

## ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ

## БИОФИЗИКА

DOI: 10.32743/UniChem.2021.86.8.12125

ФИТОХИМИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ И АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ  
ЭКСТРАКТОВ РАСТЕНИЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В УЗБЕКИСТАНЕ**Бокова Анна Александровна***стажёр-исследователь,  
лаборатория растительных цитопротекторов,  
Институт биоорганической химии АН РУз,  
Узбекистан, г. Ташкент***Гайибов Улугбек Гаппарджанович***PhD, ст. науч. сотр.,  
лаборатория растительных цитопротекторов,  
Институт биоорганической химии АН РУз,  
Узбекистан, г. Ташкент***Гайибова Сабина Наримановна***PhD, ст. науч. сотр.,  
лаборатория растительных цитопротекторов,  
Институт биоорганической химии АН РУз,  
Узбекистан, г. Ташкент  
E-mail: [gayibova.sabina@gmail.com](mailto:gayibova.sabina@gmail.com)***Турахожаев Муратбек Турахожаевич***PhD, главный технолог,  
Общество с ограниченной ответственностью «BIOTON»,  
Узбекистан, г. Ташкент***Арипов Тахир Фатихович***академик, лаборатория растительных цитопротекторов,  
Институт биоорганической химии АН РУз,  
Узбекистан, г. Ташкент*PHYTOCHEMICAL SCREENING AND ANTI-RADICAL ACTIVITY  
OF PLANT EXTRACTS GROWING IN UZBEKISTAN**Anna Bokova***Intern Researcher, Laboratory of Plant Cytoprotectors,  
Institute of Bioorganic Chemistry of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan,  
Tashkent, Uzbekistan***Ulugbek Gayibov***PhD, Senior Research Scientist,  
Laboratory of Plant Cytoprotectors,  
Institute of Bioorganic Chemistry of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan,  
Tashkent, Uzbekistan,*

**Sabina Gayibova***PhD, Senior Research Scientist, Laboratory of Plant Cytoprotectors,  
Institute of Bioorganic Chemistry of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan,  
Tashkent, Uzbekistan***Muratbek Turakhojayev***PhD, Head Technician, LLC "BIOTON",  
Uzbekistan, Tashkent***Tahir Aripov***Academician, Laboratory of Plant Cytoprotectors,  
Institute of Bioorganic Chemistry of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan,  
Uzbekistan, Tashkent*

### АННОТАЦИЯ

В данной работе проведены фитохимические исследования некоторых растительных экстрактов, полученных из лекарственных растений, произрастающих на территории Узбекистана. Экстракты растений получены 6-7 часовым экстрагированием в 70-% этаноле. Во всех исследованных экстрактах были обнаружены флавоноиды, причём наибольшее количество было получено у *Tanacetum pseudoachilea L.* (3,659 мг/100 мг) и *Petroselinum crispum L.* (3,293 мг/100 мг), минимальное – у *Ajuga turkestanica L.* Максимальное количество фенолов наблюдалось у образцов *Mentha longifolia L.* (2,154 мг/100 мг) и *Leonorus turkestanicus L.* (1,999 мг/100 г), наименьшее также у *Ajuga turkestanica L.* У эндемика *Ajuga turkestanica L.* зафиксировали наибольшее содержание сапонинов (1,122 мкг/100 мг). Танинов было больше у образцов *Petroselinum crispum L.* (462 мкг/100 мг) и *Zea mays L.* (453 мкг/100 мг), меньше всего у *Ajuga turkestanica L.* Результаты исследования показали, что изученные нами растительные экстракты проявляют антирадикальные свойства по отношению к радикалу дифенилпикрилгидразилу (ДФПГ).

### ABSTRACT

In the article, phytochemical investigations of some plant extracts obtained from medicinal plants growing on the territory of Uzbekistan have been carried out. Plant extracts are obtained by 6-7 hour extraction in 70% ethanol. Flavonoids have been found in all the studied extracts, with the largest amounts obtained in *Tanacetum pseudoachilea L.* (3,659 mg/100 mg) and *Petroselinum crispum L.* (3,293 mg/100 mg), the minimum-in *Ajuga turkestanica L.* The maximum amount of phenols has been observed in the samples of *Mentha longifolia L.* (2,154 mg/100 mg) and *Leonorus turkestanicus L.* (1,999 mg/100 g), the smallest also in *Ajuga turkestanica L.* The endemic *Ajuga turkestanica L.* the highest content of saponins (1,122 micrograms/100 mg) has been recorded. The samples had more tannins *Petroselinum crispum L.* (462 mcg/100 mg) and *Zea mays L.* (453 mcg/100 mg), the least in *Ajuga turkestanica L.* The research results have showed that the plant extracts studied by us exhibit anti-radical properties with respect to the radical diphenyl picryl hydrazyl (DPH).

