

М.Е. Жолдасбаев^{1*}, К.Е. Нартайлулы¹, Г.А. Атажанова¹, И.В. Лосева¹

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ И АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ СУХОГО ЭКСТРАКТА *PHLOMOIDES TUBEROSA* (L.) MOENCH. IN VITRO

¹Медицинский университет Караганды (Караганда, Республика Казахстан)

^{1*}Муса Еркенулы Жолдасбаев – пост-докторант Школы фармации НАО «Медицинский университет Караганды»; электронная почта: Zholdasbaev@qmu.kz, тел.: +77081500109

Цель нашей работы заключалась в исследовании антирадикальной и антиоксидантной активности ультразвуковых экстрактов зопника клубненосного (*Phlomis tuberosa* L.), произрастающего на территории Карагандинской области. Водный экстракт *Phlomis tuberosa*, полученный в условиях ультразвуковой кавитации, обладает выраженной антирадикальной активностью, все другие образцы проявили низкую антирадикальную и антиоксидантную активность. Сумма экстрактивных веществ водного ультразвукового экстракта растения *Phlomis tuberosa* подчеркивает его терапевтическую значимость и позволяет использовать данный экстракт в дальнейшем для создания лекарственных средств на его основе.

Ключевые слова: антиоксидантная активность, антирадикальная активность, *Phlomis tuberosa* (L.) Moench., ультразвуковая экстракция

Phlomis L. — крупный род семейства губоцветных, насчитывающий более 100 видов. В Казахстане род *Phlomis* включает 13 видов; один из них – *Phlomis tuberosa* L. (зопник клубненосный), распространенный в Центральном Казахстане повсеместно.

В целом растение оказывает тонизирующее и кровоостанавливающее действие. Его настой применяют при диарее, дизентерии, пневмонии, бронхите, лихорадке, ОРЗ, туберкулезе легких, женских болезнях, геморрое. Его отвар применяют при гепатите. Местно применяют при гнойных ранах. На Алтае применяют при маститах, зобе, головной боли, глухоте; применяют ванны при отеках ног. В тибетской и монгольской медицине корни применяют при туберкулезе легких, бронхитах, венерических заболеваниях и как общеукрепляющее средство; используют при сердечно-сосудистых заболеваниях и ревматоидном артрите; местно при заболеваниях горла, хронических сифилитических язвах, гнойных ранах. В тибетской медицине надземные части растения применяют при хронической диарее. В народной медицине настой надземной части растения применяют при гастритах, язве желудка, диарее. В Сибири отвар корней применяют при уретритах; в Бурятии при туберкулезе легких, бронхитах, тяжелых заболеваниях костей. В Монголии листья растения заменяют чаем; отварные корни, как приправа к мясу. В пищу корни употребляют в запеченном, вареном и жареном виде, как добавку в каши. Семена проявляют антитрихомонадную активность [1].

Эфирный экстракт *P. tuberosa* L. *in vitro* проявляет противоопухолевую активность. Эфирный и этанольный экстракты надземных частей *P. tuberosa* L. проявляют цитотоксическую активность против клеточных линий P388 и опухоли асцита Эрлиха. Экстракт надземных частей *P. tuberosa* L. обладает гепатопротекторной активностью. *P. tuberosa* L. содержит: флаво-

ноиды (лютеолин 7-β-D-глюкозидуроновая кислота, ориентин, гомоориентин (лютеолин 8-C-анти-β-D-глюкопиранозид), цинарозид, лютеолин 8-C-β-D-глюкопиранозид, апигенин, лютеолин, апигенин 7-глюкозидуроновая кислота, лютеолин 7-глюкозид, лютеолин 7-O-β-D-глюкопиранозид); алкалоиды (стахидрин); иридоиды (гарпагид, 8-O-ацетилгарпагид, прокумбид, сесамозид, флоридозид (5-дезоксисесамозид), ламалбид, шанжизид метиловый эфир, 8-O-ацетилшанжизид и др., полифенольные соединения (кофеиновая кислота, 4-окаффеил-D-хинная кислота, феруловая кислота, хлорогеновая кислота, неохлорогеновая кислота, эфир кофейной кислоты; 4(3-гидроксис-1-пропенил)-2-метоксифенол) [1-4].

