ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ТРАВЫ АСТРАГАЛА СОЛОДКОЛИСТНОГО

Т.А. Позднякова¹, Р.А. Бубенчиков²

¹ ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», Орел;

² ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск

Для цитирования: Позднякова Т.А., Бубенчиков Р.А. Изучение антиоксидантной активности травы астрагала солодколистного // Аспирантский вестник Поволжья. – 2019. – № 1–2. – С. 27–32. <https://doi.org/10.17816/2072-2354.2019.19.1.27-32>

Поступила: 22.01.2019

Одобрена: 28.02.2019

Принята: 18.03.2019

■ **Актуальность.** В возникновении и развитии многих заболеваний важная роль принадлежит свободным радикалам, которые запускают цепные реакции, приводящие к повреждению клеток и тканей. Помочь обезвредить свободные радикалы могут природные антиоксиданты, среди которых наиболее активны фенольные соединения. Присутствие данных групп биологически активных веществ в траве астрагала солодколистного (*Astragalus glycyphyllos* L.) позволяет предположить наличие у фитокомплексов исследуемого растения антиоксидантной активности. **Цель** данного исследования заключалась в изучении антиоксидантной активности извлечений из травы астрагала солодколистного. **Материалы и методы.** Объектом исследования служила воздушно-сухая трава астрагала солодколистного, заготовленная в период массового цветения. Для получения наиболее достоверных результатов исследования изучение антиоксидантной активности извлечений из травы астрагала солодколистного проводили двумя методами: по методике, основанной на химической реакции между калия перманганатом и биологически активными веществами восстанавливающего характера, содержащимися в извлечениях из исследуемого растения, и путем спектрофотометрии свободных радикалов, основанной на реакции взаимодействия 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила с антиоксидантами, содержащимися в растительном сырье. Для установления зависимости между антиоксидантной активностью и присутствием в растении фенольных соединений было определено содержание в траве астрагала солодколистного флавоноидов и гидроксикоричных кислот. **Результаты.** Было установлено, что антиоксидантной активностью обладают все исследуемые извлечения из травы астрагала солодколистного, однако в зависимости от используемого экстрагента ее значения различны. При этом прослеживается закономерность между содержанием в извлечении фенольных соединений (гидроксикоричных кислот и флавоноидов) и антиоксидантной активностью. **Выводы.** В результате проведенных исследований установлена суммарная антиоксидантная активность извлечений из травы астрагала солодколистного и выявлено, что ее уровень связан с содержанием в растении фенольных соединений положительной корреляционной связью. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования травы астрагала солодколистного в качестве источника природных антиоксидантов.

■ **Ключевые слова:** астрагал солодколистный (*Astragalus glycyphyllos* L.); антиоксидантная активность; флавоноиды; гидроксикоричные кислоты; свободные радикалы.

THE STUDY OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE HERB *ASTRAGALUS GLYCYPHYLLUS* L.

Т.А. Pozdnyakova¹, R.A. Bubenchikov²

¹ Orel State University I.S. Turgenev, Orel, Russia;

² Kursk State Medical University, Kursk, Russia

For citation: Pozdnyakova TA, Bubenchikov RA. The study of antioxidant activity of the herb *Astragalus glycyphyllos* L. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhia*. 2019;(1-2):27-32. <https://doi.org/10.17816/2072-2354.2019.19.1.27-32>

Received: 22.01.2019

Revised: 28.02.2019

Accepted: 18.03.2019

■ **Topicality.** In the process of originating and development of many diseases, an important role belongs to free radicals, which trigger chain reactions leading to damage of cells and tissues. The natural antioxidants can help to neutralize free radicals, among which phenolic compounds are the most active. The presence of these groups of biologically active substances in the herb *Astragalus glycyphyllos* L. suggests the presence of antioxidant activity in the phyto-complexes of the studied plant. **The purpose** of this research was to study the antioxidant activity of ex-

