

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.136.29>

АНТИОКСИДАНТЫ ПЛОДОВ ИРГИ КРУГЛОЛИСТНОЙ (*AMELANCHIER OVALIS* MEDIKUS)

Научная статья

Тихомирова Т.И.¹, Андреева О.А.², Червонная Н.М.³, Аджиахметова С.Л.⁴*

³ORCID : 0000-0001-6924-8563;

⁴ORCID : 0000-0001-9685-1384;

^{1, 2, 3, 4} Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Волгоградского государственного медицинского университета, Пятигорск, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (similla503[at]mail.ru)

Аннотация

В ходе работы было определено суммарное содержание антиоксидантов, флавоноидов и антоцианов. Амперометрическим методом установлены оптимальные экстрагенты: вода очищенная и спирт этиловый 50%. Максимальное содержание флавоноидов – производных 2-фенил-4Н-1-бензопиранона-4 в анализируемых извлечениях достигается экстракцией сырья 50% спиртом этиловым и составляет 0,252±0,005%. Лучшими экстрагентами для выделения антоцианов являются спирт этиловый – 50% и 60%. Содержание суммы антоцианов в плодах ирги обыкновенной, в пересчёте на цианидин-3-О-гликозид, составило 0,339±0,003%. Высокое содержание общего количества антиоксидантов в водном извлечении может объясняться содержанием в плодах и других веществ с антиоксидантной активностью.

Ключевые слова: ирга круглолистная, антиоксидантная активность, флавоноиды, антоцианы.

ANTIOXIDANTS OF FRUITS OF *AMELANCHIER OVALIS* MEDIKUS

Research article

Tikhomirova T.I.¹, Andreeva O.A.², Chervonnaya N.M.³, Adzhiakhmetova S.L.⁴*

³ORCID : 0000-0001-6924-8563;

⁴ORCID : 0000-0001-9685-1384;

^{1, 2, 3, 4} Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, Russian Federation

* Corresponding author (similla503[at]mail.ru)

Abstract

During the work, the total content of antioxidants, flavonoids and anthocyanins was determined. The optimal extractants were determined by the amperometric method: purified water and ethyl alcohol 50%. The maximum content of flavonoids – derivatives of 2-phenyl-4H-1-benzopyranone-4 in the analyzed extracts is achieved by extraction of raw materials with 50% ethyl alcohol and is 0.252±0.005%. The best extractants for isolating anthocyanins are ethyl alcohol – 50% and 60%. The content of the sum of anthocyanins in fruits of *Amelanchier ovalis*, in terms of cyanidin-3-O-glycoside, was 0.339±0.003%. The high content of the total amount of antioxidants in the water extract can be explained by the content of other substances with antioxidant activity in fruits.

Keywords: *Amelanchier ovalis*, antioxidant activity, flavonoids, anthocyanins.

Введение

В последнее время появляются всё новые доказательства, свидетельствующие о решающей роли активных форм кислорода в преждевременном старении организма и возникновении различных заболеваний, в том числе атеросклерозе, болезни Альцгеймера и особенно раке. Основным химическим процессом, приводящим к образованию свободных радикалов и инициирующим цепные реакции, вызывающие повреждение клеток, является окисление. Снизить негативные последствия окислительного стресса в значительной степени помогают природные антиоксиданты, содержащиеся в плодах многих растений и, особенно, ягодах [1].

Изучение количественного содержания антиоксидантов в плодах ирги круглолистной (*Amelanchier ovalis* Medikus, 2022 г.), семейства Розоцветные (Rosaceae), выращенной в ботаническом саду Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ, явилось целью работы. Плоды ирги представляют собой шаровидные яблочки, фиолетового цвета с сизым налётом, диаметром – около 1 см. В народной медицине они применяются при лечении гипертонии, печени, почек, некоторых воспалительных заболеваниях, в том числе горла, улучшении общего самочувствия [2].