**Ключевые слова:** эндемик, окислительный стресс, свободные радикалы, вторичные метаболиты.

**Keywords:** endemic; oxidative stress; free radicals; secondary metabolites.

Активные формы кислорода (АФК) и свободные радикалы (СР) являются промежуточными продуктами нормального метаболизма и играют решающую роль в передаче клеточных сигналов. Напротив, накопление избыточных АФК и СР провоцирует развитие окислительного стресса, который часто приводит к разнообразным нарушениям, включая снижение уровня АТФ в клетках, повышение цитозольного  $Ca^{2+}$ , повреждение ДНК, нарушение биологической функции липидного бислоя и т.д. Научные исследования последних десятилетий показывают, что окислительный стресс предшествует или сопутствует многим болезням – сердечнососудистым [15], онкологическим [13], сахарному диабету [6], нарушениям мозгового кровообращения [2], воспалительным [8], ревматоидным [12], нейродегенеративным (Паркинсона, Альцгеймера, шизофрении, аутизму) [17]. Успехи традиционного народного лечения лекарственными растениями всегда побуждали исследователей искать новые средства, способствующие поддержанию здорового образа жизни. Кроме

того, потенциал многих лекарственных растений все ещё не до конца изучен и требует дальнейшего научного изучения. Немаловажным является также установление способности растительных экстрактов проявлять мощную антиоксидантную активность.

В настоящее время применение целебных трав и аптечных сборов на их основе в традиционной и народной медицине особенно актуально, что обусловлено определенным преимуществом растений по сравнению с химическими медикаментозными препаратами.

Флора Узбекистана богата малоизученными перспективными растениями, которые применяют в народной медицине, в связи с чем возникает необходимость изучения и внедрения экстрактов растений, как природных источников антиоксидантов.

### Материалы и методы

**Экстракция растений.** В работе использовали растения, собранные в летний период 2020 года в горных районах и в окрестностях населённых пунктов Ангрэн и Бричмулла (Узбекистан) – *Ajuga*

*turkestanica L., Petroselinum crispum L., Leonurus cardiaca L., Matricaria recutita L., Tanacetum vulgare L., Zea mays L., Mentha spicata L., Inula helenium L.* Высушенные образцы измельчали до мелкодисперсного состояния и хранили в эксикаторах до экстракции. Экстракцию проводили в течение 12 ч 70% этанолом. Затем растворитель выпаривали с использованием ротационного испарителя при +50°C и концентрировали в вакууме до тех пор, пока процентное содержание влаги не стало менее 15%.

Все реактивы, используемые в настоящем исследовании, имели квалификацию «хч» и «чда».

#### **Качественный анализ растительных экстрактов**

Полученные экстракты растений анализировали на наличие сапонинов, флавоноидов, углеводов, белков, фенолов, терпентинов, алкалоидов, стероидов и сердечных гликозидов.

##### **Качественная реакция на флавоноиды.**

В экстракт растений добавляли несколько капель едкой щелочи (NaOH) с последующим добавлением 2-3 капель HCl. Наличие флавоноидов подтверждали обесцвечиванием щелочного раствора при добавлении соляной кислоты [11].

##### **Качественная реакция на редуцирующие сахара.**

К экстракту добавляли несколько капель реагента Бенедикта и кипятили на водяной бане [3]. Наличие редуцирующих сахаров подтверждали выпадением осадка красно-коричневого цвета.

##### **Качественная реакция на сапонины.**

Наличие сапонинов определяли по образованию обильной и стойкой пены при энергичном встряхивании водного раствора экстрактов [14].

##### **Качественная реакция на фенолы.**

Присутствие фенолов в экстракте подтверждали появлением фиолетового окраса при добавлении к нему 1% FeCl<sub>3</sub> [16].

##### **Качественная реакция на протеины.**

Наличие протеинов определяли при помощи Биуретового реагента согласно [5].

##### **Качественная реакция на терпеноиды.**

Наличие терпеноидов определяли при помощи реакции Salkowski согласно [4].

##### **Качественная реакция на алкалоиды.**

Наличие алкалоидов определяли при помощи реактива Mayer согласно [9].

