

УДК 615.322

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2021.71.68.002>

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОБЕГОВ ПЕРВОГО ГОДА *RUBUS IDAEUS* (L.)

Д.К. Гуляев, канд. фарм. наук, старший преподаватель кафедры фармакогнозии с курсом ботаники ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава РФ (ФГБОУ ВО «ПФГУ»), г. Пермь

В.Д. Белоногова, доктор фарм. наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с курсом ботаники ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава РФ (ФГБОУ ВО «ПФГУ»), г. Пермь

Д.О. Боков, канд. фарм. наук, доцент кафедры фармацевтического естествознания Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), научный сотрудник лаборатории химии пищевых продуктов ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», г. Москва

В.В. Бессонов, доктор биологических наук, заведующий лабораторией химии пищевых продуктов ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», г. Москва

Цель – исследовать фенольные соединения и антиоксидантную активность сухого водного экстракта побегов первого года малины обыкновенной – *Rubus idaeus* (L.). В качестве объектов исследования выступали образцы побегов первого года малины, заготовленные на территории Ильинского района Пермского края в ельнике травяном в июне 2019 года. Молодые побеги длиной до 30 см срезали и высушивали воздушно-теньевым способом. Анализ фенольных соединений проводили на жидкостном хроматографе марки Agilent 1100 Series HPLC. Для определения антиоксидантной активности использовали реакцию со стабильным свободным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (DPPH). В результате хроматографического исследования в сухом водном экстракте побегов малины обыкновенной первого года было идентифицировано 12 веществ фенольной природы. В наибольшем количестве в сухом экстракте побегов малины содержится

эллаговая, бензойная, ванилиновая кислоты, ванилин и флавоноид гиперозид. Сухой водный экстракт побегов малины обыкновенной проявляет выраженную антиоксидантную активность (IC_{50} –43,86 мкг/мл). Данный показатель превышает активность настоя плодов шиповника в пересчете на сухой остаток (IC_{50} –76,75 мкг/мл), но уступает по выраженности антиоксидантного действия субстанции аскорбиновой кислоты (IC_{50} –9,46 мкг/мл). Сухой водный экстракт побегов малины первого года можно рекомендовать для дальнейших исследований антиоксидантной и других видов фармакологической активности.

Ключевые слова: малина обыкновенная, побеги первого года, сухой водный экстракт, фенольные соединения, антиоксидантная активность

Этиология многих сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний связана с нарушениями, возникающими в результате

воздействия на клетки организма свободных радикалов, которыми являются ионы или молекулы, имеющие на валентной орбитали неспаренный электрон (пероксильный радикал, супероксидный анион-радикал). Большинство структур организма (нуклеиновые кислоты, белки, жиры, углеводы) являются потенциальной мишенью для воздействия свободных радикалов [1].

Многие исследователи указывают на доминирующую роль фенольных соединений в развитии антиоксидантной активности лекарственных растений [2–5]. Некоторые исследования видов *Rubus* показывают корреляцию содержания фенольных соединений и уровня антиоксидантной активности [6].

Официальным лекарственным растительным сырьем у малины обыкновенной являются плоды, однако листья накапливают большее количество фенольных соединений, в том числе полифенолов, что позволяет проявлять антиоксидантную активность выше, чем у плодов [7].

Н-бутанольная фракция этанольного экстракта побегов *Rubus parvifolius* L. (малина мелколистная) обладает выраженным гепатопротекторным действием против вызванного четыреххлористым углеродом (CCl₄) повреждения печени, что частично объясняется сильной антиоксидантной способностью экстракта [8].

Среди наиболее интересных классов веществ, ответственных за развитие антиоксидантного действия в побегах и листьях видов рода *Rubus*, выделяют производные эллаговой кислоты и флавоноиды.

Высокой антиоксидантной активностью обладают и эллаготанины видов рода *Rubus*. Структуры эллаготанинов характеризуются наличием нескольких гидроксильных групп в орто-положении, которые проявляют способность отдавать атом водорода [6].