Изучено эфирное масло надземных частей растения *P. tuberosa* L., собранное с четырех участков Северного Казахстана. Основными идентифицированными соединениями были валерианол (3,9-13,5 %), β-эвдесмол (2,9-11,2 %), фитол (5,5-9,7 %), гексагидрофарнезиллацетон (3,6-5,7 %), линалоол (2,7-5,5 %), n-гексадекановая кислота (2,3-5,2 %), 1-октен-3-ол (3,5-5,1 %), β-кариофиллен (3,3-4,9 %), в зависимости от условий роста. Валерианол впервые обнаружен в эфирном масле *P. tuberosa* L. и для рода *Phlomis*. Компоненты фитола, линалоола, гексагидрофарнезиллацетона и n-гексадекановой кислоты являются общими для видов *P. tuberosa* L. [1]. Выявлена антимикробная активность эфирного масла из листьев и корней *Phlomis tuberosa* [5].

Цель – Изучить антиоксидантную и антирадикальную активность сухих экстрактов *Phlomoidea tuberosa* (L.) Moench (зопника клубненосного), полученных в результате ультразвуковой кавитации, *in vitro*

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве растительного материала использовали надземную часть *Phlomoidea tuberosa*, собранную на территории биологиче-

ского факультета Карагандинского университета в фазу цветения в 2021 году.

Впервые для извлечения суммы экстрактивных веществ из травы *Phlomooides tuberosa* использовали ультразвуковую экстракцию. 20,0 г травы воздушно-сухого сырья помещали в емкость для экстракции и заливали экстрагентом - 400 мл вода или смесь этиловый спирт:вода 400 мл, в соотношении 1:20 по объему/объему. Ультразвуковую экстракцию сырья проводили без замачивания в УЗ-очистителе Соник-3 при частоте ультразвукового излучения 40 кГц, при комнатной температуре (20-22 °С), на 30 минут. Затем жидкий экстракт декантировали и еще раз повторяли экстракцию в тех же условиях. Экстракты получали на основе 30%, 50%, 70% и 96% этилового спирта и воды и обозначали следующими шифрами Э31 - 96%, Э32 - 70%, Э33 - 50%, Э34 - 30%, Э35 - водная вытяжка.

Полученные объединенные жидкие экстракты *Phlomooides tuberosa* фильтровали через бумажный фильтр. Жидкий фильтрат сливали в роторный испаритель и упаривали экстрагент при температуре 50°C, получали густой экстракт *Phlomooides tuberosa*. Остаточный растворитель из густого экстракта выпаривали на водяной бане при температуре 60°C. Сухие экстракты представляют собой аморфные порошки зеленовато-бурого цвета, со специфическим запахом, очень гигроскопичные. Выходы экстрактов от 5.6-12%.

Определение железовосстанавливающего потенциала [FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power assay)]. К 1 мл исследуемых экстрактов в диапазоне концентраций 0-1 мг/мл добавляется 2,5 мл фосфатного буфера (0,2 М, рН 6,6) и 2,5 мл 1 % раствора гексацианоферрата (III) калия. Реакционная смесь инкубируется в течение 25 минут при температуре 50°C, реакция останавливается добавлением 2,5 мл 10 % раствора трихлоруксусной кислоты. Смесь центрифугируют 3 минуты (1,5 оборотов/мин). Верхний слой объемом 2,5 мл смешивается с 2,5 мл дистиллированной воды и 0,5 мл 0,1 % FeCl₃. Измерение оптической плотности производится при λ = 700 nm.

Определение антирадикальной активности (АРА) методом ингибирования реакции 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилрадикала (DPPH) анализируемыми веществами. 0,1 мл спиртового раствора исследуемых растворов в диапазоне концентраций 0,25; 0,5; 0,75 и 1,0 мг/мл добавляли к 3 мл 6×10⁻⁵ М раствора радикала. Следует указать на выполнение условия методики: реакция должна протекать в темноте,

т.к. при выраженной АРА исследуемых веществ обесцвечивание фиолетового раствора происходит мгновенно, поэтому не имеется возможности зафиксировать время протекания реакции ингибирования. В связи с этим при дневном свете невозможно измерить оптическую плотность (ОП) растворов на спектрофотометре. Для пролонгирования времени протекания реакции пробирки для центрифугирования помещаются в штатив, который предварительно заворачивается в черный полиэтилен для создания темноты реакционной смеси. После перемешивания растворы оставляли в темноте на 30 мин., далее измеряли ОП при 520 нм. Значения АРА (%) определяли по формуле: $ARA = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100(\%)$, где A_0 - значение оптической плотности контрольной пробы; A_t - величина оптической плотности при определенной концентрации исследуемого раствора. Стандартом является бутилатгидроксианизола (ВНА).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Нами впервые проведена ультразвуковая экстракция сырья *Phlomooides tuberosa*. В связи с тем, что в статье авторов [6] использованы растворители с более высокой полярностью для сравнительного высокого извлечения полифенольных кислот при экстракции с помощью ультразвука, то нами для экстракции при ультразвуковой кавитации были выбраны этиловый спирт (30%, 50%, 70%, 96%) и вода.

