

**ИЗУЧЕНИЕ ГЕРОПРОТЕКТОРНОГО ПОТЕНЦИАЛА
ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ
РФ СИНЕГОЛОВНИКА, ЖИВОКОСТИ И ТЫСЯЧЕЛИСТНИКА
С ЦЕЛЬЮ СОЗДАНИЯ БАД ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ВОЗРАСТНОЙ
ПАТОЛОГИИ**

Бахтиярова Алина Халимовна – студентка 1 курса Института живых систем Балтийского федерального университета имени Иммануила Канта.

Научный руководитель – Ларина Виктория Викторовна – м.н.с. лаборатории микробиологии и биотехнологий Института живых систем Балтийского федерального университета имени Иммануила Канта.

***Аннотация:** были изучены элементный и витаминный составы синеголовника приморского (*Eryngium maritimum*), живокости полевой (*Delphinium consolida*), тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium*), подобраны параметры выделения биологически активных веществ этих растений в индивидуальном виде. Удалось выделить БАВ, обладающие антидиабетическими, противораковыми, антиоксидантными и противовоспалительными свойствами, что делает их перспективным сырьем для разработки рецептуры БАДов геропротекторного действия.*

***Ключевые слова:** геропротектор, биологически активные вещества, вторичные метаболиты, живокость полевая, синеголовник приморский, тысячелистник обыкновенный.*

Группы веществ, исследование которых выявило их способность увеличивать продолжительность жизни, имеют общее название – геропротекторы. Они оказывают положительное влияние на качество жизни организмов, в том числе увеличивают продолжительность жизни, повышают сопротивление стрессу, снижают скорость развития различных возрастных заболеваний и т.д. [11,13]. Так как лекарств-геропротекторов с доказанной эффективностью для человека на данный момент не существует [11], то говорить мы можем только о потенциальных геропротекторах, которые рациональнее принимать с пищей в виде БАДов, а не в виде лекарств. Уже известные лекарственные растения как природные источники веществ, обладающих геропротекторными свойствами, представляют наибольший интерес.

Одно из растений, экстракты которого потенциально могут проявлять геропротекторное действие – синеголовник. Он может использоваться как противовоспалительное и обезболивающее средство, афродизиак и мочегонное. Описание его антимикробной и антиоксидантной активности, а также положительного влияния на клетки печени встречаются в литературе [12].

Другое лекарственное растение – живокость – способна воздействовать на нервную систему. Препараты на ее основе могут использоваться при расстройствах двигательных функций органов, в частности болезни Паркинсона. В народной медицине отвары живокости используются при воспалении легких, коклюше, желудочно-кишечных заболеваниях, как слабительное, мочегонное и желчегонное средство. Растение обладает антибактериальной активностью, очищает раны и ускоряет заживление [2].

Растение тысячелистника широко используется в лекарственных целях. Например, в научно обоснованных рекомендациях медицинского характера тысячелистник упоминается как кровоостанавливающее средство при маточных и геморроидальных кровотечениях, а также в качестве лекарства при болезнях желудочно-кишечного тракта. В народной медицине отвары наземных частей тысячелистника используют для возбуждения аппетита, а также в качестве общеукрепляющее средство [4].

В связи с вышесказанным, целью данного научного исследования является скрининг биологически активных веществ синеголовника приморского (*Eryngium maritimum*), живокости полевой (*Delphinium consolida*), тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium*), произрастающих на территории Калининградской области, а также подбор параметров получения индивидуальных БАВ, которые могут послужить сырьем для производства биологически активных добавок к пище геропротекторного действия.

Материалы и методы

Определение содержания витаминов и микроэлементов.

Для комплексного изучения указанных растений на первом этапе определяли их витаминный и микроэлементный состав. Элементный состав изучали методом рентгенофлуоресцентной спектроскопии (РФС). Предварительно высушенное при температуре 40°C до постоянной массы сырье измельчали на лабораторной мельнице до порошкообразного состояния. Навеску массой 0,5 г прессовали в таблетку на подложке из борной кислоты при давлении 100 кН. Анод – Ag, кристалл-анализатор – LiF (200), напряжение 40 кВ, сила тока 0,1 А, экспозиция – 100 с, для железа – 50 с.