tracts from the herb *Astragalus glycyphyllos* L. **Materials and methods.** The object of the study was the air-dry herb *Astragalus glycyphyllos* L. harvested in the period of mass flowering. To obtain the most reliable results of the study, the investigation of the antioxidant activity of extracts from the herb *Astragalus glycyphyllos* L. was carried out by two methods: by the method based on the chemical reaction between potassium permanganate and regenerating biologically active substances contained in extracts from the studied plant and by spectrophotometry of free radicals based on the reaction interactions of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl with antioxidants contained in plant raw materials. To establish the dependence between the antioxidant activity and the presence of phenolic compounds in the plant, the content of flavonoids and hydroxycinnamic acids in *Astragalus glycyphyllos* L. was determined. **Results.** It was found that all the studied extracts from the herb *Astragalus glycyphyllos* L. have antioxidant activity, but their values are different depending on the used extractant. In this case, a consistent pattern is observed between the content in the extraction of phenolic compounds (hydroxycinnamic acids and flavonoids) and the magnitude of antioxidant activity. **Conclusions.** As a result of the conducted research, the total antioxidant activity of extracts from the herb *Astragalus glycyphyllos* L. was established. Its value was found to be related to the content of phenolic compounds in the plant by a positive correlation. The obtained data indicate the promising use of the herb *Astragalus glycyphyllos* L. as a source of natural antioxidants.

■ **Keywords:** *Astragalus glycyphyllos* L.; antioxidant activity; flavonoids; hydroxycinnamic acids; free radicals.

Введение

Среди всех известных современной медицине недугов, которым с момента своего существования подвержено человечество, самыми пугающими на сегодняшний день являются онкологические заболевания. Несмотря на высокий уровень развития современной науки и медицины, до сих пор в точности не установлены причины их возникновения и нет единой концепции профилактики злокачественных новообразований в организме. Многочисленные исследования указывают на тот факт, что причиной возникновения и развития многих заболеваний, в том числе и онкологических, зачастую становятся свободные радикалы, которые запускают цепные реакции, приводящие к повреждению клеток и тканей, их преждевременному старению. Все живые организмы обеспечивают клетки энергией и кислородом за счет постоянно протекающих реакций окисления и восстановления. В нормальных условиях эти процессы находятся под жестким контролем различных регуляторных систем, что позволяет поддерживать равновесие между скоростью образования продуктов окисления и активностью антиокислительных факторов [9]. При нарушении этого хрупкого равновесия ускоряется протекание свободно-радикальных процессов, и, как следствие, в клетках накапливаются продукты перекисного окисления. Предупредить это разрушающее действие свободных радикалов на организм могут антиоксиданты, действующие на клеточном уровне. Эти биологически активные соединения снижают интенсивность перекисного окисления липидов и первыми вступают в реакции со свободными радикалами, образуя в процессе жизнедеятельности организма,

если естественные механизмы их нейтрализации не справляются с этой задачей [8]. При этом наиболее активными и безопасными для человека являются антиоксиданты природного происхождения, поэтому в настоящее время способность инактивировать свободные радикалы можно назвать одной из важнейших характеристик фармакологической активности лекарственных растений. Как правило, данный показатель связан с присутствием в растениях таких соединений, как флавоноиды, гидроксикоричные кислоты, дубильные вещества, витамины. Присутствие данных групп биологически активных веществ в траве астрагала солодколистного позволяет предположить наличие у фитокомплексов исследуемого растения антиоксидантной активности [7], тем более что опыт народной медицины свидетельствует об эффективности применения извлечений из травы астрагала солодколистного при заболеваниях сердечно-сосудистой системы, верхних дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта в качестве противовоспалительных, мочегонных, гастропротекторных и гиполипидемических средств. Комплекс биологически активных веществ растения улучшает работу иммунной системы, повышает резистентность организма, регулирует обменные процессы [7].

Цель нашего исследования — определение антиоксидантной активности извлечений из травы астрагала солодколистного (*Astragalus glycyphyllos* L.).

Материалы и методы

В качестве объекта исследования была выбрана трава астрагала солодколистного, которая была заготовлена в период массо-

вого цветения растения в Курской области в 2017–2018 гг. Траву предварительно высушивали до воздушно-сухого состояния, после чего измельчали и использовали для получения извлечений.

Известно несколько методик определения антиоксидантной активности в растительном сырье: метод добавления содержащих антиоксиданты образцов в модельную реакцию окисления, хемилюминесцентный, спектрофотометрический, амперометрический и др. [2, 3, 5, 10].

Для получения наиболее достоверных результатов изучение антиоксидантной активности извлечений из травы астрагала солодколистного проводили двумя методами: по методике, основанной на химической реакции между калия перманганатом и биологически активными веществами восстанавливающего характера, содержащимися в извлечениях из исследуемого растения [2, 5], и путем спектрофотометрии свободных радикалов, основанной на реакции взаимодействия ДФПГ (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил ($C_{18}H_{12}N_5O_6$, $M = 394,33$)), растворенного в спирте, с антиоксидантами, содержащимися в растительном сырье [3, 10].