Цель работы – исследование фенольных соединений и антиоксидантной активности сухого водного экстракта побегов первого года *Rubus idaeus* (L.)

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования являлись образцы молодых зеленых побегов первого года малины обыкновенной – *Rubus idaeus* (L.) Побеги малины заготавливали на территории Ильинского района Пермского края в ельнике травяном в июне 2019 года. Молодые побеги первого года длиной до 30 сантиметров срезали и высушивали воздушно-теневым способом.

Экстракт сухой водный побегов малины обыкновенной получали по следующей методике: навеску воздушно-сухого сырья помещали в круглодонную колбу, заливали водой, очищенной в соотношении 1:30, и экстрагировали при постоянном перемешивании в течение полутора часов при температуре 80°C. Отделяли фильтрованием шрот и упаривали экстракт на ротационном испарителе. К упаренному остатку добавляли трехкратное количество спирта этилового 95%-го, в результате чего водорастворимый полисахаридный комплекс выпадал в осадок. Полисахариды отделяли фильтрованием через бумажный фильтр, промывали спиртом этиловым 80%-ным. Полученный после отделения полисахаридов экстракт упаривали на ротационном испарителе. Упаренный остаток помещали в сушильный шкаф и высушивали при температуре 55°C.

Анализ фенольных соединений проводили на жидкостном хроматографе марки Agilent 1100 Series HPLC в комплекте с системой подачи и дегазации на два растворителя, диодно-матричным детектором, термостатом колонок, устройством для автоматического ввода образцов (автосэмплер). Программное обеспечение – Agilent ChemStation Rev. A.09.03, колонка – Atlantis dc18, 100Å, 5 мкм, 4,6×250 мм. В качестве подвижной фазы использовали 0,1%-ный раствор муравьиной кислоты, метанол/ацетонитрил (25:75). Режим элюирования градиентный, температура колонки 35°C, скорость потока подвижной фазы 0,8 мл/мин, объем вводимой пробы 20 мкл.

Для определения антиоксидантной активности использовали реакцию со стабильным свободным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (DPPH) [9]. К 1 мл исследуемого раствора добавляли 3 мл раствора DPPH в спирте этиловом 95%-ном с концентрацией 5 мг/100 мл. Далее вычисляли антиоксидантную активность, поглощение радикала по формуле:

$$\text{АОА (\%)} = (A_{\text{контроля}} - A_{\text{образца}}) / A_{\text{контроля}} \times 100.$$

Также определяли величину IC₅₀ – концентрацию вещества, способную связать половинную концентрацию радикала DPPH, определяемую по кривой ингибирования, получаемой при построении графиков ингибирования в процентах от концентрации вещества. В качестве вещества сравнения использовали аскорбиновую кислоту и отвар плодов шиповника, поскольку шиповник является витаминным сырьем и накапливает аскорбиновую кислоту и другие антиоксиданты. Отвар шиповника плодов готовили в соответствии с ОФС 1.4.1.0018.15. «Настои и отвары» [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Многие фенольные соединения принимают активное участие в окислительно-восстановительных процессах и способствуют связыванию активных форм кислорода. Поэтому содержание фенольных соединений в растительных экстрактах является важным показателем, характеризующим возможность проявления антиоксидантного и антирадикального действия.

Результаты определения содержания фенольных соединений в экстракте побегов малины обыкновенной представлены в табл. 1.

В табл. 1 показано, что среди идентифицированных веществ фенольной природы в наибольшем количестве в сухом экстракте побегов малины содержится эллаговая кислота. Также велико содержание бензойной, ванилиновой кислот, ванилина и гиперозида.

В некоторых исследованиях говорится о том, что активный метаболит эллаговой кислоты – уролитин А – способен вызывать нейропротективный эффект и защиту нейронов от окислительного повреждения [11].

