

ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОГО ПОТЕНЦИАЛА 3,4-ДИГИДРОКСИБЕНЗОЙНОЙ И ГАЛЛОВОЙ КИСЛОТ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КОПЕЕЧНИКА ЗАБЫТОГО *HEDYSARUM NEGLECTUM*

А.Х. Бахтиярова*, О.О. Бабич*, В.В. Ларина*

*ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Аннотация

Растение копеечник забытый (*Hedysarum neglectum*) давно известно своими полезными свойствами, в том числе и антиоксидантными. В ходе работы были подобраны оптимальные параметры экстракции копеечника забытого и исследован метаболомный состав его экстрактов. Произведён подбор параметров выделения индивидуальных биологически активных веществ (БАВ). Были получены галловая и 3,4-дигидроксибензойная кислота. Они проявили высокую антиоксидантную активность (АОА).

Ключевые слова: биологически активные вещества, антиоксидантная активность, копеечник забытый, экстракция, фенольные кислоты.

Ни для кого не секрет, что из-за чрезмерного образования свободных радикалов происходит повреждение клеток и тканей организма. С возрастом эти процессы становятся интенсивнее и накопление окислительного стресса приводит к развитию патологий и ускоренному старению. Чтобы препятствовать этому, нужно усилить антиоксидантную систему, получая необходимые активные вещества с пищей и БАДами [1, 2]. Копеечник забытый активно используется в народной медицине и, согласно литературному описанию, может содержать БАВ, обладающие антиоксидантной активностью [2, 3]. Поэтому целью данной работы стал подбор параметров экстракции копеечника забытого (*Hedysarum neglectum*) и скрининг его антиоксидантного потенциала.

С целью анализа содержания вторичных метаболитов фенольной природы в копеечнике забытом (*Hedysarum neglectum*) на первом этапе проводили подбор параметров экстракции. Для этого проводили экстракцию при различных значениях pH. Для создания кислой и щелочной сред использовались трифторуксусная кислота (ТФУ) и гидроксид натрия соответственно. В результате растительные экстракты изучаемых лекарственных растений получены тремя способами: экстракция метанолом по методу Сокслета (8 часов); экстракция метанолом в среде 0,1 н гидроксида натрия методом мацерации (pH=12,5); экстракция метанолом в среде 0,1 н трифторуксусной кислоты методом мацерации (pH=1,2). Экстракция по методу Сокслета проходила при температуре кипения растворителя.

Далее проводился скрининг метаболомного состава полученных экстрактов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Идентификация компонентов проводилась по временам удержания и спектрам индивидуальных стандартных веществ. Таким образом было установлено, что наибольшее содержание метаболитов в составе имеет экстракт, полученный методом мацерации метанольным раствором трифторуксусной кислоты. Его основными компонентами были галловая кислота (140 мг/кг), 3,4-дигидроксибензойная кислота (36 мг/кг) и катехин (16 мг/кг). В меньших количествах в экстракте были обнаружены хлорогеновая, феруловая и цикориевая кислоты, а также были идентифицированы рутин и кверцетин-3D-глюкозид. В отличие от экстракта, полученного в кислой среде, экстракт метанольным раствором щелочи содержал низкое количество метаболитов, были идентифицированы только феруловая кислота (2 мг/кг) и следовые количества катехина, п-кумаровой и 3,4-дигидроксибензойной кислот. В составе образца, полученного метанолом на экстракторе Сокслета присутствовали в небольших количествах глюкозиды лютеолина (3

мг/кг), апигенина (3 мг/кг) и кверцетина (3 мг/кг), а также акадетин (4 мг/кг).

Следующим этапом работ было выделение БАВ в индивидуальном виде. Основываясь на данных ВЭЖХ, для этого был выбран экстракт, полученный мацерацией метанолом с добавлением ТФУ. В результате фракционирования удалось получить 3,4-дигидроксибензойную и галловую кислоты, которые, согласно литературным источникам, могут оказывать на организм положительный эффект и обладают рядом полезных свойств, таких как противораковые, антидиабетические, противовоспалительные и антиоксидантные [4, 5].