##### **Качественная реакция на антрахиноны.**

Наличие алкалоидов определяли при помощи теста Borntrager согласно [1].

##### **Качественная реакция на сердечные гликозиды.**

Наличие сердечных гликозидов определяли при помощи теста Keller-Kilian согласно [14].

##### **Качественная реакция на стероиды.**

Наличие стероидов определяли при помощи теста Lieberman-Burghardt согласно [1].

#### **Общее содержание флавоноидов.**

Общее содержание флавоноидов оценивали согласно [18] спектрофотометрически при 510 нм. Рутин использовали в качестве стандарта для построения калибровочной кривой.

#### **Общее содержание фенолов.**

Общее содержание фенолов оценивали согласно [18] спектрофотометрически при 765 нм. В качестве стандарта для построения калибровочной кривой использовали галловую кислоту.

#### **Общее содержание сапонинов.**

Общее содержание сапонинов оценивали согласно [18] спектрофотометрически при 544 нм. В качестве стандарта для построения калибровочной кривой использовали глицирризиновую кислоту.

#### **Общее содержание танинов.**

Общее содержание танинов оценивали согласно [10] спектрофотометрически при 500 нм. В качестве стандарта для построения калибровочной кривой использовали эпигаллокатехин.

#### **Определение антирадикальной активности**

Антирадикальную активность определяли с помощью стандартного метода измерения кинетики реакции по изменению оптической плотности спиртового раствора радикала ДФПГ свободного (1,1-дифенил-2-пикрилгидразил) в присутствии исследуемых экстрактов согласно [7].

#### **Статистическая обработка данных.**

Данные анализировали с использованием программы OriginPro, версии 5-8 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, США). Все данные приведены как среднее значение ± стандартная ошибка для *n* экспериментов. Сравнения между двумя экспериментальными группами проводились с помощью *t*-теста Стьюдента или вариационного анализа (ANOVA). Различия считались статистически значимыми при *P* < 0,05.

#### **Результаты и обсуждение.**

На протяжении многих лет лекарственным травам приписывались преимущества, связанные с содержанием в них полифенольных соединений с антиоксидантной активностью. Антиоксидантное поведение полифенольных компонентов связано с их способностью задерживать или предотвращать автоокисление или окисление и связывать свободные радикалы, образуя более стабильные соединения, которые не могут подвергаться последующему окислению. Поскольку антиоксиданты, содержащиеся в большом количестве в растении, находятся на первом месте по снижению риска многих заболеваний, цель настоящего исследования была направлена на предварительный скрининг лекарственных растений, на предмет их фитохимического содержания и антиоксидантной активности.

Фитохимический анализ экстрактов представлен в таблице 1.

Танины, фенолы и флавоноиды были обнаружены во всех растительных экстрактах, в том время как наибольшее содержание сапонинов было представлено в экстракте *Ajuga turkestanica L.*

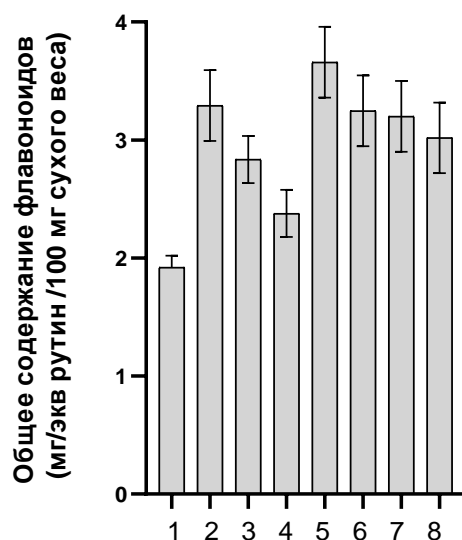
Таблица 1.

## Фитохимический скрининг выбранных экстрактов растений.

№	Фитокомпоненты	<i>Ajuga turkestanica</i> L.	<i>Petroselinum crispum</i> L.	<i>Leonurus turkestanicus</i> L.	<i>Matricaria recutita</i> L.	<i>Tanacetum vulgare</i> L.	<i>Zea mays</i> L.	<i>Mentha spicata</i> L.	<i>Inula helenium</i> L.
1	Флавоноиды	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	++
2	Редуцирующие сахара	-	-	-	-	-	-	+	-
3	Сапонины	+	-	-	-	-	-	-	-
4	Фенолы	+	+	+	+	+	+	+	+
5	Протеины	-	-	-	-	-	-	-	-
6	Терпеноиды	-	-	-	-	-	-	-	-
7	Алколоиды	-	-	-	-	-	-	-	-
8	Таннины	+	+	+	+	+	+	+	+
9	Антрахиноны	-	-	-	-	-	-	-	-
10	Сердечные гликозиды	-	-	-	-	-	-	-	-
11	Стероиды	-	-	-	-	-	-	-	-

Общее содержание флавоноидов в экстрактах определяли количественно путём калибровки рутинном

(рис. 1). Уравнение регрессии стандартной кривой рутинна представлено линейной зависимостью  $y=1,0933x$  с коэффициентом корреляции  $R^2=0,9905$ .