Для изучения антиоксидантной активности первым методом готовили извлечения из травы астрагала солодколистного в соотношении 1 : 10 по фармакопейной методике [4]. Для того чтобы оценить влияние природы экстрагента на антиоксидантную активность получаемого извлечения, в качестве экстрагентов нами были выбраны вода очищенная и спирт этиловый в концентрации: 30, 50, 70 и 96 %. В качестве препаратов сравнения были использованы растворы кверцетина, цинарозида и рутина, известные своими антиоксидантными свойствами [5].

Свежепрокипяченную, охлажденную и очищенную воду, в количестве 8 мл, помещали в стакан вместимостью 50 мл, подкисляли 1 мл раствора кислоты серной 20 %, после чего прибавляли 1 мл раствора калия перманганата 0,05 Н. После тщательного перемешивания содержимое стакана титровали из микробюретки предварительно полученными извлечениями из травы астрагала солодколистного. Точку эквивалентности устанавливали по исчезновению розовой окраски титруемого раствора. Значения антиоксидантной активности были рассчитаны как величины, обратно пропорциональные объему извлечения из растительного сырья, пошедшего на титрование, в перерасчете на цинарозид, кверцетин и рутин (мг/мл) с заранее установленной антиоксидантной активностью [5].

Для того чтобы установить зависимость между содержанием в изучаемом растении фенольных соединений и антиоксидантной активностью, было установлено содержание флавоноидов и гидроксикоричных кислот. Для установления количественного содержания флавоноидных соединений в полученных извлечениях был использован метод спектрофотометрии. Оптическую плотность окрашенных комплексов флавоноидов с алюминия хлоридом измеряли при 405 нм, расчет содержания флавоноидов вели в пересчете на гиперозид [6]. Определение содержания в траве астрагала солодколистного суммы гидроксикоричных кислот было проведено методом прямой спектрофотометрии при длине волны 328 нм в пересчете на хлорогеновую кислоту [1].

Для исследования антиоксидантной активности методом спектрофотометрии свободных радикалов получали водно-спиртовое извлечение из травы астрагала солодколистного в соотношении 1 : 10, используя в качестве экстрагента спирт этиловый 70 %. Для этого 2,5 г (точная навеска) воздушно-сухого сырья помещали в колбу на 100 мл с притертой пробкой, прибавляли 25 мл спирта этилового 70 %, после чего нагревали в течение 1 часа на кипящей водяной бане с обратным холодильником. По истечении 1 часа колбу с полученным извлечением охлаждали при комнатной температуре, после чего фильтровали содержимое колбы через бумажный фильтр в мерную колбу на 25 мл и доводили объем до номинального соответствующим растворителем.

Необходимое условие для расчета антирадикальной активности — установление оптической плотности извлечения, для чего полученный настой из травы астрагала солодколистного в объеме 2 мл разводили спиртом этиловым 96 % до объема 4 мл с последующим определением оптической плотности на спектрофотометре при длине волны 517 нм на фоне спирта этилового 96 %. Для оценки антирадикальной активности использовали способность свободного стабильного радикала ДФПГ, растворенного в этаноле, реагировать с антиоксидантами, содержащимися в исследуемых образцах, в результате чего снижается интенсивность его пурпурно-синей окраски в растворе, а реакция контролируется по снижению оптической плотности методом спектрофотометрии при длине волны 517 нм [3].

Для протекания реакции к 2 мл исследуемого извлечения из травы астрагала солодколистного прибавляли 2 мл 0,5 мМ раствора 2,2-дифенил-1-пикрилгидразида (Sigma-Aldrich, США) в спирте этиловом 96 % и опреде-

ляли оптическую плотность получившегося раствора на спектрофотометре СФ-2000 в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 517 нм через каждые 15 минут в течение 1 часа на фоне спирта этилового 96%.

Каждый опыт был повторен 3 раза, доверительный интервал вычисляли статистическими методами с использованием коэффициента Стьюдента (доверительный интервал 0,95).

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований было установлено, что все исследуемые извлечения из травы астрагала солодколистного обладают антиоксидантной активностью, однако в зависимости от используемого экстрагента ее значения различны (табл. 1, рис. 1).

