

ЛИТЕРАТУРА

1. Shahab, Siyamak & Sheikhi, Masoome & Filippovich, Liudmila & Dikusar, Evgenij & Yahyaei, Hooriye & Kumar, Rakesh & Khaleghian, Mehrmoosh. (2017). Design of Geometry, Synthesis, Spectroscopic (FT-IR, UV/Vis, Excited State, Polarization) and Anisotropy (Thermal Conductivity and Electrical) Properties of New Synthesized Derivatives of (E,E)-Azomethines in Colored Stretched Poly (Vinyl Alcohol) Matrix. Journal of Molecular Structure. 1157. 10.1016/j.molstruc.2017.12.094.
2. Shahab, S., Sheikhi, M., Filippovich, L., Dikusar E., Yahyaei, H. Quantum chemical modeling of new derivatives of (E,E)-azomethines: synthesis, spectroscopic (FT-IR, UV/Vis, polarization) and thermophysical investigations, J. Mol. Struct. 1137 (2017) 335e348

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ЦВЕТОВ КАШТАНА (*AESCULUS HIPPOCASTANUM L.*), РЯБИНЫ (*SORBUS AUCUPARIA L.*), АКАЦИИ (*ACACIA*) И РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ СИРЕНИ (*SYRINGA*)

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF EXTRACTS OF FLOWERS OF CHESTNUT (*AESCULUS HIPPOCASTANUM L.*), ROWAN (*SORBUS AUCUPARIA L.*), ACACIA (*ACACIA*) AND DIFFERENT TYPES OF LILAC (*SYRINGA*)

Д. А. Баскина¹, Е. И. Тарун¹, В. П. Курченко²
D. Baskina¹, E. Tarun¹, V. Kurchenko²

¹Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь

²Белорусский государственный университет, г. Минск, Республика Беларусь
ktarun@tut.by

¹Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

²Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

Проведено сравнительное изучение антиоксидантной активности экстрактов цветов акации, рябины, каштана и разных видов сирени. Получены зависимости интенсивности флуоресценции флуоресцеина от логарифма концентрации экстрактов цветов, из которых графически определены показатели IC_{50} . Экстракты цветов акации, рябины и каштана восстанавливали флуоресценцию флуоресцеина до 98–100 % при концентрации образцов 10^3 – 10^{-2} %. Экстракты цветов сирени восстанавливали флуоресценцию флуоресцеина до 86–95 % при концентрации образцов 10^{-1} –1 %. Показатели IC_{50} экстрактов цветов акации, рябины и каштана находились в пределах $2 \div 5,3 \cdot 10^{-5}$ %, экстрактов цветов сирени – в пределах $1,26 \div 7,31 \cdot 10^{-4}$ %. Максимальная антиоксидантная активность определена для экстракта акации.

The comparative study of the antioxidant activity of extracts of flowers of acacia, rowan, chestnut and different types of lilac was made. The dependence of the fluorescence intensity of fluorescein from the logarithm of the concentration of extracts of flowers obtained, of which graphically determined indicators IC_{50} . Were received extracts of flowers of acacia, rowan and chestnut restored fluorescence of fluorescein to 98–100 % at a concentration of samples of 10^3 – 10^{-2} %. Extracts of lilac flowers restored the fluorescence of fluorescein to 86–95 % at a concentration of samples of 10^{-1} –1 %. The IC_{50} of extracts of flowers of acacia, rowan and chestnut were within $2 \div 5,3 \cdot 10^{-5}$ %, extracts of flowers of lilac – within $1.26 \div 7.31 \cdot 10^{-4}$ %. The maximum antioxidant activity for acacia extract is determined.

Ключевые слова: антиоксидантная активность, экстракты цветов акации, рябины, каштана и разных видов сирени, флуоресцеин.

Keywords: antioxidant activity, extracts of flowers of acacia, rowan, chestnut and different types of lilac, fluorescein.