Методы и принципы исследования

Для исследования были использованы плоды *A. ovalis*, которые подвергались теневой сушке и хранившиеся в тёмном месте в течение полугода.

Определение суммарного содержания антиоксидантов. Амперометрическим методом на жидкостном хроматографе определяли суммарное содержание антиоксидантов. Для расчета использовали градуировочный график зависимости выходного сигнала от концентрации кверцетина и галловой кислоты [3], [4], [5], [6].

Количественное определение флавоноидов (производных 2-фенил-4Н-1-бензопиранона-4) проводили спектрофотометрическим методом. В расчетах использовали величину удельного показателя поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом, так как анализируемые извлечения в присутствии 2% спиртового раствора алюминия хлорида, имеют максимальное поглощение при длине волны 415 ± 2 нм [7], [8].

По формуле 1 вычисляли содержание суммы флавоноидов в процентах (X) в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье:

$$X = \frac{A \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{A_{\text{см}}^{1\%} \cdot a \cdot 2 \cdot (100 - W)}, \quad (1)$$

где A – оптическая плотность исследуемого раствора; $A_{\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом при длине волны 415 ± 2 нм, равный 248; a – навеска сырья, г; W – влажность сырья, % [8].

Количественное содержание суммы антоцианов устанавливали прямой спектрофотометрией с использованием методики, приведённой в фармакопейной статье «Черники обыкновенной плоды» [8].

Выбор оптимального экстрагента проводили хроматографически, методами тонкослойной и бумажной видами хроматографии. С этой целью девять проб сырья массой около 2 г каждая в течение 10 минут растирали в ступке с 10 мл спирта этилового различной концентрации: 90% (Сп. 90%), 80%, 70% (Сп. 70%), 60%, 50% (Сп. 50%), 40%, 30%, 20% и водой очищенной (ВО), содержащих 1% HCl. Извлечения фильтровали через бумажный фильтр. Объём каждой пробы доводили соответствующим растворителем до 10 мл. Использовали хроматографические пластинки «Силуфол УФ-254», и бумагу для хроматографии марки FN 7 Германия. С помощью микропипетки на бумажную хроматограмму наносили по 50 мкл, а на тонкослойную по 20 мкл каждой испытуемой пробы. Элюирование проводили в системе *n*-бутанол – кислота уксусная ледяная – вода (БУВ) (4:1:2).

Далее готовили раствор А. С этой целью точную навеску сырья, помещённую в колбу на 250 мл, экстрагировали в течение 60 минут на водяной бане 50 мл спирта этилового 60%, содержащего 1% кислоты хлористоводородной. Раствор А объёмом 1 мл применяли для получения раствора Б. Использовали мерную колбу на 25 мл. Объём раствора до метки доводили 95%-ным спиртом этиловым, содержащим хлористоводородную кислоту 1%.

Сумму антоцианов в процентах (X) рассчитывали в пересчете на цинидин-3-О-гликозид в абсолютно-сухом сырье и вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100}{A_{\text{см}}^{1\%} \cdot a \cdot 1 \cdot (100 - W)}, \quad (2)$$

где: A – оптическая плотность раствора Б; $A_{\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения цинидин-3-О-гликозида при длине волны 546 нм, равный 600; a – навеска сырья, г; W – влажность, %.

Результаты и обсуждение

В анализируемых извлечениях суммарное содержание антиоксидантов определяли амперометрическим методом. Оптимальными экстрагентами являются вода очищенная и спирт этиловый 50% (таблица 1).

Таблица 1 - Суммарное содержание антиоксидантов в извлечениях из плодов *A. ovalis*

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.136.29.1>

Экстрагенты		Сп. 90%	Сп. 70%	Сп. 50%	ВО
Кратность разбавления		–	–	–	2
Содержание антиоксидантов, мг/г (n=6) в пересчете на	кверцетин	0,146±0,003	0,296±0,003	0,430±0,003	0,642±0,006
	галловую кислоту	0,091±0,003	0,191±0,003	0,280±0,003	0,563±0,004

Анализ данных, представленных в таблице 2, позволил сделать вывод, что наилучшим экстрагентом флавоноидов – производных 2-фенил-4Н-1-бензопиранона-4 является спирт этиловый 50%. Время стабилизации оптической плотности от 30 до 40 мин.

