

## ОБ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ СПИРТО-ВОДНЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ ЦВЕТКОВ БАРХАТЦЕВ РАСПРОСТЕРТЫХ

Червонная Н.М.<sup>1</sup>, Андреева О.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск, Россия, [nadezhda.chervonnaya@yandex.ru](mailto:nadezhda.chervonnaya@yandex.ru)

В настоящей статье обсуждаются результаты исследования антиоксидантной активности извлечений из цветков бархатцев распростертых (*Tagetes patula*). С использованием жидкостного хроматографа «Цвет Яуза-01-АА» изучено суммарное содержание антиоксидантов в полученных извлечениях из цветков бархатцев распростертых (*Tagetes patua*). Использован амперометрический метод измерения массовой концентрации антиоксидантов. Количество антиоксидантов определяли по градуировочному графику зависимости выходного сигнала от концентрации кверцетина и галловой кислоты. Изучена антиоксидантная активность извлечений из цветков бархатцев распростертых, полученных экстракцией водой и этанолом различной концентрации. Установлено, что содержание антиоксидантов у 96%-ого этанольного извлечения составило 0,00675, 70%-ого – 0,013, 40%-ого – 0,032, водного – 0,0035 мг/г в пересчете на кверцетин, а в пересчете на галловую кислоту 0,005; 0,008; 0,0205; 0,0022 мг/г соответственно. Таким образом, наиболее высоким антиоксидантным действием обладает извлечение, полученное экстракцией 40% спиртом этиловым.

Ключевые слова: антиоксидантная активность, цветки бархатцев распростертых, кверцетин, галловая кислота.

## ABOUT ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE ALCOHOL-WATER EXTRACTS FROM THE FLOWERS TAGETES PATULA

Chervonnaya N.M.<sup>1</sup>, Andreeva O.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, a branch of the Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, Russian Federation, e-mail: [nadezhda.chervonnaya@yandex.ru](mailto:nadezhda.chervonnaya@yandex.ru)

This article discusses the results of studies of antioxidant activity of extracts from the flowers *Tagetes patula*. With use liquid chromatograph "Color Jauza-01-AA" studied the total content of antioxidants in extracts obtained from the flowers *Tagetes patua*. Used amperometric method of measurement of mass concentration of antioxidants. The amount of antioxidants was determined by a graduated schedule according to the output signal from the concentration of quercetin and gallic acid. Studied the antioxidant activity of extracts from flowers of marigolds prostrate obtained by extraction with water and ethanol in different concentrations. It is established that the antioxidant content in 96% ethanol production amounted to 0,00675, 70% – 0,013, 40% – 0,032, water – 0,0035 mg/g in terms of quercetin, and gallic acid 0,005; 0,008; 0,0205; 0,0022 mg/g, respectively. Thus, the highest antioxidant effect has the extract obtained by extraction with 40% ethanol.

Keywords: antioxidant activity, flowers *Tagetes patule*, quercetin, gallic acid

Известно, что накопление свободных радикалов в организме человека приводит к возникновению множества патохимических процессов, в результате чего повреждаются стенки сосудов, липидные мембраны клеток, что приводит к таким серьезным патологическим изменениям, как сердечно-сосудистые и онкологические заболевания, а также преждевременное старение. Количество свободных радикалов (супероксидный анион-радикал, пероксид водорода, гидроксил радикал и др.) возрастает за счет снижения активности естественной антиоксидантной системы человека из-за воздействия таких факторов, как радиация, УФ облучение, курение, алкоголизм, постоянные стрессы, инфекционные болезни, некачественное питание. Вредное влияние на организм "свободных радикалов" можно уменьшить за счет систематического употребления некоторых

лекарственных препаратов растительного происхождения, биологически активных добавок, содержащих флавоноиды, а также продуктов питания и напитков, обладающих высокой антиоксидантной активностью [1,3]. Основные природные антиоксиданты - витамины Е и С, полифенолы, флавоноиды, ароматические оксикислоты, антоцианы и др. Антиоксиданты защищают клеточные структуры от повреждающего действия свободных радикалов, а это предохраняет организм человека от болезней. Из всех групп природных соединений, применяемых в медицинской практике, особое место занимают флавоноиды, которые опосредованно через ферментные системы регулируют окислительно-восстановительные процессы, определяющие, в первую очередь, состояние клеточной мембраны [6].

### **Цель исследования**

По данным литературы имеются сведения об антиоксидантной активности флавоноидов рода *Tagetes* [2].

Целью настоящего исследования является изучение антиоксидантной активности извлечения из цветков бархатцев распростертых (*Tagetes Patula*), полученное экстракцией сырья водой и этанолом различной концентрации.