При этом прослеживается четкая зависимость между содержанием в извлечении фенольных соединений (гидроксикоричных

кислот и флавоноидов) и величиной антиоксидантной активности. Максимальная антиоксидантная активность извлечений наблюдается, если в качестве экстрагента использовался спирт этиловый 70 %, им же извлекается и наибольшее количество флавоноидов и гидроксикоричных кислот. Наименьшая антиоксидантная активность установлена для извлечений, полученных с использованием спирта этилового 96 %, при этом содержание фенольных соединений в данных извлечениях также ничтожно мало (см. табл. 1). Известно, что фенольные соединения плохо извлекаются из растительного сырья водой очищенной, поэтому в данном случае более высокие показатели антиоксидантной активности при использовании в качестве экстрагента воды очищенной по сравнению с извлечениями на спирте этиловом 96 %, по-видимому, можно объяснить тем фактом, что водой, очищенной из травы астрагала солодколистного, извлекаются полисахариды и кислота аскорбиновая,

Таблица 1 / Table 1

Результаты изучения антиоксидантной активности извлечений из травы астрагала солодколистного методом титриметрии
The results of the study of antioxidant activity of extracts from the herb *Astragalus glycyphyllos* L. by the titrimetry method

Экстрагент	Антиоксидантная активность, мг/кг			Содержание суммы флавоноидов, %	Содержание суммы гидроксикоричных кислот, %
	в перерасчете на рутин	в перерасчете на цинарозид	в перерасчете на кверцетин		
Вода очищенная	23,25 ± 0,55	23,09 ± 0,53	13,80 ± 0,32	0,137 ± 0,003	1,370 ± 0,062
Спирт этиловый 30 %	24,89 ± 0,65	24,71 ± 0,65	14,77 ± 0,38	0,174 ± 0,005	1,532 ± 0,066
Спирт этиловый 50 %	25,84 ± 0,78	25,65 ± 0,79	15,34 ± 0,46	0,183 ± 0,004	1,608 ± 0,071
Спирт этиловый 70 %	26,32 ± 1,18	26,13 ± 1,17	15,62 ± 0,70	0,196 ± 0,007	1,618 ± 0,066
Спирт этиловый 96 %	12,91 ± 0,32	12,82 ± 0,32	7,66 ± 0,19	0,025 ± 0,001	0,304 ± 0,014

Рис. 1. Значения антиоксидантной активности извлечений из травы астрагала солодколистного в перерасчете на рутин, цинарозид и кверцетин при использовании различных экстрагентов

Fig. 1. Values of the antioxidant activity of extracts from the herb *Astragalus glycyphyllos* L. in terms of rutin, cynaroside and quercetin with the use of different extractants

Таблица 2 / Table 2

Результаты изучения антиоксидантной активности извлечений из травы астрагала солодколистного методом спектрофотометрии свободных радикалов

Findings of antioxidant activity of extracts from the herb *Astragalus glycyphyllus* L. by means of free radical spectrophotometry method

Время протекания реакции, мин	Степень ингибирования радикалов, %	Антиоксидантная активность, %
15	50,49 ± 1,12	6,92 ± 0,09
30	62,43 ± 1,56	11,09 ± 0,75
45	66,61 ± 1,95	23,03 ± 1,08
60	67,02 ± 1,87	23,08 ± 1,05

Рис. 2. Антиоксидантная активность извлечений из травы астрагала солодколистного и степень ингибирования свободных радикалов в зависимости от времени протекания реакции

Fig. 2. Antioxidant activity of extracts from the herb *Astragalus glycyphyllus* L. and the degree of inhibition of free radicals, depending on the reaction time

которые также проявляют антиоксидантные свойства (см. табл. 1, рис. 1).

Наличие антиоксидантной активности в водно-спиртовых извлечениях из травы астрагала солодколистного также подтверждается результатами протекания реакции с ДФПГ. При этом прослеживается четкая закономерность между временем протекания реакции и антиоксидантной активностью: в течение 45 минут идет постепенное возрастание степени ингибирования радикалов и антиоксидантной активности, после чего эти показатели уже не изменяются (табл. 2, рис. 2).

Заключение

Двумя методами: титриметрией, основанной на химической реакции между калия перманганатом и биологически активными веществами восстанавливающего характера, содержащимися в извлечениях из растительного сырья, и путем спектрофотометрии свободных радикалов, основанной на реакции взаимодействия антиоксидантов с ДФПГ, — проведено изучение антиоксидантной активности травы астрагала солодколистного. Вы-

явлено, что наибольшей антиоксидантной активностью обладают извлечения, полученные с использованием в качестве экстрагента спирта этилового 70 %. Поскольку этим же экстрагентом извлекается максимальное количество фенольных соединений, можно сделать вывод о положительной корреляционной связи между содержанием в исследуемом растении фенольных соединений и величиной антиоксидантной активности. Также установлено, что для максимального ингибирования свободных радикалов антиоксидантными веществами, содержащимися в извлечениях из травы астрагала солодколистного, достаточно 45 минут. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования травы астрагала солодколистного в качестве источника природных антиоксидантов.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. Бубенчиков Р.А., Гончаров Н.Н. Изучение фенольных соединений травы кульбабы шершавоволосистой (*Leontodon hispidus* L.) // Вопросы обеспечения