Таблица 2 - Содержание суммы производных 2-фенил-4Н-1-бензопиранона-4 в плодах *A. ovalis*

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.136.29.2>

Экстрагенты	Сп. 90%	Сп. 70%	Сп. 50%	ВО
Содержание флавоноидов, % (n=6)	0,158±0,004	0,167±0,006	0,252±0,005	0,179±0,004

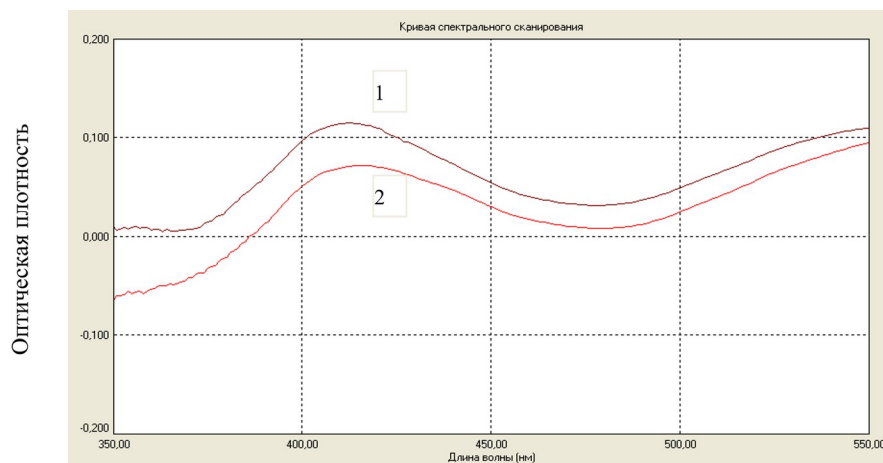


Рисунок 1 - УФ-спектры поглощения комплексов извлечений полученных экстракцией плодов *A. ovalis* 50% спиртом этиловым (1) и водой очищенной (2) с 2% спиртовым раствором алюминия хлорида
DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.136.29.3>

Результаты изучения хроматографического поведения антоцианов показали, что как на тонкослойной, так и на бумажной хроматограммах наблюдались зоны адсорбции, соответствующие веществам антоциановой природы: одна очень яркая розового цвета, коэффициенты подвижности равны для ТСХ – 0,47 и БХ – 0,48; другая очень слабая зона фиолетового цвета с коэффициентом подвижности 0,36 при использовании ТСХ и 0,38 – БХ. Наиболее интенсивными являлись зоны адсорбции извлечений полученных экстракцией плодов ирги 60% и 50% спиртом этиловым.

В УФ-спектре поглощения извлечения, полученного экстракцией воздушно-сухих плодов ирги обыкновенной спиртом этиловым 60% в кислой среде, зафиксированы два максимума поглощения характерных для антоцианов при 544 ± 2 нм и 281 ± 2 нм.