### **Материалы и методы**

Определение общего содержания антиоксидантов в различных извлечениях из цветков бархатцев распростертых проводили на жидкостном хроматографе «Цвет Яуза-01-АА»

Массовую концентрацию антиоксидантов измеряли, используя градуировочный график зависимости выходного сигнала от концентрации кверцетина и/или галловой кислоты.

Сущность амперометрического метода измерения массовой концентрации антиоксидантов заключается в измерении силы тока, возникающего при окислении молекул антиоксиданта на поверхности рабочего электрода при определенном потенциале, который после усиления преобразуется в цифровой сигнал. Величина, возникающей при этом силы электрического тока, будет зависеть как от природы и концентрации анализируемых веществ, так и от типа материала рабочего электрода и потенциала, приложенного к электроду[4].

### **Результаты работы и их обсуждение**

Водно-спиртовые, спиртовые и водные извлечения антиоксидантов определяли исходя из площадей пиков дифференциальных кривых соответствующих экстрактов [6]. Площади пиков, а также концентрации антиоксидантов в пересчете на галловую кислоту и кверцетин представлены в таблице 1.

Таблица 1

Содержание антиоксидантов (в пересчете на кверцетин и галловую кислоту), полученных из цветков бархатцев распротертых:

Объект исследования: бархатцы распротертые	Используемые экстрагенты	Площадь пика ( $S_n$ и $A/c$ )	Содержание антиоксидантов (в пересчете на кверцетин, мг/г)	Содержание антиоксидантов (в пересчете на галловую кислоту, мг/г)
цветки	спирт этиловый 96%	457,98	$0,00675 \pm 0,004$	$0,005 \pm 0,006$
цветки	спирт этиловый 70%	763,74	$0,013 \pm 0,002$	$0,008 \pm 0,005$
цветки	спирт этиловый 40%	1516,45	$0,032 \pm 0,003$	$0,0205 \pm 0,002$
цветки	вода	4168,79	$0,0035 \pm 0,002$	$0,0022 \pm 0,001$

Исходя из экспериментальных данных, представленных в таблице 1, можно сделать вывод о том, что максимальное содержание антиоксидантов выявлено в экстракте из цветков бархатцев распротертых, полученным 40% спиртом этиловым.

Методика выполнения измерений содержания антиоксидантов в напитках и пищевых продуктах, биологически активных добавках, экстрактах лекарственных растений амперометрическим методом, разработанная ОАО НПО «Химавтоматика», аттестована ФГУП Всероссийский научно-исследовательский институт метрологической службы в соответствии с ГОСТ Р 8.563-96, ГОСТ Р ИСО 5725-2002 (свидетельство об аттестации МВИ № 31-07).

При соблюдении всех регламентированных условий и проведения анализа в точном соответствии с данной методикой значение погрешности (и ее составляющих) результатов измерений, не должны превышать значений, представленных в таблице 2.

Таблица 2

Метрологические характеристики, приведенные в аттестованной ФГУП ВНИИМС методике

Диапазон измерений массовой концентрации (массовой доли), мг/г (по кверцетину)	Показатель точности (границы относительной погрешности) $\pm \delta$ %, при $P=0,95$	Показатель повторяемости (относительное средне-квадратическое отклонение повторяемости), $\sigma_r$ , %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), $\sigma_R$ , %	Предел повторяемости, г, %, $P=0,95$ , $n=2$
От 0,2 до 4000 вкл.	28	10	14	28

Методика получения анализируемых извлечений: для приготовления экстрактов сырье предварительно измельчали. Точную навеску измельченного сырья (около 1г) помещали в колбу вместимостью 100 мл, добавляли примерно 30 мл спирта этилового соответствующей концентрации или воды и кипятили на водяной бане в течение 30 минут. Содержимое колбы фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. Извлечение вышеуказанным способом повторяли еще 2 раза, фильтр промывали экстрагентом и доводили объем фильтрата до метки. В случае необходимости пробу разбавляли [5].

Перед выполнением каждого цикла анализируемых проб проводили контроль чистоты аналитической системы. Для этого после выхода прибора на рабочий режим в него в качестве пробы вводили элюент. Если дрейф фонового тока не превышает 5%, система считается чистой. Для каждой из проб проводили по пять последовательных измерений выходного сигнала (площади пика) анализируемого антиоксиданта. Массовую концентрацию антиоксидантов исследуемого образца, эквивалентную кверцетину, определяли по градуировочному графику кверцетина. При расчете результата учитывали разбавление пробы. Массовую концентрацию  $X$ , мг/г, определяли по формуле:

$$X = \frac{X_{\Gamma} * V_n * N}{m_n * 1000},$$

где  $X_{\Gamma}$  – массовая концентрация антиоксидантов, найденная по градуировочному графику, мг/л;  $V_n$  – объем экстракта анализируемой пробы, мл;  $m_n$  – навеска анализируемого вещества, г;  $N$  – кратность разбавления анализируемого образца.

