

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АНТИОКСИДАНТНОЙ И АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ В ЛИСТЬЯХ И ЧЕРЕШКАХ МОРОШКИ ПРИЗЕМИСТОЙ (*RUBUS CHAMAEMORUS L.*)

Страх Я.Л., Игнатовец О.С.

*Учреждение образования «Белорусский государственный
технологический университет»,
г. Минск, Республика Беларусь*

Резюме. В работе представлены результаты по сравнительному анализу антиоксидантной и антирадикальной активности в листьях и черешках морошки приземистой (*Rubuschamaemorus L.*) произрастающей в Беларуси. Сделан вывод о высокой антиоксидантной активности экстрактов, полученных из листовых пластинок.

Введение. Морошка приземистая — реликтовое растение, редкое для Республики Беларусь, обладающее большим потенциалом для использования в целях рекультивации почв, а также обладает конкурентоспособным биопотенциалом, имеющим спрос в фармацевтической, парфюмерно-косметической и пищевой промышленности. Целью данной работы являлось изучение и сравнительный анализ антиоксидантной и антирадикальной активности листовых пластинок и черешков *Rubus chamaemorus L.* Объектами исследований являлись листовые пластинки и черешки морошки приземистой (место сбора — Республика Беларусь, Нащпарк «Нарочанский», Мядельский р-н, Минская обл.)

Материалы и методы исследования. Экстракт получали методом трехкратной дробной экстракции. Навеску растительного сырья растирали в ступке с добавлением небольшого количества экстрагента 1-й концентрации. В качестве экстрагента использовали этиловый спирт следующих параметров: $V_1, 96\% = 20$ мл, $V_2, 70\% = 15$ мл, $V_3, 40\% = 15$ мл. Измельченное растительное сырье количественно переносили в круглодонную колбу и вносили оставшуюся порцию экстрагента. Экстракцию проводили при кипячении в течение 45 мин каждой порции экстрагента. Далее извлечения объединяли, фильтровали и направляли на стадию упаривания под вакуумом при температуре 40 °С с помощью роторного испарителя (IKA RV 8, Германия). Для дальнейших исследований упаренный экстракт растворяли в 20 мл 70 % этилового спирта.

Общая антиоксидантная активность. Общая антиоксидантная активность была оценена фосфомолибденовым методом [1].

К 1 мл экстракта различных концентраций вносили 1 мл раствора 0,6 М серной кислоты, 1 мл раствора 28 мМ фосфата натрия и 1 мл раствора 4 мМмолибдата аммония. Пробирки с крышкой инкубировали в термостате при 95 °С в течение 90 минут. После охлаждения до комнатной температуры измеряли оптическую плотность на спектрофотометре Specord 200 PLUS (Analytik Jena, Германия) при 695 нм по отношению к холостому образцу. Активность сравнивали с аскорбиновой кислотой (1,7 мМ раствором) в качестве стандарта.

Общая антиоксидантная активность рассчитывалась по следующему уравнению:

$$\% \text{ от общей антиоксидантной емкости} = ((A_{\text{контр}} - A_x) / A_{\text{контр}}) \cdot 100\%,$$

где $A_{\text{контр}}$ — это абсорбция контроля, A_x — это абсорбция образца.

Спектрофотометрическое определение ингибирования гидроксильных радикалов (ОН) [2].

Гидроксильные радикалы были получены с помощью реакции Фентона (Fe^{2+} — ЭДТА- H_2O_2 -системы). Антирадикальную способность по отношению к гидроксильным радикалам измеряли с помощью дезоксирибозного метода. Реакционная смесь содержала 0,5 мл 2-дезоксирибозы (2,8 мМ), 0,5 мл фосфатного буфера (PBS, pH 7,4), 0,15 мл раствора железа сульфата в ЭДТУ (10 мМ FeSO_4 , 10 мМ ЭДТА) и 0,15 мл перекиси водорода (10 мМ), и 50 мкл исследуемых экстрактов, окончательный объем реакционной смеси 1 мл. Смесь инкубировали в течение 4 ч при 37 °С. После инкубации реакцию останавливали 0,8 мл 2,8 % раствора трихлорукусной кислоты, после чего добавляли 0,8 мл раствора тиобарбитуровой кислоты (1 % раствор в 50 мМ гидроксид натрия).

Нагревали 10 мин на водяной бане, после охлаждения пробы фильтровали и измеряли оптическую плотность при 520 нм. В качестве стандартного раствора использовали 0,05%-й раствор галловой кислоты.