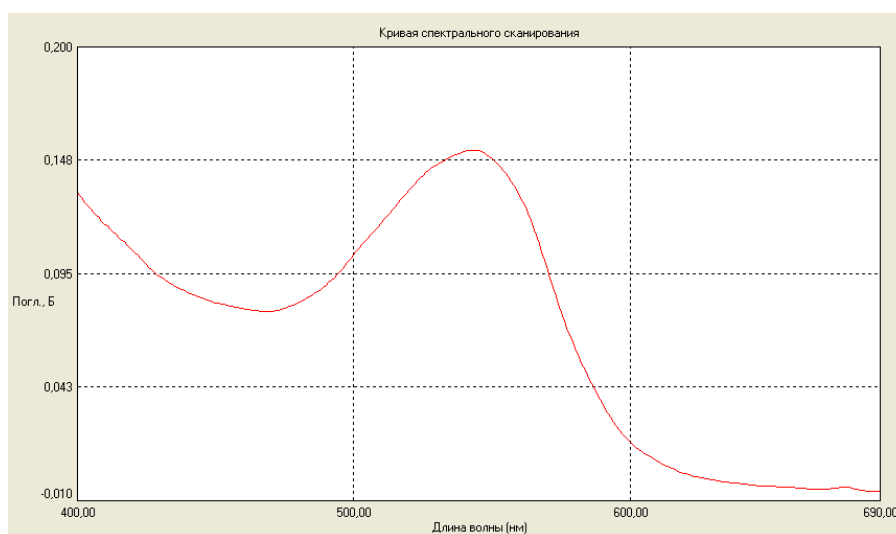


Рисунок 2 - УФ-спектр поглощения извлечения из плодов *A. ovalis* в области 544 ± 2 нм – экстрагент спирт этиловый 60% в кислой среде
DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.136.29.4>

Содержание суммы антоцианов в плодах *A. ovalis* в пересчёте на цианидин-3-О-гликозид составило $0,339 \pm 0,003\%$ (экстрагент – спирт этиловый 60%).

На основании поведения основного антоциана, содержащегося в плодах *A. ovalis* на хроматограммах и его спектральных характеристик, можно предварительно отнести его к гликозиду мальвидина [9], [10], [11].

Заключение

1. Высушенные теневой сушкой и хранившиеся в течение полугода плоды *A. ovalis* могут являться источником выделения из них ряда биологически активных веществ – известных антиоксидантов: флавоноидов – производных 2-фенил-4Н-1-бензопиранона-4 и антоцианов;

2. Спирт этиловый 50% и 60% являются лучшими экстрагентами для выделения производных 2-фенил-4Н-1-бензопиранона-4 и антоцианов;

3. Известно, что при амперометрическом методе обнаружения одним из преимуществ является высокая селективность. Высокое содержание общего количества антиоксидантов в водном извлечении может объясняться

содержанием в плодах и других веществ с антиоксидантной активностью. Возможно, это связано с наличием дубильных веществ, ароматических гидроксикислот, витаминов С и Е, которые тоже могут окисляться [4], [5].

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Сообщество рецензентов Международного научно-исследовательского журнала
DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.136.29.5>

Conflict of Interest

None declared.

Review

International Research Journal Reviewers Community
DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.136.29.5>