Витаминный состав лекарственных растений синеголовник приморский оценивали методом капиллярного электрофореза по методике М-04-72-2011 «Определение свободных форм водорастворимых витаминов в премиксах и витаминных смесях». Условия проведения измерений: 20 °С, 254 нм.

Определение тотальных выходов экстрактов и содержания БАВ.

С целью анализа содержания вторичных метаболитов фенольной природы в лекарственных растениях на первом этапе проводили подбор параметров экстракции. Для этого осуществляли экстракцию четырьмя различными способами: экстракция метанолом по методу Сокслета в течение 8 часов при нагревании, а также при комнатной температуре в течение 8 часов методом мацерации тремя растворителями: метанолом, метанольным раствором трифторуксусной кислоты (ТФУ), метанольным раствором гидроксида натрия. В ходе эксперимента оценивали максимальный выход сухого экстракта.

Далее в полученных растительных экстрактах исследуемых растений изучали содержание вторичных метаболитов фенольной природы методом ВЭЖХ. Разделение проводили при температуре 40 °С в режиме градиентного элюирования. Подвижная фаза: элюент А – 0,1% ТФУ в бидистиллированной воде, В – ацетонитрил. Скорость потока 1 мл/мин, аналитическая длина волны – 254, 280 и 325 нм.

Идентификацию компонентов проводили по временам удерживания и спектрам индивидуальных стандартных веществ. Концентрацию соединений рассчитывали по калибровочным уравнениям. Погрешность определения концентрации составляет 3 – 5 %.

Подбор параметров выделения индивидуальных биологически активных веществ.

С целью получения индивидуальных БАВ из растительных экстрактов синеголовника, живокости и тысячелистника применяли метод препаративной жидкостной хроматографии. Для этого в стеклянную хроматографическую колонку загружали суспензию силикагеля в гексане в таком количестве, чтобы силикагель занимал не более половины колоночного объема. Во всех случаях применяли колонки объемом 80 мл, при этом объем силикагеля не превышал 40 мл, масса силикагеля составляла порядка 15 грамм.

Экстракты лекарственных растений, полученных экстракцией метанолом по методу Сокслета, подвергали упариванию при пониженном давлении с последующим растворением их в смеси гексан : ацетон или хлористый метилен : метанол и наносили на колонку.

Экстракты лекарственных растений, полученных экстракцией метанолом с добавлением 0,1 М NaOH или метанолом с добавлением 0,1 М ТФУ методом мацерации, подвергали упариванию при пониженном давлении с последующим растворением их в дистиллированной воде. Доводили раствор до нейтрального pH с помощью 0,1 М HCl или 0,1 М NaOH. Нерастворимый в воде осадок отделяли методом центрифугирования и растворяли в смеси изопропанола и воды (1:1). Из водной части проводили вытяжку с помощью хлористого метилена, затем этилацетата. Все полученные образцы подвергали упариванию при пониженном давлении с по-

следующим растворением их в смеси гексан: ацетон (1:1) или хлористый метилен:метанол и наносили на колонку.

Элюирование вели в градиентном режиме в системе гексан:ацетон или хлористый метилен:метанол с градиентом 0...100 %, из расчета подъем концентрации ацетона на 10% каждые 10 фракций. Объем фракций составлял 4 мл. Состав растворителей для элюирования подбирался методом тонкослойной хроматографии (ТСХ).

Фракции, содержащие индивидуальные компоненты, отбирали с помощью метода ТСХ (отдельные пятна) при элюировании, упаривали, взвешивали и подвергали исследованию методами ВЭЖХ с использованием внешнего стандарта. Индивидуальные компоненты выделяли и доочищали методом ВЭЖХ.

Результаты и их обсуждение

Содержание витаминов и микроэлементов

В процессе изучения элементного состава выявлено, что исследуемое лекарственное сырье богато минералами и характеризуется наличием важных для жизнедеятельности человека микроэлементов.