- 1 *Ajuga turkestanica* L.
- 2 *Petroselinum crispum* L.
- 3 *Leonurus turkestanicus* L.
- 4 *Matricaria chamomilla* L.
- 5 *Tanacetum pseudachillea* L.
- 6 *Zea mays* L.
- 7 *Mentha longifolia* L.
- 8 *Inula helenium* L.

Рисунок 1. Общее содержание флавоноидов в растительных экстрактах

Определение общего содержания фенолов показало наиболее высокие значения у образцов *Leonurus turkestanicus* L. и *Mentha longifolia* L. Уравнение регрессии стандартной кривой галловой кислоты также

было выражено зависимостью  $y = 0,0081x + 0,0151$  с коэффициентом корреляции  $R^2=0,9905$ .

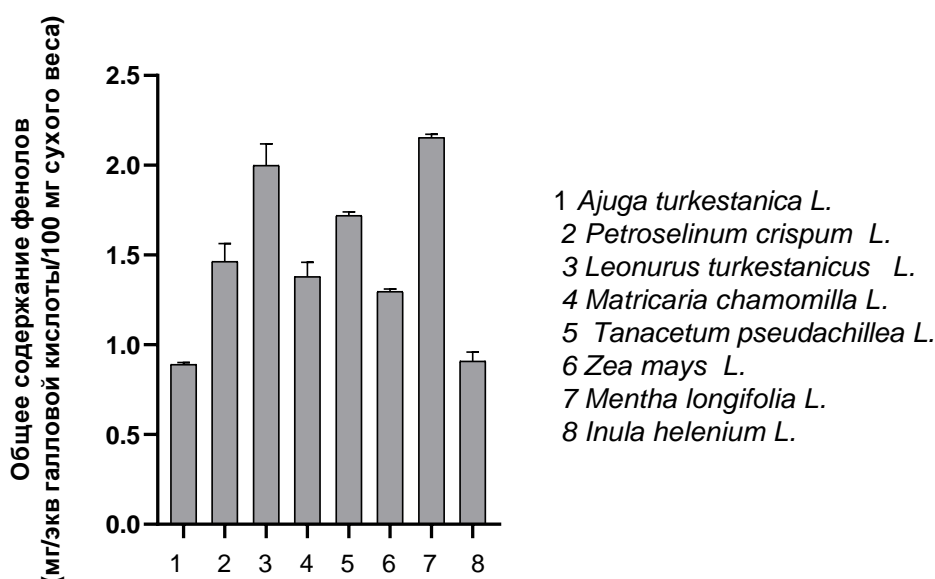


Рисунок 2. Общее содержание фенолов в растительных экстрактах

При определении общего содержания танинов наиболее высокие значения наблюдались у образцов *Petroselinum crispum* L. и *Zea mays* L. (рис. 3). Уравне-

ние регрессии калибровочной кривой по эпигалокатехину также было выражено зависимостью  $y = 0,3629x + 0,2201$  с  $R^2 = 0,9818$ .