Избыточная концентрация свободных радикалов в организме является центральным фактором риска сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний и других патологий. Флавоноиды обладают сильными антиоксидантными свойствами и могут использоваться для профилактики различных заболеваний. Биологически активные вещества, входящие в состав цветов акации, каштана, рябины и сирени, определяют их фармакологические свойства, что позволяет использовать их в качестве сырьевого источника для фармакологической промышленности. В цветках акации белой содержится гликозид робинин, а также ряд других флавоноидов [1]. В цветах рябины содержатся такие антиоксиданты, как гликозид кверцетина, рутин, кэмпферол, кофейная кислота и ее производные, изомеры хлорогеновой кислоты [2]. В цветах каштана содержится кверцетин, эпикатехин и кэмпферол, а также гликозиды кэмпферола, в частности ацилированный гликозид кэмпферола тилирозид [3]. Экстракты

цветов сирени содержат сиренгин и другие фенольные и гликозидные соединения, в частности, такие фенилпропаноидные соединения как актеозид и эхинакозид [4].

Проведено сравнительное исследование антиоксидантной активности (АОА) экстрактов цветов акации, рябины, каштана и 6 разных видов сирени. Метод определения АОА по отношению к активированным формам кислорода (АФК) основан на измерении интенсивности флуоресценции окисляемого соединения и ее уменьшении под воздействием АФК. В настоящей работе для детектирования свободных радикалов использован флуоресцеин, обладающий высоким коэффициентом экстинкции и близким к 1 квантовым выходом флуоресценции. Генерирование свободных радикалов осуществляли, используя систему Фентона, в которой образуются гидроксильные радикалы при взаимодействии комплекса железа (Fe^{2+}) с этилендиаминтетрауксусной кислотой (EDTA) и пероксида водорода [5]. При взаимодействии флуоресцеина со свободными радикалами происходит тушение его флуоресценции, восстановить которую можно при добавлении в систему веществ, проявляющих антиоксидантные свойства.

Приготовление спиртового экстракта из цветов различных видов исследуемых растений. Экстракты цветов готовили следующим образом: навески цветов сирени белой, сирени сиреневой, сирени темно- сиреневой, сирени темно-синей, сирени сиренево-белой, сирени бело-розовой, каштана, рябины и акации измельчали в электрической кофемолке. Из измельченного стандартизированного по размерам частиц сырья (0,1 г) экстрагировали 70 % этиловым спиртом в течение одного часа на водяной бане, затем экстрагировали 18 ч при комнатной температуре. Соотношение сырье (г): экстрагент (мл) составило – 1:10. После экстракции сырье пропускали через бумажный фильтр.

Приготовление раствора экстракта из цветов различных видов исследуемых растений. Концентрацию исходного раствора экстракта принимали за 100 %. Делали ряд разведений исходного раствора экстракта, концентрации которых составляли 10^{-10} – 10^{-8} %. Концентрации растворов экстракта в пробе уменьшались в 10 раз и составляли $1-10^{-9}$ %.

Методика определения антиоксидантной активности экстракта из из цветов различных видов исследуемых растений. Общий объем пробы, помещаемый в кювету составлял 2 мл. В кювету вносили 0,02 мл флуоресцеина (10^{-6} М) и 1,98 мл 0,1 М Na-фосфатного буфера. Прописывали спектр. Полученные значения пика флуоресценции принимали за 100 %.

В кювету вносили 0,02 мл флуоресцеина (10^{-6} М), 0,2 мл Fe^{2+} с ЭДТА (10^{-3} М), 1,58 мл 0,1 М Na-фосфатного буфера и 0,2 мл пероксида водорода (10^{-2} М). При взаимодействии Fe^{2+} с H_2O_2 (реакция Фентона) образующиеся радикалы подавляли свечение флуоресцеина. Полученные значения пика флуоресценции принимали за минимальное.

В кювету вносили 0,02 мл флуоресцеина (10^{-6} М), 0,2 мл Fe^{2+} с ЭДТА (10^{-3} М), 0,2 мл раствора экстракта цветов (10^{-8} – 10 %) и 1,38 мл 0,1 М Na-фосфатного буфера. Реакцию начинали добавлением 0,2 мл пероксида водорода (10^{-2} М).

Конечные концентрации: флуоресцеин – 10^{-8} М, Fe^{2+} – 10^{-4} М, ЭДТА – 10^{-4} М, H_2O_2 – 10^{-3} М, раствор экстракта цветов – 10^{-9} – 1 %.

