3. Абрамченко, В. В., Башмакова, М. А., Корхов, В. В. Антибиотики в акушерстве и гинекологии. – СПб.: СпецЛит, 2002. – 218 с.
4. Косинец, А. Н., Окулич, В. К. Проблемы при лечении противобактериальными препаратами в гинекологической практике // Новости хирургии. – 2008. – Т. 9, № 2. – С. 70-72.
5. Анкирская, А. С., Муравьева, В. В. Лабораторная диагностика оппортунистических инфекций влагалища // Cons. medic. – 2005. – № 3 – С. 206-210.
6. Борхсениус, С. Н., Чернова, О. А., Чернов, В. М., Вонский, М. С. Бактериальные вагиниты. – СПб.: Наука, 2002. – 320 с.
7. Соколовский, Е. В., Савичева, А. М., Домейка, М. И. и др. Инфекции, передаваемые половым путем: рук. для врачей. – М.: МЕДпрессинформ, 2006. – 256 с.

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ЦВЕТОВ ТЫСЯЧЕЛИСТНИКА (*ACHILLEA*)

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF MILFOIL FLOWERS EXTRACTS (*ACHILLEA*)

Е. И. Тарун¹, А. Н. Кухта¹, В. П. Курченко²

E. Tarun¹, A. Kuxta¹, V. Kurchenko²

¹Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А.Л. Сахарова, БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь

²Белорусский государственный университет, г. Минск, Республика Беларусь
ktarun@tut.by

¹Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

²Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

Проведено сравнительное изучение антиоксидантной активности экстрактов 10 видов цветов тысячелистника. Получены зависимости интенсивности флуоресценции флуоресцеина от логарифма концентрации экстрактов цветов тысячелистника, из которых графически определены показатели IC_{50} . Экстракты цветов тысячелистника восстанавливали флуоресценцию флуоресцеина до 76-88 % при концентрации образцов 0,1-1 %. Показатели IC_{50} находились в пределах 0,47-15,1·10⁻³ %.

The comparative study of the antioxidant activity of extracts of 10 species of milfoil flowers was carried out. The dependences of the fluorescence intensity of fluorescein on the logarithm of the concentration of milfoil flowers extracts are obtained, from which IC_{50} values are graphically determined. Milfoil flowers extracts restored fluorescence of fluorescein to 76-88 % at a sample concentration of 0,1-1%. IC_{50} values were in the range of 0,47-15,1·10⁻³ %.

Ключевые слова: антиоксидантная активность, экстракты цветов тысячелистника, флуоресцеин.

Keywords: antioxidant activity, extracts of milfoil flowers, fluorescein.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2020-2-174-177>

Род тысячелистники (*Achillea*) включает более 100 видов, которые в основном распространены в северном полушарии. Они широко используются в традиционной европейской медицине для лечения лихорадок, гипертонии, желудочно-кишечных расстройств и остановки кровотечения и заживления ран. Ранее проведенными исследованиями доказано, что различные виды тысячелистников обладают антиоксидантной и антипролиферативной активностью [1-4]. Фитохимические исследования показали, что многие виды рода *Achillea* содержат фенилпропаноиды, флавоноиды, флавонолы, флавоны и их производные, такие как хлорогеновая [1-3], протокатеховая [2], галловая [2], кофейная [1, 2, 4], ферулиновая [2, 4] кислоты, рутин [1-4], кверцетин [2, 4], лютеолин и лютеолин глюкозид [1, 3, 4], апигенин и апигенин глюкозид [1, 4]. Хроматографический анализ тысячелистника Биберштейна и благородного показал высокое содержание кверцетин глюкозида [4]. Сравнительный хроматографический анализ цветов и листьев *Achillea grandifolia* показал различное содержание в них фенилпропаноидов и флавоноидов [4]. Так, цветы содержат большее количество рутина, лютеолина и лютеолин глюкозида и не содержат кверцетина, кофейной и хлорогеновой кислот, которые обнаружены в листьях данного вида тысячелистника. Ведутся работы по расширению объектов фитохимического анализа тысячелистников для изучения состава различных вторичных метаболитов - сесквитерпеновых лактонов, флавоноидов, эфирных масел. Необходимо отметить, что в зависимости от региона произрастания, климатических условий состав вторичных метаболитов будет иметь внутривидовые различия.