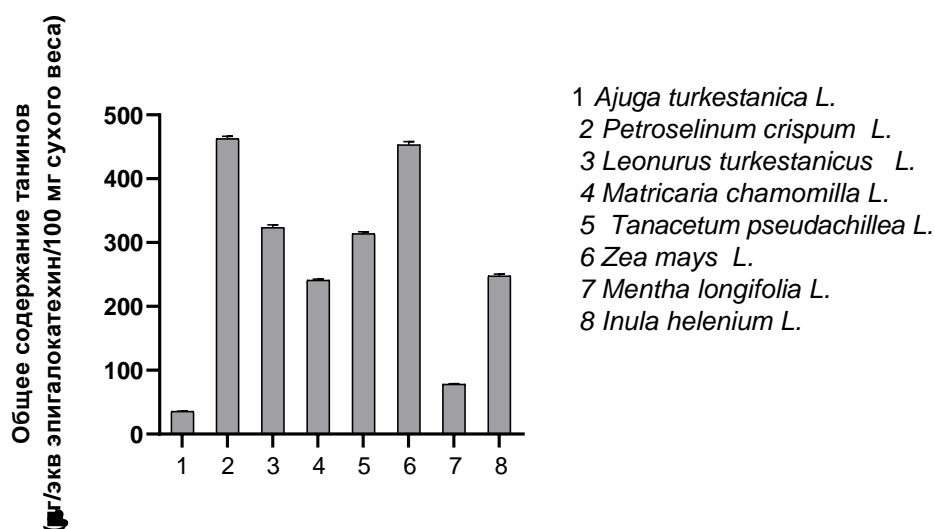


Рисунок 3. Общее содержание танинов в растительных экстрактах

Анализ на общее содержание сапонинов подтвердил результаты экспериментов качественного анализа.

Так, наибольшее содержание сапонинов наблюдалось у образца *Ajuga turkestanica* L.

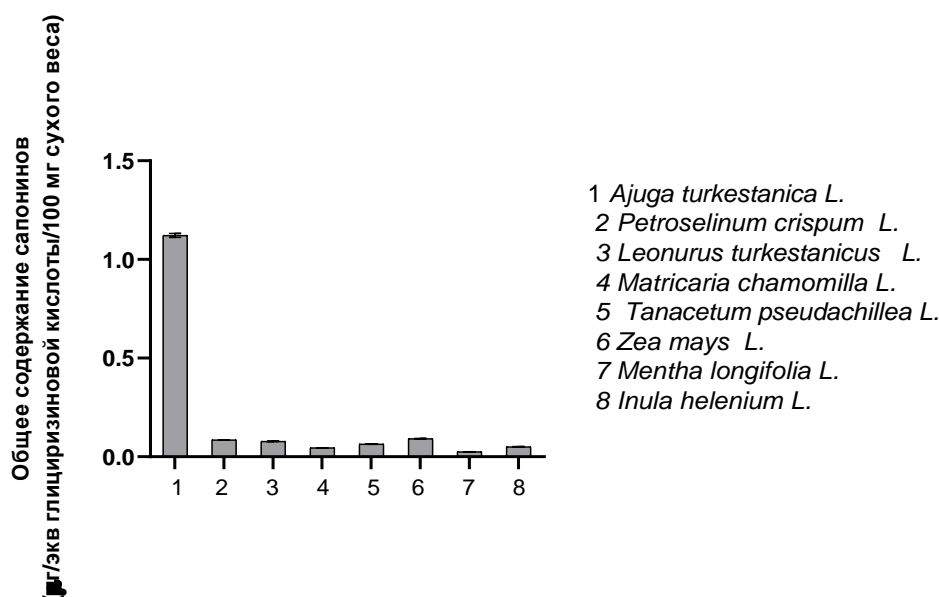


Рисунок 4. Общее содержание сапонинов в растительных экстрактах

Исследованные экстракты проявили высокую антирадикальную активность по отношению к свободному радикалу ДФПГ. Наиболее высокое значение

IC<sub>50</sub> наблюдалось у экстрактов *Ajuga turkestanica* L. и *Petroselinum crispum* L. (таблица 2).

Таблица 2.

Антиоксидантная активность исследованных растительных экстрактов

ДФПГ радикал	<i>Ajuga turkestanica</i> L.	<i>Petroselinum crispum</i> L.	<i>Leonurus turkestanicus</i> L.	<i>Matricaria recutita</i> L.	<i>Tanacetum vulgare</i> L.	<i>Zea mays</i> L.	<i>Mentha spicata</i> L.	<i>Inula helenium</i> L.
IC <sub>50</sub> (мг/мл)	17,69±0.231	12,40±0.741	10,96± 0.774	8,29± 0.349	1,53± 0.84	4,83± 0.871	1,68± 0.092	2,50± 0.55

### Заключение

В данной работе проведены фитохимические исследования некоторых лекарственных растений Узбекистана, включая эндемик – Живучка туркестанская. Наличие таких биологически активных компонентов как флавоноиды, фенолы, танины обусловило высокую антирадикальную активность экстрактов. В настоящее время в условиях экологического кризиса и избыточного потребления ксенобиотиков применение антиоксидантов для снижения окислительного стресса

является важным звеном в плане коррекции профилактики широкого спектра заболеваний. Это обуславливает повышенный интерес к поиску профилактических и лечебных антиоксидантных средств природного происхождения. Таким образом, вызывает особый интерес исследование по качественному и количественному составу, а также антирадикальной активности экстрактов лекарственных растений с целью дальнейшей разработки и создания на основе изученных растений импортозамещающих лекарственных средств профилактического и направленного действия.