Для исследования АОА индивидуальных БАВ анализировали способность образцов улавливать свободные радикалы DPPH и ABTS, а также по восстанавливающей силе при взаимодействии с ионами Fe^{3+} . Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1

Результаты скрининга АОА индивидуальных веществ, выделенных из копеечника забытого (*Hedysarum neglectum*)

Вещество	Ммоль экв. тролокса/г		
	ABTS	DPPH	FRAP
3,4-дигидроксибензойная кислота	7,86 ± 0,46	6,34 ± 0,31	2,31 ± 0,13
Галловая кислота	11,39 ± 0,42	8,38 ± 0,31	4,38 ± 0,14

Галловая кислота превосходит 3,4-дигидроксибензойную по антиоксидантной активности. По отношению к радикалам ABTS, DPPH и FRAP она составила 11,39 ммоль экв. Тролокса/г, 8,38 ммоль экв. Тролокса/г, и 4,38 ммоль экв. Тролокса/г соответственно. В то время как значения активности 3,4-дигидроксибензойной кислоты варьировались от 2,31 до 7,86 ммоль экв. Тролокса/г в зависимости от метода исследования. Это обусловлено прямой корреляцией между количеством гидроксильных групп в молекуле фенольной кислоты и ее антиоксидантной активностью: за счет наличия трех гидроксильных групп галловая кислота (3,4,5-тригидроксибензойная кислота) проявляет более высокую антиоксидантную активность по сравнению с 3,4-дигидроксибензойной кислотой [5].

Таким образом, в ходе данной работы из растения копеечник забытый (*Hedysarum neglectum*) при последовательной экстракции метанольным раствором ТФУ и этилацетатом удалось выделить 3,4-дигидроксибензойную и галловую кислоты. Эти БАВ были исследованы на антиоксидантную активность и продемонстрировали высокие показатели. При дальнейших исследованиях возможна разработка рецептуры БАД комплексного действия на их основе.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках исполнения Гранта Президента (соглашение No 075-15-2021-310 от 19.04.2021 г. (внутренний номер МД-135.2021.1.4))

Список литературы

1. Барабой В.А. Растительные фенолы и здоровье человека / В.А. Барабой. М.// Наука. – 1984. – С.160.
2. Zaushintsena A., Bruhachev E., Belashova O., Asyakina L., Kurbanova M., Vesnina A., Fotina N. [Extracts of rhodiola rosea l. And scutellaria galericulata l. In functional dairy products // Foods and Raw Materials](#). 2020. Т. 8. № 1. С. 163-170.

3. Dong Y. Phytochemicals and biological studies of plants in genus Hedysarum / Dong Y., Tang D., Zhang N., Li Y., Zhang C., Li L., Li M. // Chemistry Central Journal. – 2013. – Vol. 7. – №. 1. – P. 1-13.
4. Szwajgier D., Borowiec K., Pustelniak K. The neuroprotective effects of phenolic acids: Molecular mechanism of action // Nutrients. – 2017. – Т. 9. – №. 5. – P. 477.
5. Sroka, Z. Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids / Z. Sroka, W. Cisowski // Food and Chemical Toxicology. – 2003. – Vol. 41. – №. 6. – P. 753-758.

STUDY OF THE ANTIOXIDANT POTENTIAL OF 3,4-DIHYDROXYBENZOIC AND GALLIC ACIDS EXTRACTED FROM HEDYSARUM NEGLECTUM

A.Kh. Bakhtiarova*, O.O. Babich*, V.V. Larina*
*Immanuel Kant Federal University, Kaliningrad, Russia

Abstract

Hedysarum neglectum is known for its useful properties, including antioxidant activity. During the study, the optimal parameters of extraction of this plant were selected and the metabolomic composition of its extracts was investigated. Selection of parameters for the release of individual biologically active substances has been selected. Gallic and 3,4-dihydroxybenzoic acid were obtained. They showed high antioxidant activity.

Keywords: bioactive compounds , antioxidant activity, Hedysarum neglectum, extraction, phenolic acids.

References

1. Baraboy V.A. Plant phenols and human health // Наука. – 1984. – P.160.
2. Zaushintsena A., Bruhachev E., Belashova O., Asyakina L., Kurbanova M., Vesnina A., Fotina N. [Extracts of rhodiola rosea l. And scutellaria galericulata l. In functional dairy products // Foods and Raw Materials](#). 2020. Т. 8.№ 1. С. 163-170.
3. Dong Y. Phytochemicals and biological studies of plants in genus Hedysarum / Dong Y., Tang D., Zhang N., Li Y., Zhang C., Li L., Li M. // Chemistry Central Journal. – 2013. – Vol. 7. – №. 1. – P. 1-13.
4. Szwajgier D., Borowiec K., Pustelniak K. The neuroprotective effects of phenolic acids: Molecular mechanism of action // Nutrients. – 2017. – Т. 9. – №. 5. – P. 477.
5. Sroka, Z. Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids / Z. Sroka, W. Cisowski // Food and Chemical Toxicology. – 2003. – Vol. 41. – №. 6. – P. 753-758.