Проведено сравнительное исследование антиоксидантной активности (далее – АОА) экстрактов 10 видов цветов тысячелистника. Метод определения АОА по отношению к активированным формам кислорода (далее – АФК) основан на измерении интенсивности флуоресценции окисляемого соединения и ее уменьшении

под воздействием АФК. В настоящей работе для детектирования свободных радикалов использован флуоресцеин, обладающий высоким коэффициентом экстинкции и близким к 1 квантовым выходом флуоресценции. Генерирование свободных радикалов осуществляли, используя систему Фентона, в которой образуются гидроксильные радикалы при взаимодействии комплекса железа (Fe^{2+}) с этилендиаминтетрауксусной кислотой (EDTA) и пероксида водорода [5]. При взаимодействии флуоресцеина со свободными радикалами происходит тушение его флуоресценции, восстановить которую можно при добавлении в систему веществ, проявляющих антиоксидантные свойства.

Приготовление водного экстракта из цветов различных видов тысячелистника:

Экстракты цветов готовили следующим образом: навески цветов тысячелистника измельчали в электрической кофемолке. Из измельченного стандартизированного по размерам частиц сырья (0,1 г) экстрагировали 70% метиловым спиртом в течение одного часа на водяной бане, затем экстрагировали 48 ч при комнатной температуре. Соотношение сырье (г): экстрагент (мл) составило – 1:10. После экстракции сырье пропускали через бумажный фильтр.

Приготовление раствора экстракта из листьев различных видов тысячелистника:

Концентрацию исходного раствора экстракта принимали за 100 %. Делали ряд разведений исходного раствора экстракта, концентрации которых составляли 50 - 10⁻³ %. Концентрации растворов экстракта в пробе уменьшались в 10 раз и составляли 5 - 10⁻⁴ %.

Измерения флуоресценции проводили на флуориметре RF-5301 PC («Shimadzu», Япония). Регистрировали интенсивность флуоресценции на длине волны 514 нм. Длина волны возбуждения – 490 нм.

Для всех образцов получены зависимости интенсивности флуоресценции флуоресцеина от логарифма концентрации экстрактов цветов тысячелистника. На рисунке 1 представлены зависимости интенсивности флуоресценции флуоресцеина от логарифма концентрации экстрактов цветов тысячелистника азиатского (Кемерово) (1) и азиатского (Хакасия) (2). Исследования проведены в широком диапазоне концентраций 10⁻⁴ - 5 %. Образцы экстрактов цветов тысячелистника начинали проявлять АОО при концентрации 10⁻⁴%. При последующем увеличении концентрации экстрактов наблюдается увеличение подавления действия свободных радикалов и возрастание флуоресценции флуоресцеина до 81-83 % при концентрации образцов 0,1 %, что соответствует разведению исходного экстракта в 1000 раз (табл.). Зависимости практически аналогичны, что может свидетельствовать об одинаковом составе веществ, отвечающих за антиоксидантные свойства, отличающихся по количественному составу.

Рисунок 1 – Зависимость интенсивности флуоресценции флуоресцеина (A) от логарифма концентрации (C) экстрактов цветов тысячелистника азиатского (Кемерово) (1) и азиатского (Хакасия) (2)

Таблица 1 – Показатели антиоксидантной активности соков экстракта цветов тысячелистника

№	Название образца	$A_{\max}$, %	$C_{\max}$, %	$IC_{50} \cdot 10^{-3}$, %
1	Т. азиатский (Кемерово)	83	0,1	0,47
2	Т. мелкоцветный	88	0,1	1,3
3	Т. щетинистый	88	0,1	2
4	Т. азиатский (Хакасия)	81	0,1	2,14
5	Т. благородный	81	0,1	2,4
6	Т. азиатский (Казахстан)	81	0,1	3,63
7	Т. таволговый	81	0,1	4,1
8	Т. каратавский	76	0,1	4,5
9	Т. Биберштейна	87	0,1	5
10	Т. обыкновенный	85	1	15,1