Таблица 1

СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ВОДНОМ ЭКСТРАКТЕ ПОБЕГОВ МАЛИНЫ

Вещество	Длина волны (нм), λ	Время удерживания (мин.), RT	Содержание, %
Ванилиновая кислота	254	25,0	0,353
Эллаговая кислота	254	30,0	0,669
Бензойная кислота	254	36,3	0,399
Галловая кислота	280	13,3	0,030
Ванилин	280	30,0	0,343
Кофейная кислота	300	25,8	0,193
П-кумаровая кислота	300	30,8	0,042
Феруловая кислота	300	32,6	0,092
Салициловая кислота	300	38,1	0,074
Гиперозид	350	31,4	0,221
Кверцетин	350	43,8	0,054
Кемпферол	350	48,5	0,023

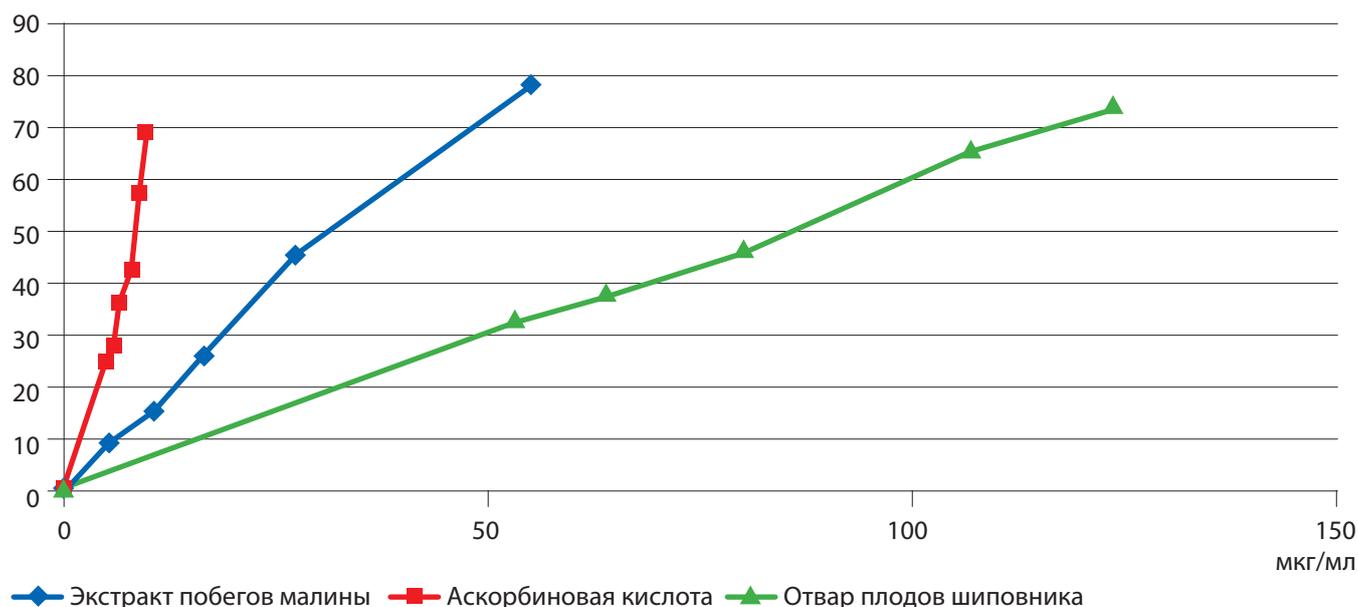


РИС. 1. Антиоксидантная активность (%) сухого водного экстракта побегов первого года малины обыкновенной

Антиоксидантный эффект эллаговой кислоты и ее метаболитов способен предотвращать некоторые сердечно-сосудистые заболевания, связанные с окислительным стрессом, путем воздействия на молекулярные механизмы сосудистого русла [12].

В одном из исследований в эксперименте у мышей с диабетом 2-го типа после введения им ванилиновой кислоты на протяжении 8 недель в дозе 50 мг/кг наблюдалось значительное снижение уровня глюкозы в крови натощак и артериального давления в сравнении с контрольной группой. Также

у животных, получавших ванилиновую кислоту, были снижены маркеры перекисного окисления липидов, что говорит о том, что ванилиновая кислота помогает бороться с окислительным стрессом [13]. Ванилиновая кислота, выделенная из листьев *Rubus chingii Hu*, проявляла выраженные антиоксидантные свойства [14].

