

Ю. П. Буренкова

**АНАЛИЗ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ
ЭКСТРАКТА ЛИСТЬЕВ ГОЛУБИКИ ОБЫКНОВЕННОЙ**
Научный руководитель канд. биол. наук, доц. В. В. Хрусталёв
Кафедра общей химии,

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Резюме. В статье приведены результаты качественного микрохимического анализа спиртового извлечения листьев голубики обыкновенной. Приведены результаты анализа антиоксидантной активности этого извлечения, а также анализ антиоксидантной активности агликонов флавоноидов и гликозидов данного извлечения, рассчитан суммарный показатель антиоксидантной активности для них.

Ключевые слова: голубика обыкновенная, флавоноиды, антиоксидантная активность.

Resume. The results of the qualitative chemical analysis of the alcoholic extract of leaves of northern bilberry are reflected in the article. The result of the analysis of the antioxidant activity of the extract and analysis of the antioxidant activity of flavonoids aglycones and glycosides of the extract are reflected, the total antioxidant activity for them is calculated.

Keywords: northern bilberry, flavonoids, antioxidant activity.

Актуальность. Поиск новых лекарственных средств и новых источников биологически активных веществ (БАВ) для всесторонней терапии различных заболеваний – одна из основных задач современной науки. Лекарственное растительное сырьё (ЛРС) как источник БАВ обладает рядом преимуществ. К ним можно отнести низкий риск развития побочных эффектов, возможность длительного использования препаратов из ЛРС при хронических заболеваниях, а также широкая доступность и низкая стоимость сырья.

Одной из самых фармакологически активных и активно изучаемых групп ЛРС являются флавоноиды. Широко известно и изучено такое свойство флавоноидов, как антиоксидантная активность (АОА). Так же флавоноиды, кроме АОА, проявляют гипогликемическую активность [5], стабилизируют и нормализуют общий метаболизм организма в целом. ЛРС, обладающее данной совокупностью эффектов, с давних времен широко используется народной медициной в терапии такого распространённого заболевания как сахарный диабет [6, 7]. Распространённость данного заболевания по данным ВОЗ и Международной федерации диабета превысило отметку 300 млн человек, это примерно 7 % населения планеты [1]. Количество состоящих на диспансерном учете пациентов с сахарным диабетом в Республике Беларусь 223 790 человек, и так же отмечается рост заболеваемости [1]. Одним из лекарственных растений, действующим как антиоксидант и оказывающим протекторное действие на организм при сахарном диабете является голубика обыкновенная.

Голубика обыкновенная (лат. *Vaccinium uliginosum*) мало изучена и не

используется официальной медициной, но широко применяется в народной. Она не включена в Государственную фармакопею Республики Беларусь (ГФ РБ), поэтому ЛРС голубики не стандартизуется, входит в состав лишь немногочисленных БАД, а лекарственные средства не производятся. Исследования противодиабетического действия голубики обыкновенной немногочисленны [5]. Лечебные свойства ЛРС обусловлены наличием в его составе различных групп БАВ, но основной эффект оказывают фенольные соединения – флавоноиды и дубильные вещества.

Цель: изучить состав фенольных соединений листьев голубики, провести определение антиоксидантной активности флавоноидов данного ЛРС.

Задачи:

1. Изучить химический состав биологически активных веществ голубики обыкновенной, механизм их гипогликемического действия.
2. Провести экстракцию фенольных соединений из ЛРС.
3. Доказать качественными реакциями наличие в извлечении флавоноидов.
4. Провести изучение АОА полученного экстракта в сравнении с веществами с достоверно высокой АОА с помощью спектрофотометрии.
5. Вычислить показатель суммарной АОА экстракта голубики обыкновенной листьев.

Материал и методы. Для исследования брали листья голубики обыкновенной, заготовленные в фазу плодоношения летом 2014 г. в Речицком районе Гомельской области. Заготовка проводилась в сухую погоду, вручную. Сушка проводилась естественным способом, в тени, в хорошо проветриваемом помещении. Листья до анализа хранились в матерчатых мешках. Оборудование, химическая посуда и реактивы были предоставлены кафедрой общей химии БГМУ. Для фотографии использовался фотоаппарат Canon Digital IXUS 95 IS.

Для изучения биологически активных веществ листьев голубики нами проведена экстракция спиртом 70%. Разведение спирта проводилось с использованием алкоголетрических таблиц ГФ РБ [2]. В колбу на 50 мл помещали 2,0 измельченного до 1 мм сырья голубики обыкновенной листьев. Заливали 20,0 мл 70% этилового спирта. Настаивали 24 часа. Затем процеживали в коническую колбу. Полученное спиртовое извлечение затем переносили в две пробирки, выпаривали до водного остатка и разделяли флавоноиды на фракции растворителем с возрастающей полярностью. Агликоны экстрагировали этиловым эфиром, гликозиды экстрагировали н-бутанолом, и затем использовали для определения антиоксидантной активности.