Графически определены показатели IC_{50} – концентрация экстрактов цветов тысячелистника, при которой достигается 50% ингибирования свободных радикалов (табл.). Минимальный показатель IC_{50} ($0,47 \cdot 10^{-3}$ %) получен для образца тысячелистника азиатского (Кемерово), что свидетельствует о его максимальной антиоксидантной активности. Показатель IC_{50} тысячелистника мелкоцветного ($1,3 \cdot 10^{-3}$ %) в 2,8 раза выше. Показатели IC_{50} тысячелистника щетинистого, азиатского (Хакасия) и благородного близки по значениям ($2-2,4 \cdot 10^{-3}$ %) и в 4,3-5 раз выше аналогичного показателя тысячелистника азиатского (Кемерово). Еще более высокие значения показателя IC_{50} получены для образцов тысячелистника азиатского (Казахстан), таволгового, каратавского и Биберштейна ($3,63-5 \cdot 10^{-3}$ %), в 7,7 – 10,6 раз выше аналогичного показателя тысячелистника азиатского (Кемерово). Максимальный показатель IC_{50} ($15,1 \cdot 10^{-3}$ %) определен для образца тысячелистника обыкновенного. Он в 32 раза превышает IC_{50} тысячелистника азиатского (Кемерово), что может свидетельствовать о минимальной активности данного образца.

Образцы тысячелистника мелкоцветного, щетинистого и Биберштейна восстанавливали флуоресценцию флуоресцеина до максимально высоких значений 87-88 %. Тысячелистник обыкновенный восстанавливал флуоресценцию флуоресцеина до 85 %, однако при этом его концентрация была на порядок выше остальных образцов. Самый низкий показатель A_{max} (76 %) определен для образца тысячелистника каратавского.

Представляет интерес сравнение 3-х экстрактов цветов тысячелистника одного вида – азиатского, произрастающего в разных регионах: Казахстан, Хакасия и Кемерово. Показатели A_{max} тысячелистника азиатского (Казахстан) и азиатского (Хакасия) одинаковы (81 %). Несколько выше (83 %) значение этого показателя тысячелистника азиатского (Кемерово). Все образцы достигают максимальной активности при одинаковой концентрации (0,1 %). Более существенные различия наблюдаются в показателях IC_{50} . Показатель IC_{50} тысячелистника азиатского (Кемерово) ($0,47 \cdot 10^{-3}$ %) – минимальный. Показатели IC_{50} тысячелистника азиатского (Хакасия) ($2,14 \cdot 10^{-3}$ %) и (Казахстан) ($3,63 \cdot 10^{-3}$ %) выше в 4,6 и 7,7 раза. Таким образом, антиоксидантная активность экстрактов из цветов тысячелистников убывает в ряду: азиатский (Кемерово) > азиатский (Хакасия) > азиатский (Казахстан).

На рисунке 2 представлены зависимости интенсивности флуоресценции флуоресцеина (A) от логарифма концентрации экстрактов цветов тысячелистника мелкоцветного (1), щетинистого (2), Биберштейна (3) и азиатского (Казахстан) (4).

Рисунок 2 – Зависимость интенсивности флуоресценции флуоресцеина (A) от логарифма концентрации (C) экстрактов цветов тысячелистника мелкоцветного (1), щетинистого (2), Биберштейна (3) и азиатского (Казахстан) (4)

Схожая структура полученных зависимостей, в особенности для образцов 1 и 2, может свидетельствовать об одинаковом качественном составе веществ, отвечающих за антиоксидантные свойства. Кроме того, характер этих зависимостей отличается от рассмотренных на рисунке 1, что свидетельствует о различном качественном составе антиоксидантных веществ данных четырех образцов и образцов тысячелистника азиатского (Кемерово) и азиатского (Хакасия).