### Список литературы:

1. Antimicrobial effects of Indian medicinal plants against acne-inducing bacteria / G.S. Kumar, K.N. Jayaveera, S.K.A. Kumar, U.P. Sanjay [et al.] // Trop J Pharm Res. – 2007. – № 6. – P. 717–723.
2. Chronic Exposure to Sodium Fluoride Triggers Oxidative Biochemistry Misbalance in Mice: Effects on Peripheral Blood Circulation / G. Miranda, B. Gomes, L.O. Bittencourt, W. Aragão [et al.] // Oxidative medicine and cellular longevity. – 2018. – 8379123 / [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1155/2018/8379123>.
3. Dwivedi A., Argal A. Extraction and Preliminary Phytochemical Screening of Leaves and Seeds of *Abelmoschus Moschatus* Medik // American Journal of Life Science Researches. – 2017. – № 5 (3). – P. 126–129.
4. Edeoga H.O., Okwu D.E., Mbaebie B.O. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants // Afr J Biotechnol. – 2005. – № 4. – P. 685–688.

5. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts / S. Sasidharan, Y. Chen, D. Saravanan, K.M. Sundram // *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines: AJTCAM*. – 2011. – № 8 (1). – P. 1–10.
6. Giacco F., Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications // *Circulation research*. – 2010. – № 107 (9). – P. 1058–1070 / [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.223545>.
7. In Vitro Screening of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Medicinal Plants Growing in Slovakia / S. Gayibova, E. Ivanišová, J. Árvay, M. Hřstková [et al.] // *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*. – 2019. – № 8. – P. 1281–1289.
8. Insights into the Role and Interdependence of Oxidative Stress and Inflammation in Liver Diseases / S. Li, M. Hong, H.Y. Tan, N. Wang [et al.] // *Oxidative medicine and cellular longevity*. – 2016. – 4234061 / [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1155/2016/4234061>.
9. Kumar S., Singh B.B., Kumar N. Physico-chemical and phytochemical investigation of plant *Sesbania sesban* // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. – 2014. – № 5. – P. 110–117.
10. Makkar H.P.S., Francis G., Becker K. Bioactivity of phytochemicals in some lesser-known plants and their effects and potential applications in livestock and aquaculture production systems // *Animal*. – 2007. – № 1. – P. 1371–1391.
11. Onwukaeme D.N., Ikuegbvweha T.B., Asonye C.C. Evaluation of Phytochemical Constituents, Antibacterial Activities and Effect of Exudate of *Pycnanthus Angolensis* Wedl Warb (Myristicaceae) on Corneal Ulcers in Rabbits // *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. – 2007. – Vol. 6. – Num 2.
12. Oxidative Stress in Rheumatoid Arthritis: What the Future Might Hold regarding Novel Biomarkers and Add-On Therapies / L. da Fonseca, V. Nunes-Souza, M. Goulart, L.A. Rabelo // *Oxidative medicine and cellular longevity*. – 2019. – 7536805 / [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1155/2019/7536805>.
13. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? / S. Reuter, S.C. Gupta, M.M. Chaturvedi, B.B. Aggarwal // *Free radical biology & medicine*. – 2010. – № 49 (11). – P. 1603–1616 / [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006>.
14. Parekh J., Chanda S.V. In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plants // *Turk J Biol*. – 2007. – № 31. – P. 53–58.
15. Senoner T., Dichtl W. Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases: Still a Therapeutic Target? // *Nutrients*. – 2019. – № 11 (9). – P. 2090 / [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/nu11092090>.
16. Simple and rapid spectrophotometric method for phenol determination in aqueous media / L. Bulgariu, A. Georgiana, T. Ichim, V. Radu // *Bulletin of the Polytechnic Institute of Jassy, CONSTRUCTIONS. ARCHITECTURE Section*. – 2018. – № 64. – P. 9–18.
17. The Role of Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases / G.H. Kim, J.E. Kim, S.J. Rhie, S. Yoon // *Experimental neurobiology*. – 2015. – № 24 (4). – P. 325–340 / [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://doi.org/10.5607/en.2015.24.4.325>.
18. Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals // *Food Chem*. – 1999. – № 64. – P. 555–559.