Растения содержат цинк (31 – 37 мг/кг), который оказывает положительное влияние на ЖКТ и состав микробиоты кишечника [6]. Марганец, которым особенно богат синеголовник приморский (133 мг/кг), является активным центром многих ферментов, в том числе и антиоксидантных, защищающих организм от воздействия свободных радикалов [8]. Живокость полевая отличается большим содержанием железа – 466 мг/кг. Этот микроэлемент выполняет важнейшие функции в обмене веществ – обеспечивает транспорт кислорода, кроветворение и иммунобиологические процессы [8,5]. Стронций и кальций (наибольшее количество этих элементов обнаружено в живокости полевой) поддерживают секрецию инсулина в ответ на глюкозу в изолированных системах островков поджелудочной железы [14]. Кальций также принимает участие в механизме мышечного сокращения, участвует в свёртывании крови и играет большую роль в построении костной ткани [3].

В растительном сырье были обнаружены небольшие количества рубидия (от 10 до 28 мг/кг) и брома (от 5 до 10 мг/кг). В синеголовнике приморском установлено небольшое содержание никеля (6 мг/кг), в то время как в остальных растениях этот элемент отсутствует.

Далее был изучен витаминный состав экстрактов лекарственных растений. По результатам исследования в живокости полевой обнаружено большое содержание витамина В₂ (рибофлавина) (102,06 мг/кг), который в свою очередь участвует в обменных процессах, синтезе гемоглобина, влияет на зрительную функцию глаз [7, 9]. В синеголовнике же содержится гораздо меньшее количество рибофлавина – 10,36 мг/кг, а в тысячелистнике он не обнаружен. Содержание витамина В₅ (никотиновой кислоты) в растениях варьируется от 56,49 до 82,19 мг/кг. Никотиновая кислота вхо-

дит в состав ферментов, регулирующих основные обменные процессы белков, липидов и углеводов, улучшает функциональное состояние ЦНС, участвует в регенерации кожи [7]. Еще один витамин, обнаруженный в лекарственных растениях – это витамин В₆. Как кофермент, он участвует в ферментативных реакциях метаболизма, особенно важен для метаболизма аминокислот, в том числе при образовании нейромедиаторов [1, 7]. Наибольшее содержание этого вещества установлено в живокости полевой (125,75 мг/кг). В тысячелистнике обыкновенном зафиксировано 67,4 мг/кг витамина В₆, а в синеголовнике приморском – 29,57 мг/кг. Также в исследуемых растениях был обнаружен витамин С. Его содержание варьируется от 23,07 до 79,33 мг/кг. Витамин С обладает сильными восстановительными свойствами, участвует в синтезе гиалуроновой кислоты, кортикостероидов, необходим для синтеза коллагена, следовательно, обеспечивает постоянство соединительной ткани [7].

Тотальный выход экстрактов и содержание веществ фенольной природы.

Самые высокие выходы показали экстракты, полученные методом мацерации с метанолом + ТФУ, выход составил от 20,16 до 26,36 % от массы растения. Методом Сокслета удалось выделить 18,82 – 22,91% сухого экстракта от массы растения. Наименьший выход наблюдался в экстрактах, полученных методом мацерации с метанолом (от 7,9 до 14,6 %) и мацерации с метанолом + NaOH (от 4,7 до 8,9 %).

Результаты количественного анализа экстрактов, полученных с наибольшими выходами, представлены на рисунке 1. Самый разнообразный состав имел экстракт тысячелистника обыкновенного, полученный метанольным раствором ТФУ методом мацерации. В его составе были идентифицированы большие количества хлорогеновой и розмариновой кислот, лютеолин-7-глюкозида и апигенин-7-О-глюкозида. В меньших количествах были обнаружены феруловая и цикориевая кислоты, кверцетин-3D-глюкозид. Богат фенольными компонентами оказался и экстракт живокости полевой, полученный метанольным раствором ТФУ. Мажорными пиками на хроматограмме этого экстракта являлись пики гиперозида, хлорогеновой, п-кумаровой, цикориевой и кафтаровой кислот. Также были идентифицирован астрагалин. В экстракте синеголовника были обнаружены астрагалин в большом количестве, хлорогеновая, кофейная и розмариновая кислоты и лютеолин-7-глюкозид.