Измерения флуоресценции проводили на флуориметре RF-5301 PC («Shimadzu», Япония). Регистрировали интенсивность флуоресценции на длине волны 514 нм. Длина волны возбуждения – 490 нм.

Для всех образцов получены зависимости интенсивности флуоресценции флуоресцеина от логарифма концентрации экстрактов цветов. На рис. 1 представлены зависимости интенсивности флуоресценции флуоресцеина от логарифма концентрации экстрактов цветов акации (1), рябины (2) и каштана (3). Исследования проведены в широком диапазоне концентраций 10^{-9} – 1 %. Образцы экстрактов цветов акации, рябины и каштана начинали проявлять АОА при концентрации 10^{-9} %. При последующем увеличении концентрации экстрактов цветов наблюдается увеличение подавления действия свободных радикалов и возрастание флуоресценции флуоресцеина до 98–100 % при очень малой концентрации образцов 10^{-3} – 10^{-2} %, что соответствует разведению исходного экстракта в 10^4 – 10^5 раз (табл. 1). Дальнейшее повышение концентрации экстракта вызывает тушение флуоресценции флуоресцеина. При высоких концентрациях флавоноидов, фенилпропаноидов и других соединений, обладающих антиоксидантной активностью и содержащихся в экстракте, радикальные продукты их окисления могут взаимодействовать с флуоресцеином и снижать его флуоресценцию.

Графически определены показатели IC_{50} – концентрация экстрактов цветов, при которой достигается 50 % ингибирования свободных радикалов. Самый низкий показатель IC_{50} ($2 \cdot 10^{-5}$ %) (табл. 1) получен при внесении образца экстракта цветов акации, что свидетельствует о его самой высокой антиоксидантной способности. Экстракт цветов рябины проявлял максимальную активность при концентрации $5 \cdot 10^{-3}$ %, что в 5 раз выше, а его показатель IC_{50} ($5 \cdot 10^{-5}$ %) в 2,5 раза выше, чем аналогичные показатели для экстракта цветов акации. Экстракт цветов каштана проявлял максимальную активность при концентрации 10^{-2} %, что в 5 и 10 раз выше, чем аналогичные показатели для экстрактов цветов рябины и акации соответственно. Показатель IC_{50} для экстракта цветов каштана ($5,3 \cdot 10^{-5}$ %) близок к аналогичному показателю для экстракта из цветов рябины и в 2,65 раза выше, чем аналогичный показатель для экстракта из цветов акации.

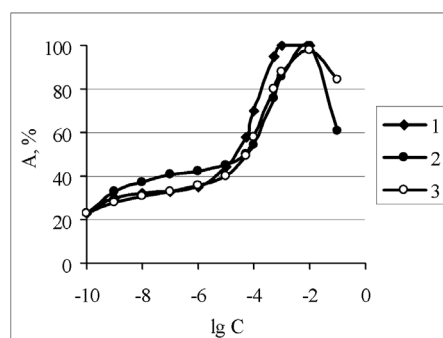


Рисунок 1 – Зависимость интенсивности флуоресценции флуоресцеина (A) от логарифма концентрации (C) экстрактов цветов акации (1), рябины (2) и каштана (3)

Таблица 1 – Показатели антиоксидантной активности соков экстракта цветов акации, рябины и каштана

Экстракт цветов	A_{\max} , %	C_{\max} , %	$IC_{50} \cdot 10^{-5}$, %
Акация	100	10^{-3}	2
Рябина	100	$5 \cdot 10^{-3}$	5
Каштан	98	10^{-2}	5,3

В цветках акации белой содержится гликозид робинин. В сушеных лепестках на стадии бутона робинина – 3,6 %, а в распустившихся цветках 1–1,5 % [1]. Кроме того, в цветках обнаружены бикробин, бикверцитин, а также жирное и эфирное масло, содержащее метиловый эфир антраниловой кислоты, индол, гелиотропин, бензиловый спирт, линалоол, α -терпинеол, сложные эфиры салициловой кислоты, метилантранилат, витамины, минералы, танины, гликозиды, сахара, органические кислоты. С помощью ультразвуковой экстракции цветов акации были найдены такие антиоксиданты, как галловая кислота, мирицитрин-3-рамнозид, кверцитрин-3-рамнозид, европетин-3-рамнозид, кемпферол-3-рамнозид, рамнетин-3-глюкозид и рамнетин-3-рамнозид.