На рисунке 3 представлены зависимости интенсивности флуоресценции флуоресцеина (A) от логарифма концентрации экстрактов цветов тысячелистника благородного (1), таволгового (2), и каратавского (3). Зависимости, полученные для этих образцов, также имеют одинаковую тенденцию, предполагающую идентичный качественный состав антиоксидантных веществ.

Полученные данные показывают, что каждый вид тысячелистника содержит в своем составе индивидуальный набор веществ, отвечающих за антиоксидантную активность. Место произрастания тысячелистника также влияет на качественный и количественный состав антиоксидантных веществ. Образцы цветов тысячелистника, имеющие предположительно близкий состав веществ, отвечающих за антиоксидантные свойства, можно объединить в три группы:

1. тысячелистник азиатский (Кемерово) и азиатский (Хакасия);
2. тысячелистник мелкоцветный, щетинистый, Биберштейна и азиатский (Казахстан);
3. тысячелистник благородный, таволговый и каратавский.

Рисунок 3 – Зависимость интенсивности флуоресценции флуоресцеина (A) от логарифма концентрации (C) экстрактов цветов тысячелистника благородного (1), таволгового (2), и каратавского (3).

ЛИТЕРАТУРА

1. Vitalini, S. Phenolic compounds from *Achillea millefolium* L. and their bioactivity/S. Vitalini [et al] //Acta Biochim, 2011. – V. 58. – P.203-209.
2. Serdar, G. Extraction of antioxidative principles of *Achillea biserrata* M. Bieb. And chromatographic analyses/G. Serdar [et al]// J. of Secondary Metabolite, 2015. – V.2. – P.3-15.
3. Benetis, R. Variability of phenolic compounds in flowers of *Achillea millefolium* wild populations in Lithuania/R. Benetis, J. Radusiene, V. Janulis//Medicina (Kaunas), 2008. – V. 44 (10). – P.775-781.
4. Taskin, D. Analysis of natural dyestuffs in *Achillea grandifolia* Friv. Using HPLC-DAD and Q-TOF LC/MS/D. Taskin, D.B. Alkaya, E. Dolen//Indian J. of Traditional Knowledge. – 2017. – V. 16 (1). – P. 83-88.
5. Тарун, Е.И. Антиоксидантная активность гексагидрохинолонов / Е.И. Тарун, А.В. Данькова, А.Н. Пырков// Журнал Белорусского государственного университета. Экология. – 2019. – № 2. – С.77-83.

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ЛИСТЬЕВ ТЫСЯЧЕЛИСТНИКА (*ACHILLEA*) ANTIOXIDANT ACTIVITY OF MILFOIL LEAVES EXTRACTS (*ACHILLEA*)

Е. И. Тарун¹, А. А. Небокаткина¹, В. П. Курченко²
E. Tarun¹, A. Nebokatkina¹, V. Kurchenko²

¹Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А.Д.Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь

²Белорусский государственный университет, г. Минск, Республика Беларусь
ktarun@tut.by

¹Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

²Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

Проведено сравнительное изучение антиоксидантной активности экстрактов 10 видов листьев тысячелистника. Получены зависимости интенсивности флуоресценции флуоресцеина от логарифма концентрации экстрактов листьев тысячелистника, из которых графически определены показатели IC_{50} . Экстракты листьев тысячелистника восстанавливали флуоресценцию флуоресцеина до 71-85 % при концентрации образцов 0,1-1 %. Показатели IC_{50} находились в пределах $0,53-2,63 \cdot 10^{-2}$ %.

The comparative study of the antioxidant activity of extracts of 10 species of milfoil leaves was carried out. The dependences of the fluorescence intensity of fluorescein on the logarithm of the concentration of milfoil leaves extracts are obtained, from which IC_{50} values are graphically determined. Milfoil leaves extracts restored fluorescence of fluorescein to 71-85% at a sample concentration of 0,1-1%. IC_{50} values were in the range of $0,53 - 2,63 \cdot 10^{-2}$ %.

Ключевые слова: антиоксидантная активность, экстракты листьев тысячелистника, флуоресцеин.

Keywords: antioxidant activity, extracts of milfoil leaves, fluorescein.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2020-2-177-180>