Полученные данные по оценке антирадикальной активности полученных экстрактов отражены в таблице 1 и рисунке 1, в которых представлены концентрационные зависимости значений оптической плотности для исследуемых растительных экстрактов и вещества – стандарта аскорбиновой кислоты (АК).

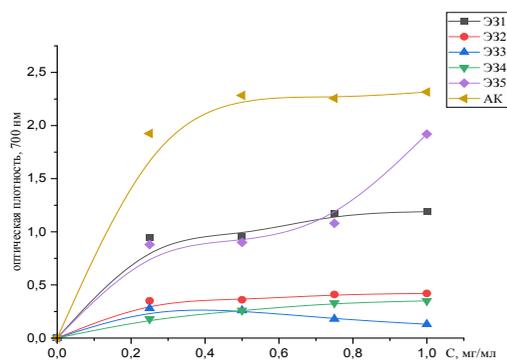


Рисунок 1 – Зависимость оптической плотности от концентрации растительных экстрактов

Таблица 1 – Значения оптической плотности исследуемых образцов

Диапазон концент-раций	Значения оптической плотности для исследуемых образцов					
	Э31	Э32	Э33	Э34	Э35	АК
0.25	0,95±0,01	0,35±0,01	0,18±0,01	0,18±0,01	1,08±0,01	1,92±0,01
0.5	0,94±0,02	0,36±0,01	0,18±0,01	0,26±0,02	0,88±0,01	2,28±0,01
0.75	1,18±0,01	0,41±0,01	0,26±0,01	0,33±0,01	0,90±0,01	2,25±0,01
1	1,19±0,01	0,42±0,01	0,13±0,01	0,35±0,01	1,92±0,01	2,31±0,01

Из приведенных данных следует, что относительно высокой антиоксидантной активностью обладает Э35 (водный ультразвуковой экстракт), о чем свидетельствует значительное повышение оптической плотности раствора с повышением концентрации.

Также незначительно повышается оптическая плотность образца Э31. Образцы Э32, Э33 и Э34 проявляют невысокие антиоксидантные свойства относительно стандарта – аскорбиновой кислоты.

Таблица 2 - Антирадикальная активность образцов

Диапазон концентрации	Значения оптической плотности для исследуемых образцов					
	Э31	Э32	Э33	Э34	Э35	АК
0.25	26.65	35.65	25.65	35.2	59.45	80.7
0.5	24.37	32.37	22.37	33.19	49.96	80.3
0.75	21.61	30.61	20.61	29.33	47.06	80.5
1	17.33	30.53	15.53	23.33	41.99	80.7

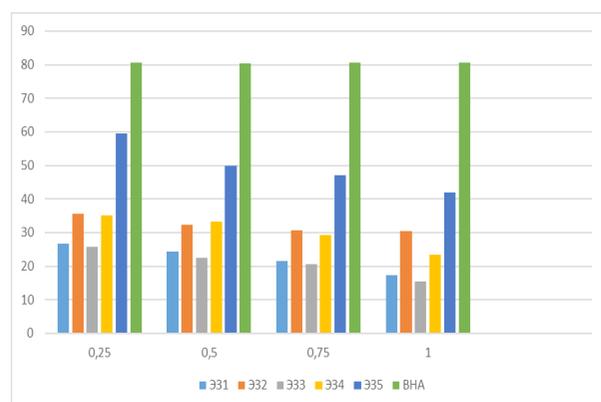


Рисунок 2 – Диаграмма зависимости АРА(%) от концентрации растительных экстрактов (метод DPPH)

Данные таблицы 2, диаграммы 2 свидетельствуют о значительной антирадикальной активности водного экстракта (Э35), при этом у всех остальных экстрактов наблюдается незначительное увеличение оптической плотности растворов по отношению к стандарту – бутилгидроксианизолу.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые изучена антирадикальная и антиоксидантная активность ультразвуковых этанольных и водного экстрактов зопника клубненосного (*Phlomis tuberosa* L.), произ-

растающего на территории Карагандинской области. Водный экстракт *Phlomis tuberosa*, полученный в условиях ультразвуковой кавитации, обладает выраженной антирадикальной и антиоксидантной активностью, все другие образцы проявили низкую антирадикальную и антиоксидантную активность. Сумма экстрактивных веществ водного ультразвукового экстракта растения *Phlomis tuberosa* подчеркивает его терапевтическую значимость и позволяет использовать данный экстракт в дальнейшем для создания лекарственных средств на его основе.

ВЫВОДЫ

1. Впервые получены спиртовые и водный экстракты *Phlomis tuberosa* в результате ультразвуковой кавитации. Данный метод позволяет быстро и качественно выделить и наработать образцы экстрактов растений.