- качества лекарственных средств. – 2015. – № 4. – С. 15–18. [Bubenchikov RA, Goncharov NN. Study phenolic compounds of herbs *Leontodon hispidus* L. *Voprosy obespecheniya kachestva lekarstvennykh sredstv*. 2015;(4):15-18. (In Russ.)]
2. Бубенчикова В.Н., Степнова И.В. Изучение антиоксидантной активности травы горюхи ястребиновой (*Picris hieracioides* L.) // Традиционная медицина. – 2017. – № 3. – С. 33–35. [Bubenchikova VN, Stepnova IV. The study of antioxidant activity of the herb *Picris hieracioides* L. *Traditsionnaya meditsina*. 2017;(3):33-35. (In Russ.)]
 3. Волков В.А. Физико-химические закономерности взаимодействия 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила с антиоксидантами растительного происхождения: Автореф. дис. ... канд. хим. наук. – Тверь, 2010. [Volkov VA. Fiziko-khimicheskie zakonomernosti vzaimodeystviya 2,2-difenil-1-pikrilgidrazila s antioksidantami rastitel'nogo proiskhozhdeniya. [dissertation] Tver'; 2010. (In Russ.)]
 4. femb.ru/feml [интернет]. Государственная фармакопея. 13 издание. 2015. [доступ от 15.09.2018]. Доступ по ссылке: <http://femb.ru/femb/pharmacopea13.php>. [Femb.ru/feml [Internet]. State Pharmacopoeia. 13th ed. 2015. [cited 15 Sep 2018]. Available from: <http://femb.ru/femb/pharmacopea13.php>. (In Russ.)]
 5. Патент РФ № 2170930/ 20.07.2001. Максимова Т.В., Никулина И.Н., Пахомов В.П., и др. Способ определения антиокислительной активности. [Patent RUS № 2170930/ 20.07.2001. Maksimova TV, Nikulina IN, Pakhomov VP, et al. Sposob opredeleniya antiokislitel'noy aktivnosti. (In Russ.)]
 6. Позднякова Т.А., Бубенчиков Р.А. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в траве астрагала шерстистоцветкового (*Astragalus dasyanthus* L.) // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2018. – Т. 21. – № 6. – С. 10–15. [Pozdnyakova TA, Bubenchikov RA. Development of methods for quantitation of the amount of flavonoids in the herb *Astragalus dasyanthus* L. *Problems of biological, medical, and pharmaceutical chemistry*. 2018;21(6):10-15. (In Russ.)]
 7. Сергалиева М.У., Мажитова М.В., Смотров М.А. Растения рода астрагал: перспективы применения в фармакологии // Астраханский медицинский журнал. – 2015. – Т. 10. – № 2. – С. 17–31. [Sergalieva MU, Mazhitova MV, Samotrueva MA. Plants of the genus *Astragalus*: prospects of application in pharmacy. *Astrakhan Medical Journal*. 2015;10(2):17-31. (In Russ.)]
 8. Lee JC, Won MH. Neuroprotection of antioxidant enzymes against transient global cerebral ischemia in gerbils. *Anat Cell Biol*. 2014;47(3):149-156. <https://doi.org/10.5115/acb.2014.47.3.149>.
 9. Radak D, Resanovic I, Isenovic ER. Link between oxidative stress and acute brain ischemia. *Angiology*. 2014;65(8):667-676. <https://doi.org/10.1177/0003319713506516>.
 10. Shekhar TC. Antioxidant Activity by DPPH Radical Scavenging Method of *Ageratum conyzoides* Linn. Leaves. *Am J Ethnomed*. 2014;1(4):244-249.

■ Информация об авторах

Татьяна Александровна Позднякова — кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии, клинической фармакологии и фармации, ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», Орел. E-mail: pozdneyakova.tatyana.72@mail.ru.

Роман Александрович Бубенчиков — доктор фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры фармакогнозии и ботаники, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск. E-mail: fg.ksmu@mail.ru.

■ Information about the authors

Tatiana A. Pozdnyakova — Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Pharmacy, I.S. Turgenev Orel State University, Orel, Russia. E-mail: pozdneyakova.tatyana.72@mail.ru.

Roman A. Bubenchikov — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Department of Pharmacognosy and Botany, Kursk State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Kursk, Russia. E-mail: fg.ksmu@mail.ru.