Кверцетин является сильным антиоксидантом благодаря наличию 5 гидроксильных групп, входящих в его состав. Гликозид робинин является производным кверцетина, в состав которого входит 3 остатка сахара, благодаря которым количество гидроксильных групп увеличивается до 11, что способствует увеличению его антиоксидантной активности. Благодаря содержанию мирицитрин-3-рамнозида антиоксидантные свойства также могут быть усилены, так как в его состав входят 8 гидроксильных групп.

В цветах рябины содержатся такие антиоксиданты, как гликозид кверцетина, рутин, кэмпферол, кофейная кислота и ее производные, изомеры хлорогеновой кислоты [2]. В цветах каштана содержится кверцетин, эпикатехин и кэмпферол, а также гликозиды кэмпферола, в частности ацилированный гликозид кэмпферола тилирозид [3]. Остатки сахаров усиливают антиоксидантные свойства флавоноидов в их гликозидных производных. Очевидно, робинин, имеющий 3 гликозидных остатка, является наиболее сильным антиоксидантом, что подтверждается минимальными показателями C_{\max} и IC_{50} , полученными для экстракта из цветов акации. Рутин, имеющий в своем составе 2 гликозидных остатка, и гликозиды кверцетина и кэмпферола, а также хлорогеновая кислота, имеющие по одному гликозидному остатку, проявляют более слабые антиоксидантные свойства по сравнению с робинином, что подтверждается более высокими показателями C_{\max} и IC_{50} , полученными для экстракта из цветов рябины и каштана. Эпикатехин, содержащийся в цветах каштана, отличается от кверцетина отсутствием карбонильной группы в 4-ом положении кольца C, что приводит к снижению его антиоксидантной активности. Более низкая антиоксидантная активность флавоноидов и их гликозидов, содержащихся в экстрактах цветов каштана, подтверждается более высокими показателями C_{\max} и IC_{50} по сравнению с аналогичными показателями, полученными для экстрактов из цветов акации и рябины. Показатель C_{\max} , полученный для экстракта цветов каштана на порядок выше аналогичного показателя, полученного для экстракта из цветов акации, и в 2 раза выше C_{\max} , полученного для экстракта цветов рябины.

Образцы экстрактов цветов сирени также показали высокую антиоксидантную активность. Они восстанавливали флуоресценцию флуоресцеина до 86–95 % при малой концентрации образцов 10^{-2} –1 %, что соответствует разведению исходного экстракта в 10^2 – 10^4 раз (табл. 2). Положительный эффект при добавлении экстрактов проявлялся при его концентрации 10^{-7} % (разведение исходного экстракта в 10^9 раз).

Таблица 2 – Показатели антиоксидантной активности экстракта цветов сирени

Экстракт цветов сирени	A_{\max} , %	C_{\max} , %	$IC_{50} \cdot 10^{-4}$, %
Темно-сиреневая	95	10^{-2}	1,26
Белая	86	10^{-1}	1,51
Сиреневая	94	10^{-1}	2,14
Сиренево-белая	94	10^{-1}	6,58
Темно-синяя	90	10^{-1}	6,58
Бело-розовая	91	1	7,31

Максимальная АОА получена для экстракта цветов темно-сиреневой сирени. Подавление свободных радикалов до 95 % достигается при наименьшей концентрации 10^{-2} %. Показатель IC_{50} также минимален ($1,26 \cdot 10^{-4}$ %). Образцы 4 видов сирени: белой, сиреневой, сиренево-белой и темно-синей восстанавливали флуоресценцию флуоресцеина до 86–94 % при концентрации 10^{-1} %, что в 10 раз выше аналогичного показателя для экстрактов из цветов сирени темно-сиреневой. Образец экстракта сирени бело-розовой показал наименьшую АОА, восстанавливая флуоресценцию флуоресцеина до 91 % при концентрации 1 %, что в 10 раз выше аналогичных показателей образцов сирени белой, сиреневой, сиренево-белой и темно-синей и в 100 раз выше аналогичного показателя для экстракта из цветов сирени темно-сиреневой. Его показатель IC_{50} имеет максимальное значение ($7,31 \cdot 10^{-4}$ %), что свидетельствует о самой низкой антиоксидантной активности. Он в 1,1–5,8 раз превышает аналогичные показатели для экстрактов из цветов других видов сирени.