Представляло интерес исследовать антиоксидантную активность водного сухого экстракта побегов первого года малины обыкновенной. Результаты определения представлены на рис. 1 и в табл. 2.

Таблица 2

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ СУХОГО ВОДНОГО ЭКСТРАКТА ПОБЕГОВ ПЕРВОГО ГОДА МАЛИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (IC50)

Образец	Антиоксидантная активность, IC50, мкг/мл
Сухой водный экстракт побегов малины первого года	43,86±10,06*
Аскорбиновая кислота	9,46±0,93**
Отвар шиповника плодов	76,75±14,62

* По отношению к экстракту побегов малины (t-test) – t-критерий Стьюдента $p < 0,05$.

** По отношению к отвару плодов шиповника (t-test) – t-критерий Стьюдента $p < 0,05$.

На рис. 1 показана зависимость антиоксидантной активности от концентрации исследуемых веществ. Для экстракта побегов малины в интервале концентраций от 5 до 55 мкг/мл наблюдается монотонное и резкое возрастание активности от 10 до 80%. Для вещества сравнения, в качестве которого выступала аскорбиновая кислота, в интервале концентраций от 5 до 11 мкг/мл характерно резкое нарастание активности с 0 до 70%.

В результате исследования установлено, что сухой водный экстракт побегов *Rubus idaeus* способен проявлять выраженную антиоксидантную активность (табл. 4). Для соотнесения полученных результатов с действием известных антиоксидантов мы параллельно проанализировали субстанцию аскорбиновой кислоты. Было установлено, что IC50 для субстанции аскорбиновой кислоты составляет 9,46 мкг/мл. Таким образом, 1 грамм сухого водного экстракта побегов *Rubus idaeus* соответствует 0,14 г/эквивалент аскорбиновой кислоты. Настой плодов шиповника в пересчете на сухой остаток проявляет антиоксидантную активность почти в 2,5 раза ниже, чем исследуемый экстракт побегов малины обыкновенной.

ВЫВОДЫ

В результате исследования было идентифицировано 12 веществ фенольной природы. В наибольшем количестве в сухом экстракте побегов малины содержится эллаговая кислота. Также велико содержание бензойной, ванилиновой кислот, ванилина и гиперозида.

Сухой водный экстракт побегов малины обыкновенной первого года проявляет выраженную антиоксидантную активность, превышающую активность настоя плодов шиповника, но в несколько раз уступает по активности препарату сравнения, в качестве которого выступала аскорбиновая кислота. Таким образом,

побеги первого года малины обыкновенной можно считать источником антиоксидантов и перспективными для дальнейших исследований.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания. – Новосибирск: АРТА, 2008. – 284 с.*
2. *Cheung L.M., Cheung C.K., Ooi V.E. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts // Food Chem. 2003. Vol. 81. №2. P. 249–255.*
3. *Miliauskas G., Venskutonis P.R., van Beek T.A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts // Food Chem. 2004. Vol. 85. №2. P. 231–237.*
4. *Trouillasa P. et al. Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water plant extracts used in the Limousin countryside as herbal teas // Food Chem. 2003. Vol. 80. №3. P. 399–407.*
5. *George B.P., Parimelazhagan T., Chandran R. Evaluation of total phenolic content, antioxidant and analgesic potential of *Rubus fairholmianus* Gard. // J. Pharm. Pharm. Sci., 2013. Vol. 5. №3. P. 484–488.*
6. *Oszmiański J., Wojdyło A., Nowicka P., Teleszko M., Cebulak T., Wolanin M. Determination of phenolic compounds and antioxidant activity in leaves from wild *Rubus* L. Species // Molecules. 2015. №20. P. 4951–4966. doi:10.3390/molecules20034951.*
7. *Wang S.Y., Lin H.S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varies with cultivar and developmental stage // J. Agric. Food Chem. 2000. Vol. 48. P. 140–146. doi.org/10.1021/jf9908345.*
8. *Gao J., Sun C.R., Yang J.H., Shi J.M., Du Y.G., Zhang Y.Y., Li J.H., Wan H.T. Evaluation of the hepatoprotective and antioxidant activities of *Rubus parvifolius* L. // Journal of Zhejiang*