Для подтверждения наличия в изучаемом ЛРС флавоноидов были проведены качественные реакции с использованием спиртового извлечения. Цианидиновая проба, или проба Chinoda (восстановление флавонолов, флавонов, флаванонов до антоцианидинов): к 2 мл извлечения добавили 7 капель конц. HCl и 15 мг металлического цинка, подогревали в течение 2 мин на кипящей водяной бане, через

результаты исследований химического состава листьев голубики, проведенные на кафедре фармакогнозии ДВГМУ [5, 3], позволяют утверждать, что листья голубики обыкновенной в составе БАВ содержат такие флавоноиды, как гиперин, кемпферол, кверцетин, дигидрокверцетин, грайанотоксин, мирицетин, лютеолин.

Флавоноиды разнонаправленно воздействуют на организм человека при сахарном диабете. С одной стороны, они показали себя как хорошие ингибиторы фермента альдозоредуктазы, за счёт взаимодействия с его активным центром [1]. А с другой, благодаря своим антиоксидантным свойствам, как блокаторы перекисного окисления липидов. Наиболее активно в окислительно-восстановительные реакции с самыми разнообразными соединениями вступают флавоноиды, имеющие в своем составе гидроксильные группы в кольце В и С, а также двойную С2-С3 связь.

Были изучены данные литературы, согласно которым антиоксидантное действие не ограничивается непосредственным влиянием на процессы перекисного окисления [6, 7]. Они способны активировать природные механизмы клеточной защиты от окислительного стресса [4]. Напротив, в раковых клетках некоторые флавоноиды снижают их активность, приводя к развитию окислительного стресса и апоптозу [4].

Проведена экстракция фенольных соединений из листьев голубики, содержащих широкий их спектр: флавоноиды, дубильные вещества, антоцианы, и др. В результате проведенных экспериментов было доказано наличие флавоноидов в экстракте (таблица 1).

Таблица 2. Результаты качественного анализа листьев голубики обыкновенной на флавоноиды

Реактив	Группа БАВ	Результат реакции
Конц. HCl и металлический цинк	флавоноиды	красное окрашивание
2 % спиртовой раствор алюминия хлорида	флавоноиды	желтое окрашивание в УФ-свете желтое свечение
10% раствор натрия гидроксида	флавоноиды	зеленое окрашивание

Поскольку в результате качественного определения было установлено наличие в ЛРС флавоноидов, а данная группа веществ зарекомендовала себя в качестве наиболее эффективных природных антиоксидантов, целесообразным представлялось проведение исследования АОА извлечения листьев голубики обыкновенной. Примеры полученных графиков оптической плотности при длинах волн 400-500 нм представлены на рисунке 2 (а – проба с витамином С, б – проба с агликонами).

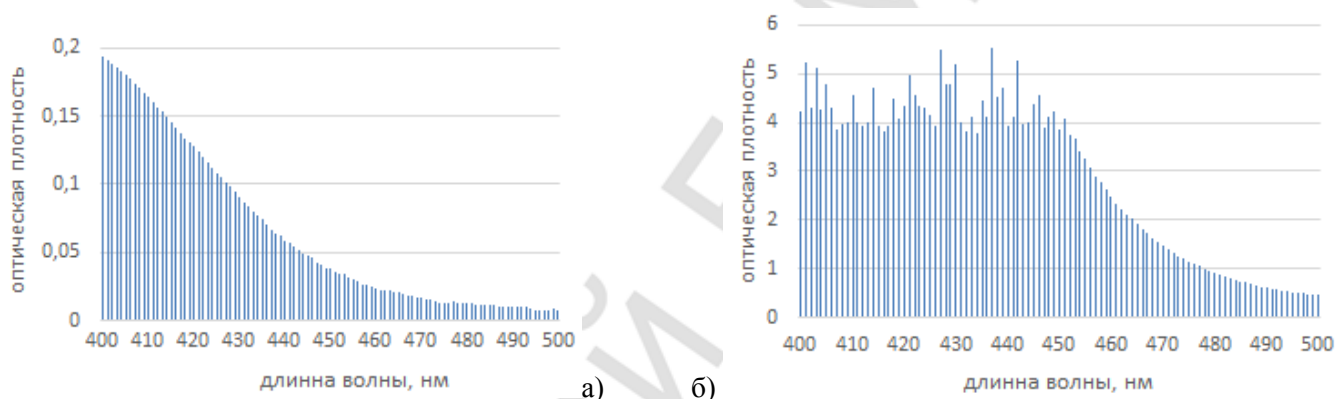


Рисунок 2 – График значений оптической плотности

Выявлено наличие АОА спиртового извлечения листьев голубики. Результаты с указанием доверительных интервалов отражены в диаграмме (рисунок 3).