Сравнение АОА экстрактов цветов сирени по возрастанию интенсивности сиреневой цветовой гаммы (рис. 2) показывает уменьшение показателей C_{max} и IC_{50} (табл. 2). Можно предположить, что цветы более интенсивного сиреневого цвета (темно-сиреневые) содержат в своем составе более сильные антиоксиданты.

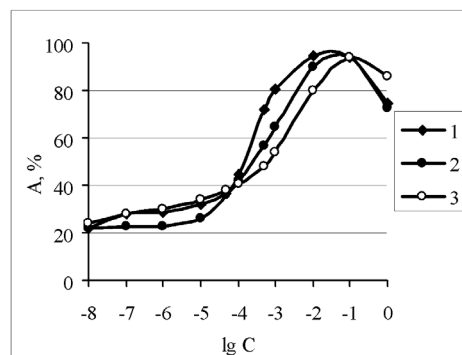


Рисунок 2 – Зависимость интенсивности флуоресценции флуоресцеина (A) от логарифма концентрации (C) экстрактов цветов сирени темно-сиреневой (1), сирени сиреневой (2) и сирени сиренево-белой (3)

Экстракты цветов сирени показали более низкую АОА по сравнению с экстрактами цветов акации, рябины и каштана. Антиоксидантная активность начинала проявляться при концентрации этих экстрактов на два порядка выше (10^{-7} %), чем концентрация экстрактов цветов акации, рябины и каштана (10^{-9} %). Показатель C_{max} для экстракта сирени темно-сиреневой на порядок выше аналогичного показателя для экстракта цветов акации. Показатель C_{max} для экстрактов сирени белой, сиреневой, сиренево-белой и темно-синей в 10–100 раз выше аналогичного показателя для экстракта цветов каштана и акации соответственно. Показатель C_{max} для экстрактов сирени бело-розовой в 100–1000 раз выше аналогичного показателя для экстракта цветов каштана и акации соответственно. Показатель IC_{50} для экстрактов сирени в 2,4–13,8 раз превышает показатель IC_{50} для экстрактов цветов каштана, в 2,5–14,6 раз превышает показатель IC_{50} для экстрактов цветов рябины и в 6,3–36,6 раз превышает показатель IC_{50} для экстрактов цветов акации. Очевидно, более низкое содержание фенольных и гликозидных соединений, входящих в состав экстрактов цветов сирени объясняет их более слабую антирадикальную активность по сравнению с экстрактами из цветов акации, рябины и каштана.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tung, Y. T. Ultrasound-assisted extraction of phenolic antioxidants from *Acacia confusa* flowers and buds/ Y. T. Tung [et al]// J Sep Sci. 2011. – Vol. 34. – No. 7. – P. 844–851.
2. Olszewska, M. A. In vitro antioxidant activity and total phenolic content of the inflorescences, leaves and fruits of *Sorbus torminalis* (L.) Crantz/ M.A. Olszewska // Acta Pol Pharm. – 2011. – Vol. 68. – No. 6. – P. 945–953.
3. Sapkota, K. Antioxidant and antimelanogenic properties of chestnut flower extract/ K. Sapkota [et al]// Biosci Biotechnol Biochem. – 2010. – Vol. 74. – No. 8. – P. 1527–1533.
4. Dudek, M. K. Hydroxycinnamoyl derivatives and secoiridoid glycoside derivatives from *Syringa vulgaris* flowers and their effects on the pro-inflammatory responses of human neutrophils / M. K. Dudek [et al]// Fitoterapia. – 2017. – Vol. 121. – P. 194–205.
5. Cao, G. H. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants / G. H. Cao, H. M. Alessio, R. G. Cutler // Free Radicals In Biology And Medicine. – 1993. – Vol. 3. – № 14. – P. 303–311.