- University. Science. B. 2011. Vol. 12. №2. P. 135–142. doi: 10.1631/jzus.B1000117.
9. Burda S., Oleszek W. Antioxidant and Anti-radical Activities of Flavonoids // *J. Agric. Food Chem.* 2001. Vol. 49. P. 2774–2779.
 10. ОФС 1.4.1.0018.15. «Настои и отвары» [Электронный ресурс] // Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания. Том 2. – Режим доступа: http://resource.ruscml.ru/feml/pharmacopia/14_2/HTML/569/index.html.
 11. Kujawska M., Jourdes M., Kurpiak M., Szulc M., Szaefer H., Chmielarz P., Kreiner G., Krajka-Kuźniak V., Mikołajczak P.L., Teissedre P.L., Liebert J.J. Neuroprotective Effects of Pomegranate Juice Against Parkinson's Disease and Presence of Ellagitannins – Derived Metabolite – Urolithin A – In the Brain // *Int.J. Mol. Sci.* 2020. Vol. 21. №1. P. 202–222. doi: 10.3390/ijms21010202.
 12. Larrosa M., García-Conesa M.T., Espín J.C., Tomás-Barberán F.A. Ellagitannins, ellagic acid and vascular health // *Molecular Aspects of Medicine.* 2010. Vol. 31. №6. P. 513–539. doi.org/10.1016/j.mam.2010.09.005.
 13. Vinothiya K., Ashokkumar N. Modulatory effect of vanillic acid on antioxidant status in high fat diet-induced changes in diabetic hypertensive rats // *Biomed. Pharmacother.* 2017. Vol. 87. P. 640–652. doi: 10.1016/j.biopha.2016.12.134.
 14. Ding H.Y. Extracts and constituents of *Rubus chingii* with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity // *Int.J. Mol.* 2011. Vol. 12. P. 3941–3949. doi: 10.3390/ijms12063941.

ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF *RUBUS IDAEUS* (L.) ONE-YEAR SHOOTS

D.K. Gulyaev¹, V.D. Belonogova¹, D.O. Bokov^{2,3}, V.V. Bessonov³

¹ Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

³ Federal Research Center of Nutrition and Biotechnology, Moscow, Russia

*Purpose – to make a research of phenolic compounds and antioxidative activity of dry aqueous extract of *Rubus idaeus* (L.) one-year shoots. The objects of the research were the samples of one-year shoots of red raspberry – *Rubus idaeus* (L.). Raspberry shoots were collected on the territory of the Ilyinsky district of the Perm Region in an herbaceous-spruce forest in June 2019. Young one-year shoots, up to 30 centimeters in length, were cut and dried with the shade drying method. Phenolic compounds were analyzed with a liquid chromatograph Agilent 1100 Series HPLC. Antioxidative activity was determined by using a stable radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) reaction. As a result of the chromatographic research, 12 substances of phenolic nature were identified in a dry aqueous extract of the red raspberry one-year shoots. The most substances in the raspberry shoots dry extract are: ellagic acid, benzoic acid, vanillic acid, vanillin and the flavonoid hyperoside. Dry aqueous extract of red raspberry one-year shoots shows significant antioxidative activity (IC₅₀–43.86 µg/ml). This index is above the activity of the sweet-brier fruits infusion in terms of dry residue (IC₅₀–75.76 µg/ml), but is inferior to the substance of ascorbic acid in the severity of the antioxidant action (IC₅₀–9.46 µg/ml). Dry aqueous extract of raspberry one-year shoots can be recommended for further researches of antioxidative activity and other types of pharmacological activity.*

Keywords: red raspberry, one-year shoots, dry aqueous extract, phenolic compounds, antioxidative activity