Если выполняется условие приемлемости, за результат измерений принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений:

$$\frac{2 | X_1 - X_2 | * 100}{X_1 + X_2} \leq r,$$

где  $X_1, X_2$  – результаты параллельных определений массовой концентрации (массовой доли) антиоксидантов, (мг/г);  $r$  – значение предела повторяемости, в данном случае равно 10.

Если условие, представленное выше не выполняется, то получают еще по два результата в полном соответствии с приведенной МВИ. Тогда за результат измерений принимают среднее арифметическое значение результатов четырех определений, если выполняется условие (8).

$$\frac{4 | X_{max} - X_{min} | * 100}{(X_1 + X_2 + X_3 + X_4)} \leq CR_{0.95},$$

где  $X_{max}, X_{min}$  – максимальное и минимальное значения из полученных четырех результатов параллельных определений массовой концентрации (массовой доли) антиоксидантов, мг/г;

$CR_{0,95}$  - значение критического диапазона для уровня вероятности  $P=0,95$  и  $n$ -результатов определений, равно:

$$CR_{0,95} = f(n) * \sigma,$$

где:  $f(n)$  – коэффициент критического диапазона, для  $n=4$  равен 3,6

$\sigma$  – относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости, равное в данном случае 10% (таблица 2).

Таким образом, условие примет для данного метода следующий вид:

$$\frac{4 | X_{max} - X_{min} | * 100}{( X_1 + X_2 + X_3 + X_4 )} \leq 36$$

Если данное условие не выполняется, выясняют причины превышения критического диапазона, устраняют их и повторяют выполнение измерений в соответствии с требованиями МВИ.

Результаты анализа в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде:

$$\bar{X} \pm 0.01 * \delta * X, \text{ при } P = 0.95,$$

где  $\bar{X}$  – среднее арифметическое значение результатов  $n$  определений, признанных приемлемыми по неравенствам (8) или (10);  $\pm \delta$  – границы относительной погрешности, %, (таблица 2).

### **Выводы**

Установлено содержание антиоксидантов в спиртовых и водно-спиртовых, водных извлечениях цветков бархатцев распростертых. Извлечение, полученное экстракцией спиртом этиловым 40%, проявляет максимальную антиоксидантную активность. Эти данные явились обоснованием для выбора спирта этилового 40% в качестве оптимального экстрагента при получении биологически активной субстанции для последующих исследований.

### **Список литературы**

1. Антиоксидантная и адаптогенная активность некоторых перспективных видов лекарственного растительного сырья / Д.А. Коновалов и др. // Человек и лекарство: тез. докл. 11 Рос. нац. конгр. 19-23 апр. 2004 г. – М., 2004 – С. 877-878.
2. Короткова, Е.И. Новый вольтамперометрический способ определения активности антиоксидантов/ Е.И. Короткова, Ю.А. Корбаинов // Биоантиоксидант: тез. докл. VI Междунар. конф. 16-19 апр. 2002 г. – М., 2002. – С.298-299.

3. Кьюсов П.А. Полный справочник лекарственных растений. – М.: ЭКСМО – Пресс, 2000. – С.399-401.
4. Пат.2238554 Российская Федерация, МКИ G01 N33/15 N27/26. Способ определения суммарной антиоксидантной активности биологически активных веществ / В.П. Пахомов [и др.] (РФ). - №2003123072/15; заявл. 25.07.03; опубл. 20.10.04, Бюл. №15.
5. Подгорная Ж.В. Исследование цветков бархатцев распростертых (*Tagetes patula*) с целью получения биологически активных веществ: дис. канд. фарм. наук. – Пятигорск, 2008. – 190 с.
6. Яшин, А.Я. Прибор для определения антиоксидантной активности растительных лекарственных экстрактов и напитков / А.Я Яшин, Я.И. Яшин // Междунар. информационная система по резонансным технологиям. – 2004. - №34. – С.10-14.

**Рецензенты:**

Оганесян Э.Т., д.ф.н., профессор, заведующий кафедры органической химии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск;

Попова О.И., д.ф.н., профессор кафедры фармакогнозии, Пятигорский медико-фармацевтический институт, филиал, ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск.