гидроксидов.

3. Используемый подход к диагностике ферритина и методика проведения измерений могут быть использованы при создании аппаратуры и разработке альтернативного метода определения содержания ферритина в рутинных анализах крови вместо дорогостоящих иммуноферментных определений, применяемых в современной практике.

4. Примененная методика измерения параметров состояния железа при температуре, близкой к комнатной, показала, что можно избежать применения гелиевой криогенной техники.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант 09-04-01107.

Также выражаем благодарность инженеру кафедры физики ЯГТУ Филатову А.В. за помощь при проведении экспериментальных исследований.

ЛИТЕРАТУРА

Александров М.А., Бабанин В.Ф., Гладков Ю.В., Иркаев С.М., Калетина Н.И., Николаев В.И. Мессбауэровская спектроскопия и контроль качества лекарственных препаратов. Л.: Институт аналитического приборостроения АН СССР, 1990. Препринт № 41. С. 1–12.

Бабанин В.Ф., Залуцкий А.А., Михалева Н.В., Пухов Д.Э., Омелянюк Г.Г. Состояние железа в живом веществе // Вестник РУДН. 2009. № 2. С. 5–13.

Бабанин В.Ф., Николаев В.И., Пухов Д.Э., Шипилин М.А., Шипилин А.М. О состоянии железа в биологических системах // Биофизика. 2010. Т. 55, Вып. 2. С. 302–306.

Бизиков А.А., Долгополов А.А., Салтанова И.И., Дуксанова Л.А., Ханхареева М.А. Онкологический растительный сбор для лечения рака. Патент РФ RU2246963, 2003.

Закревский В.В., Лифляндский В.Г., Пайков В.Л., Болдуева С.А., Жибуря Л.П., Пирятинская В.А. Краткий лечебный справочник. М.: ТЕРРА, 1996. 464 с.

Листов С.А. Применение элементного анализа в фармакологическом контроле лекарственных средств // Фармация. 1989. Т. 4, С. 28–32.

Палеев Н.Р. (ред.) Справочник врача общей практики. Т. 2. М.: Эксмо-Пресс, 2002. С. 182–252.

Петербургский А.В. Агрохимия и физиология питания растений. М. Россельхозиздат. 1971. 334 с.

Садовская Н.Ю. Способ профилактики и лечения патологий, вызванных повышенным и/или пониженным содержанием в организме человека физиологически необходимых макро- и микроэлементов. Патент РФ RU2238749, 2002.

Соломонов А.Г. Состояние железа и его трансформация в биогеохимическом цикле по данным мессбауэровской спектроскопии. Автореф. дисс. канд. биол. наук. М., 1992. 15 с.

Суздалев И.П. Гамма-резонансная спектроскопия белков и модельных соединений. М.: Наука, 1988. 262 с.

Эйхгорн Г. Неорганическая биохимия. Т. 1. М.: Мир, 1978. 712 с.