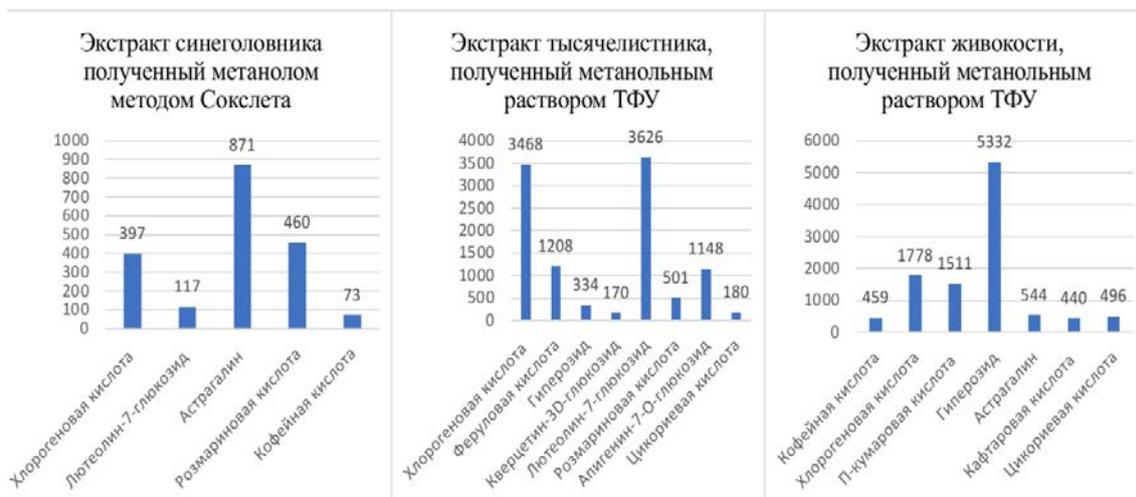


Рис. 1. Содержание фенольных компонентов в экстрактах с наибольшим тотальным выходом, в мг/кг

Получение индивидуальных БАВ

Для получения индивидуальных БАВ были разделены все полученные экстракты, однако лишь несколько соединений удалось выделить в индивидуальном виде.

Из метанольного экстракта синеголовника приморского (*Eryngium maritimum*) удалось получить образец, основным компонентом которого являлся астрагалин. Для этого при разделении на стеклянной хроматографической колонке были собраны фракции хлористый метилен: метанол = 8:2. Кроме того, из метанольного экстракта синеголовника приморского было выделено в индивидуальном виде производное кемпферола. Для этого метанольный экстракт был разделен на хроматографической колонке, собраны фракции хлористый метилен:метанол = 8:2. Затем методом ВЭЖХ с помощью коллектора фракций собрали пик со временем удерживания 18,324 мин.

Из метанольного экстракта (метод Сокслета) лекарственного растения живокость полевая (*Delphinium consolida*) при разделении на колонке собирали фракции гексан:ацетон = 8:2, из которых удалось отдельно собрать 2 индивидуальных соединения: не идентифицированную фенольную кислоту (принадлежность к классу определена по спектру поглощения) и гиперозид.

Из растительного экстракта тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium*) выделили производное апигенина. Для этого получили метанольный экстракт (метод Сокслета), при разделении на колонке собирали фракции гексан:ацетон = 7:3.

Все индивидуальные вещества были дополнительно очищены с помощью коллектора фракций ВЭЖХ. Определения выхода БАВ проводили методом лиофилизации, так как высокая температура высушивания может приводить к снижению их антиоксидантных свойств [10].

Таким образом, анализ элементного состава растений показал, что синеголовник богат такими микроэлементами, как марганец и цинк. В живокости обнаружено значительное содержание железа и стронция. Тысячелистник же содержит все эти элементы в меньшем количестве.

После изучения витаминного состава растений было установлено, что наибольшее количество витаминов группы В содержит живокость. Синеголовник богат витамином В₅ (никотиновой кислотой), а тысячелистник может быть хорошим источником витамина С.