2. Впервые установлена выраженная антирадикальная и антиоксидантная активность водного экстракта *Phlomis tuberosa* за счет полифенольных соединений в данном образце.

Конфликт интересов: отсутствует

ЛИТЕРАТУРА

- Kirillov, V.U. Chemical Composition of Essential Oil from Aerial Parts of *Phlomis tuberosa* L. Growing Wild in Northern Kazakhstan /V.U. Kirillov// Journal of Essential Oil Bearing Plants.- 2018.- № 21, Vol.2. – P. 462-475, DOI: 10.1080/0972060X.2018.144107
- Ersöz, T. Iridoid and phenylethanoid glycosides from *Phlomis tuberosa* L. / S.Ivancheva, P. Akbay, O. Sticher, Y. Çalıp.// Zeitschrift für Naturforschung. – 2006. - N 56. – P. 695-698.
- Javzan, S. Phytochemical study of aerial parts from *Phlomis tuberosa* L. / S.Javzan, D.Selenge // Mongolian Journal of Chemistry. – 2013. – N.14. – P.20-24.
- Olennikov, D.N. Phlotuberosides I and II, new iridoid glycosides from *Phlomis tuberosa* L. /D.N. Olennikov, N. K. Chirikova.// Chemistry of Natural Compounds.- 2013. – N. 53. – P. 269-272.
- Olennikov, D.N. Chemical composition of essential oils from *Galeopsis bifida* and *Phlomis tuberosa* L. / L.V. Dudareva, T.L.Tankhaeva // Chemistry of Natural Compounds. – 2010. - N 46. – P. 316–318.
- Oliveira, G.D.A.R. Multiresponse optimization of an extraction procedure of carnosol and rosmarinic and carnolic acids from rosemary. / G.D.A.R Oliveira, A.E. Oliveira, E.C. Conceição, M.I.G. Leles// Food Chem. – 2016. - N.211. – P. 465-473

Поступила 27.05.2022

M. Y. Zholdasbayev^{1*}, K. E. Nartailuly¹, G. A. Atazhanova¹, I. V. Losseva¹
 STUDY OF ANTIOXIDANT AND ANTI-RADICAL ACTIVITY OF DRY EXTRACT
 OF *PHLOMIDES TUBEROSA* (L.) MOENCH. IN VITRO
¹Karaganda medical university (Karaganda, Kazakhstan)

Біздің жұмысымыздың мақсаты Қарағанды облысының аумағында өсетін түйнекті зопниктің (*Phlomis tuberosa* L.) ультрадыбыстық сығындыларының радикалға қарсы және антиоксиданттық белсенділігін зерттеу болды.

Теоретическая и экспериментальная медицина

Ультрадыбыстық кавитация жағдайында алынған *Phlomis tuberosa* сулы сығындысы радикалға қарсы белсенділікке ие, барлық басқа үлгілерде радикалға қарсы және антиоксиданттық белсенділік төмен болды. *Phlomis tuberosa* өсімдігінің сулы ультрадыбыстық сығындысының экстрактивті заттарының қосындысы оның емдік маңыздылығын көрсетеді және осы сығындыны одан әрі оның негізінде дәрілік заттарды жасау үшін пайдалануға мүмкіндік береді.

Кілт сөздер: радикалға қарсы белсенділік, антиоксиданттық белсенділік, *Phlomis tuberosa* (L) Moench., ультрадыбыстық экстракция

М. Е. Жолдасбаев¹, К. Е. Нартайлұлы², Г. А. Атажанова¹, И.В. Лосева¹

PHLOMOIDES TUBEROSA (L.) MOENCH ҚҰРҒАҚ СЫРТЫНЫҢ АНТИОКСИДАНТТЫ

ЖӘНЕ АНТИРАДИКАЛЫҚ БЕКЕНДІЛІГІН ЗЕРТТЕУ. IN VITRO

¹Қарағанды медицина университеті (Қарағанды, Қазақстан)

The purpose of our work was to study the antiradical and antioxidant activity of ultrasonic extracts of tuberous zopnik (*Phlomis tuberosa* L), growing on the territory of the Karaganda region. The aqueous extract of *Phlomis tuberosa* obtained under ultrasonic cavitation has pronounced antiradical activity, all other samples showed low antiradical and antioxidant activity. The sum of extractive substances of the aqueous ultrasonic extract of the *Phlomis tuberosa* plant emphasizes its therapeutic significance and allows using this extract in the future to create medicines based on it.

Key words: antioxidant activity, anti-radical activity, *Phlomis tuberosa* (L.) Moench., ultrasonic extraction