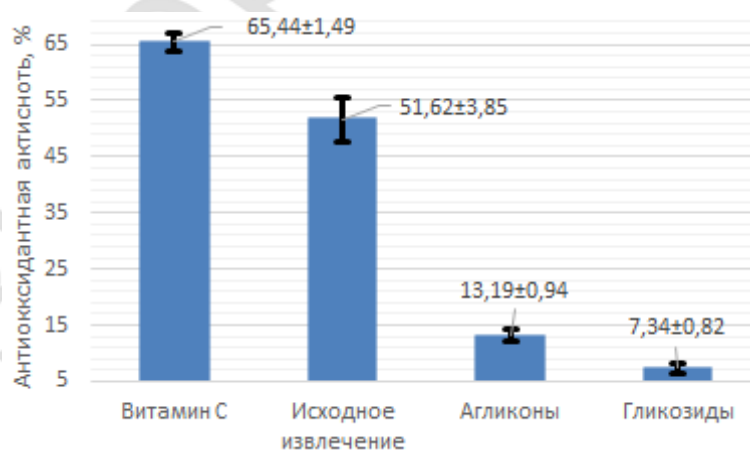


Рисунок 3 – Показатели суммарной АОА исследованных проб

АОА пробы с витамином С составила $65,44 \pm 1,49\%$. Экстракт листьев голубики обыкновенной обладает АОА, равной $51,62 \pm 3,85\%$. Это значение сопоставимо с значением АОА витамина С, который является известным антиоксидантом. Меньше АОА у раствора, содержащего агликоны – $13,19 \pm 0,94\%$. Однако, это значение превышает 10% - следовательно агликоны флавоноидов обладают хорошей АОА. Гликозиды же обладают низкой АОА, равной $7,34 \pm 0,82\%$. Это согласуется с данными литературы.

Выводы:

1. Проведённый химический анализ голубики листьев, заготовленных на территории РБ, доказал наличие флавоноидов в них.

2. Рассчитан показатель суммарной АОА спиртового извлечения листьев голубики обыкновенной. По сравнению с витамином С – веществом с высокой АОА – экстракт листьев голубики также показал высокую АОА, обусловленную в основном в большей степени агликонами флавоноидов, чем гликозидами. Также

можно утверждать, что на АОО листьев голубики обыкновенной сильное влияние оказывают и другие фенольные соединения, а также сопутствующие вещества.

3. Обоснована перспективность дальнейшего исследования голубики листьев с целью внедрения фитопрепаратов из них в фармацевтическую практику как противодиабетических и антиоксидантных средств.

Y. P. Burenkova
**ANTIOXIDANT ACTIVITY ANALYSIS
OF NORTHERN BILBERRY LEAF EXTRACT**
Tutor Associate professor V. V. Khrustalev
*Department of General Chemistry,
Belarusian State Medical University, Minsk*

Литература

1. Буренкова, Ю.П. Возможности связывания флавоноидов голубики обыкновенной с ферментными системами человека / Ю. П. Буренкова // Материалы 68-й научно-практической конференции студентов и молодых учёных с международным участием. – 2014. – статья 1.10.2.
2. Государственная фармакопея Республики Беларусь (ГФ РБ II). В 2 т. Т. 1. Общие методы контроля лекарственных средств / под общ. ред. А. А. Шерякова; УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении». – Молодечно: Типография «Победа», 2012. – 1220 с.
3. Охрименко, Л.П. Исследование фенольных соединений листьев голубики, брусники, толокнянки, черники и зимолобки, произрастающих в республике Саха / Л.П. Охрименко, Г.И. Калинкина, Е.А. Лукша, и др. // Химия растительного сырья. — 2009. — №3. — С. 109–115.
4. Тараховский, Ю. С. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Ю. С. Тараховский, Ю. А. Ким, Б. С. Абдрасилов и др. — Пушино: Synchrobook, 2013. — 310 с.
5. Цимбалист, Н. А. Фармакогностическое изучение и стандартизация сбора противодиабетического: автореф. дис. канд. фарм. наук: 15.00.02 / Н. А. Цимбалист. – Пермь, 2008. – 22 с.
6. Atef E. Abd El-Baky Quercetin protective action on oxidative stress, sorbitol, insulin resistance and β -cells function in experimental diabetic rats / Atef E. Abd El-Baky // International Journal of Pharmaceutical Studies and Research Vol. II. — 2011, April-June. — Issue II. — P. 11–18.
7. Stefek, M. Natural flavonoids as potential multifunctional agents in prevention of diabetic cataract / M. Stefek // Interdisciplinary Toxicology. — 2011. — Vol. 4(2). — P. 69-77.