Список литературы / References

1. Корулькин Д.Ю. Природные флавоноиды / Д.Ю. Корулькин, Ж.А. Абилов, Р.А. Муzychкина [и др.]. — Новосибирск: Гео, 2007. — 232 с.
2. Лаксаева Е.А. Плоды растений рода Ирги (*Amelanchier Medic*) как источник биологически активных веществ и минералов / Е.А. Лаксаева // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. — 2018. — Т. 26. — № 2. — С. 296-304. — DOI: 10.23888/PAVLOVJ2018262296-304.
3. Пат. 2238554 Российская Федерация, МПК G01 N33/15 N27/26. Способ определения суммарной антиоксидантной активности биологически активных веществ / Пахомов В.П., Яшин Я.И., Яшин А.Я. [и др.]; заявитель и патентообладатель ЗАО "АП Химавтоматика", Проблемная лаборатория по разработке, изучению, внедрению, производству и маркетингу лекарственных средств РАМН. — № 2003123072/15; заявл. 25.07.03; опубл. 20.10.04, Бюл. № 15. — 3 с.
4. Яшин А.Я. Прибор для определения антиоксидантной активности растительных лекарственных экстрактов и напитков / А.Я. Яшин, Я.И. Яшин // Журн. междунар. информационная система по резонансным технологиям. — 2004. — № 34. — С. 10-14.
5. Яшин А.Я. Инжекционно-проточная система с амперометрическим детектором для селективного определения антиоксидантов в пищевых продуктах и напитках / А.Я. Яшин // Рос. хим. журн. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева. — 2008. — № 2. — С. 130-135.
6. Аджахметова С.Л. Антиоксидантная активность экстрактов из листьев, плодов и стеблей крыжовника отклоненного (*Grossularia reclinata* (L.) Mill.) / С.Л. Аджахметова // Фундаментальные исследования. — 2013. — № 10(6). — С. 1297-1301. — URL: <http://www.rae.ru/fs/pdf/2013/10-6/32535> (дата обращения: 19.07.2023).
7. Поздняков Д.И. Сравнительное изучение фенольного состава и антиоксидантной активности полупаразита *Viscum album* L. и листьев растений-хозяев *Malus domestica* BORKH., *Rugus communis* L. / Д.И. Поздняков, С.Л. Аджахметова, Н.М. Червонная [и др.] // Химия растительного сырья. — 2023. — № 1. — С. 287-296.
8. Государственная фармакопея РФ. XIV изд. В 4 т. — М.: Министерство здравоохранения РФ, 2018. — URL: <https://femb.ru/record/pharmacopea14> (дата обращения: 19.07.2023).
9. Рязанова Т.К. Фармакогностическое исследование плодов и побегов черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.): автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук : 14.04.02 / Т.К. Рязанова. — Самара, 2014. — 24 с.
10. Пат. 2557953 Российская Федерация, МПК G01 N33/15. Способ количественного определения антоцианов в лекарственном растительном сырье / Куркин В.А., Рязанова Т.К., Куркина А.В. [и др.]; заявитель и патентообладатель Самарский государственный медицинский университет. — № 2013155140/15; заявл. 11.12.13; опубл. 27.07.15, Бюл. № 21. — 13 с.
11. Juríková T. Flavonoid Profile of Saskatoon Berries (*Amelanchier alnifolia* Nutt.) and Their Health Promoting Effects. Review / T. Juríková, S. Balla, J. Sochor [et al.] // *Molecules*. — 2013. — № 18. — P. 12571-12586. — DOI: 10.3390/molecules181012571.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Korul'kin D.Ju. Prirodnye flavonoidy [Natural Flavonoids] / D.Ju. Korul'kin, Zh.A. Abilov, R.A. Muzychkina [et al.]. — Novosibirsk: Geo, 2007. — 232 p. [in Russian]
2. Laksaeva E.A. Plody rastenij roda Irgi (*Amelanchier Medic*) kak istochnik biologicheski aktivnyh veshhestv i mineralov [Fruits of Plants of the Genus Irga (*Amelanchier Medic*) as a Source of Biologically Active Substances and Minerals] / E.A. Laksaeva // Rossijskij mediko-biologicheskij vestnik imeni akademika I.P. Pavlova [Russian Medical and Biological Bulletin named after Academician I.P. Pavlov]. — 2018. — Vol. 26. — № 2. — P. 296-304. — DOI: 10.23888/PAVLOVJ2018262296-304. [in Russian]
3. Pat. 2238554 Russian Federation, Int. Cl. G01 N33/15 N27/26. Sposob opredelenija summarnoj antioksidantnoj aktivnosti biologicheski aktivnyh veshhestv [Method for Determination of Total Antioxidant Activity of Biologically Active Substances] / Pahomov V.P., Jashin Ja.I., Jashin A.Ja. [et al.]; applicant and patentee CJSC "AP Khimavtomatika", Problem laboratory for the development, study, implementation, production and marketing of medicines of the Russian Academy of Medical Sciences. — № 2003123072/15; appl. 25.07.03; pub. 20.10.04, Bul. № 15. — 3 p. [in Russian]
4. Jashin A.Ja. Pribor dlja opredelenija antioksidantnoj aktivnosti rastitel'nyh lekarstvennyh jekstraktov i napitkov [Instrument for the Determination of Antioxidant Activity of Herbal Medicinal Extracts and Beverages] / A.Ja. Jashin, Ja.I. Jashin // Zhurn. mezhdunar. informacionnaja sistema po rezonansnym tehnologijam [Journal of International Information System on Resonance Technologies]. — 2004. — № 34. — P. 10-14. [in Russian]