Антирадикальную активность рассчитывали по формуле

$$\% \text{ ингибирования} = ((A_{\text{контр}} - A_x) / A_{\text{контр}}) \cdot 100\%.$$

Спектрофотометрический метод измерения NO ингибирующей активности [3].

Метод основан на измерении концентрации оксида азота (NO), сгенерированного нитропруссидом натрия, по реакции с реактивом Грисса. Реакционную смесь, состоящую из 0,3 мл 5 мМ раствора нитропрussa натрия в фосфатно-солевом буфере (PBS, pH 7,4) и 0,5 мл исследуемого экстракта инкубировали при температуре 25 °С в течение 5 ч. Параллельно готовили контрольный раствор, состоящий из 0,3 мл 5 мМ раствора нитропрussa натрия в фосфатно-солевом буфере (PBS, pH 7,4) и 0,5 70%-го этилового спирта. После инкубирования к реакционной смеси добавляли 0,5 мл раствора реактива Грисса (10 % раствор в 12 % растворе укусной кислоты) и 3 мл воды. Пробы фильтровали и измеряли оптическую плотность полученного раствора при длине волны 540 нм. Антирадикальную активность рассчитывали по формуле

$$\% \text{ ингибирования} = ((A_{\text{контр}} - A_x) / A_{\text{контр}}) \cdot 100\%.$$

Результаты исследования и их обсуждение. В таблице 1 представлены результаты исследований антиоксидантной и антирадикальной активности листьев и черешков морошки приземистой.

Таблица 1 — Антиоксидантная и антирадикальная активность листьев и черешков морошки приземистой

Метод, единицы измерения	Листовые пластинки	Черешки
Общая антиоксидантная активность, % от общей антиоксидантной емкости	52,23 ± 1,76	25,94 ± 0,96
Ингибирования гидроксильных радикалов (ОН), % ингибирования	9,76 ± 0,85	(-29,48 ± 0,92)*
NO ингибирующей активность, % ингибирования	(-12,83 ± 0,34)*	(-24,62 ± 0,51)*

Примечание. *Общая антиоксидантная активность экстрактов меньше активности 0,05%-го раствора галловой кислоты.

Из представленной таблицы видно, что антиоксидантная и антирадикальная активность проявляется в большей степени для экстрактов листовых пластинок, чем черешков. Данный факт может объясняться содержанием фенольных соединений в различных частях морошки приземистой. Как следует из литературных данных, указанные соединения преобладают в составе листьев и цветочной массе [4].

Заключение. Полученные результаты могут быть использованы для создания новых фитопрепаратов из растительного сырья, обладающих антиоксидантным действием.

Результаты данных исследований позволяют рассматривать листовые пластинки морошки приземистой в качестве перспективного источника антиоксидантных компонентов для косметической, пищевой, фармацевтической промышленности.

Список литературы

1. Wound Healing Studies of *Aristolochia Bracteolata* Lam. With Supportive Action of Antioxidant Enzymes / A. Shirwaikar [et al.] // *J. Phytomedicine*. — 2003. — Vol. 10. — P. 558–562.
2. Madhu, C.S. New-vista in finding antioxidant and anti-inflammatory property of crude protein extract from *Sauropus androgynus* leaf / C.S. Madhu, H.M. Manukumar, B. Puttalingaiah // *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* — 2014. — Vol. 13, № 4. — P. 375–383.
3. Rahini, D. In-vitro antioxidant activity of *Artabotrys hexapetalus* / D. Rahini, R. Anuradha // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* — 2014. — Vol. 5, № 2. — P. 396–405.
4. Антиоксидантная и антирадикальная активность in vitro экстрактов травы *Sanguisorba officinalis* L., собранной в различные фазы развития / Е.М. Мальцева [и др.] // *Медицина в Кузбассе*. — 2017. — Т. 16, № 2. — С.32–38.

COMPARATIVE ANALYSIS OF ANTIOXIDANT AND ANTIRADICAL ACTIVITIES IN THE LEAVES AND PETIOLES OF CLOUDBERRY (*RUBUS CHAMAEMORUS* L.)

Strakh Ya.L., Ignatovets O.S.

*Belarusian State Technological University,
Minsk, Republic of Belarus*

Summary. The paper presents the results of a comparative analysis of antioxidant and antiradical activities in the leaves and petioles of cloudberries (*Rubus chamaemorus* L.) growing in Belarus. The conclusion is made about high antioxidant activity of the extracts obtained from leaf blades.