5. Jashin A.Ja. Inzhektionno-protochnaja sistema s ampermetricheskim detektorom dlja selektivnogo opredelenija antioksidantov v pishhevyh produktah i napitkah [Injection-flow System with Amperometric Detector for Selective Determination of Antioxidants in Food and Beverages] / A.Ja Jashin // Ros. him. zhurn. Ros. him. ob-va im. D.I. Mendeleeva [Russian Chemical Journal of the D.I. Mendeleev Russian Chemistry Society]. — 2008. — № 2. — P. 130-135. [in Russian]
6. Adzhiahmetova S.L. Antioksidantnaja aktivnost' jekstraktov iz list'ev, plodov i stebelj kryzhovnika otklonennogo (*Grossularia reclinata* (L.) Mill.) [Antioxidant Activity of Extracts from Leaves, Fruits and Stems of Gooseberry (*Grossularia reclinata* (L.) Mill.)] / S.L. Adzhiahmetova // Fundamental'nye issledovaniya [Fundamental Research]. — 2013. — № 10(6). — P. 1297-1301. — URL: <http://www.rae.ru/fs/pdf/2013/10-6/32535> (accessed: 19.07.2023). [in Russian]
7. Pozdnjakov D.I. Sravnitel'noe izuchenie fenol'nogo sostava i antioksidantnoj aktivnosti poluparazita *Viscum album* L. i list'ev rastenij-hozjaev *Malus domestica* BORKH., *Pyrus communis* L. [Comparative Study of the Phenolic Composition and Antioxidant Activity of the Semiparasite *Viscum album* L. and Leaves of Host Plants *Malus domestica* BORKH., *Pyrus communis* L.] / D.I. Pozdnjakov, S.L. Adzhiahmetova, N.M. Chervonnaja [et al.] // Himija rastitel'nogo syr'ja [Chemistry of Plant Raw Material]. — 2023. — № 1. — P. 287-296. [in Russian]
8. Gosudarstvennaja farmakopeja RF. XIV izd. V 4 t. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition. In 4 volumes]. — M.: Ministry of Health of the Russian Federation, 2018. — URL: <https://femb.ru/record/pharmacopea14> (accessed: 19.07.2023). [in Russian]
9. Rjzanova T.K. Farmakognosticheskoe issledovanie plodov i pobegov cherniki obyknovnoj (*Vaccinium myrtillus* L.) [Pharmacognostic Study of Fruits and Shoots of Common Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.)] : diss. abst. ... PhD in Pharmaceutical Sciences : 14.04.02 / T.K. Rjzanova. — Samara, 2014. — 24 p. [in Russian]
10. Pat. 2557953 Russian Federation, Int. Cl. G01 N33/15. Sposob kolichestvennogo opredelenija antocianov v lekarstvennom rastitel'nom syr'e [Method for Quantitative Determination of Anthocyanins in Medicinal Plant Raw Materials] / Kurkin V.A., Rjzanova T.K., Kurkina A.V. [et al.]; applicant and patentee Samara State Medical University. — № 2013155140/15; appl. 11.12.13; publ. 27.07.15, Bul. № 21. — 13 p. [in Russian]
11. Juríková T. Flavonoid Profile of Saskatoon Berries (*Amelanchier alnifolia* Nutt.) and Their Health Promoting Effects. Review / T. Juríková, S. Balla, J. Sochor [et al.] // *Molecules*. — 2013. — № 18. — P. 12571-12586. — DOI: 10.3390/molecules181012571.