После сравнения тотального выхода экстрактов был сделан вывод, что самыми оптимальными для экстракции данных растений являются экстракция метанолом по методу Сокслета и мацерация метанолом + ТФУ при комнатной температуре. При экстракции по методу Сокслета наибольший выход показал синеголовник приморский, а при мацерации живокость полевая.

Растения имеют разнообразный состав БАВ. Они содержат большое количество фенольных соединений, таких как хлорогеновая, феруловая, п-кумаровая кислоты, гиперозид и тд. Эти БАВ обладают антидиабетическими, противораковыми, антиоксидантными и противовоспалительными свойствами [15].

Также из исследуемых растений были выделены БАВ в индивидуальном виде. Из экстракта живокости полевой удалось выделить фенольную кислоту и гиперозид; из синеголовника приморского – астрагалин и вещество, являющееся производным кемпферола, а из тысячелистника было выделено производное апигенина. Таким образом, изученные растения могут быть перспективным сырьем для производства биологически активных добавок к пище, обладающих геропротекторными свойствами.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках исполнения Гранта Президента (соглашение № 075-15-2021-310 от 19.04.2021 г. (внутренний номер МД-135.2021.1.4))

Библиографический список:

1. Абдулрахимов, Д.Р. Исследование влияния витаминов группы В на обмен веществ в организме человека и животных / Д.Р. Абдулрахимов // Устойчивое развитие науки и образования. – № 1. – 2018. – С.200-206.
2. Барыкина Р.П. Живокость полевая / Р.П. Барыкина, Н.В. Чубатова // Биологическая флора Московской области. – № 11. – 1996. – С.60.
3. Буслаева Г.Н. Значение кальция для организма и влияние питания на его метаболизм / Г.Н. Буслаева // Педиатрия: Приложение к журналу Consilium Medicum. – № 3. – 2009. – С.4-7.
4. Губанов И. А. Иллюстрированный определитель растений Средней России / И.А. Губанов, К.В. Киселёва, В.С. Новиков, В.Н. Тихомиров.

– М.: Т-во науч. изд. КМК, Ин-т технолог. иссл. — Т. 3. Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные), 2004. – 319с.

5. Железо в организме человека. [Электронный ресурс] // <https://zdips.ru/zdorovoe-pitanie/mineraly/1639-zhelezo-v-organizme-cheloveka.html> (дата обращения 20.02.22).

6. Кульчавеня Е.В. Роль микроэлементов в здоровье и благополучии человека / Е.В. Кульчавеня // Клинический разбор в общей медицине. – № 1. – 2021. – С.58-64.

7. Литвицкий П.Ф. Нарушения обмена витаминов / П.Ф. Литвицкий // Вопросы современной педиатрии. – Т. 13. – № 4. – 2014. – С.40-47.

8. Некрасов В.И. Роль микроэлементов в повышении функциональных резервов организма человека / И.В. Некрасов, А.В. Скальный, Р.М. Дубовой. // Вестник Российской военно-медицинской академии. – № 1. – 2006. – С.111-113.

9. Рахманько Е.М. Особенности экстракции рибофлавина n- бутанолом в присутствии высаливателей. / Е.М. Рахманько, Е.И. Полянских // Вестник БГУ. – № 1. – 2010. – С.17-19.

10. Сухих С.А. Подбор условий сушки индивидуальных биологически активных веществ, выделенных из экстрактов высушенной биомассы каллусных, суспензионный клеток и корневых культур. / С.А. Сухих, Л.К. Асякина, О.О. Бабич // Биотехнологические основы получения природных биологически активных веществ. Нарочанские чтения-12. – 2020. – С. 145-152.

11. Blagosklonny M.V. Validation of anti-aging drugs by treating age-related diseases / M.V. Blagosklonny // Aging. – Vol. 1. – № 3. – 2009. – P. 281.

12. Kholkhal W. Eryngium maritimum: A rich medicinal plant of polyphenols and flavonoids compounds with antioxidant, antibacterial and antifungal activities / W. Kholkhal, F. Ilias, C. Bekhechi, F.A. Bekkara // Current Research Journal of Biological Sciences. – Vol. 4. – № 4. – 2012. – P. 437-443.

13. Moskalev A. Developing criteria for evaluation of geroprotectors as a key stage toward translation to the clinic / A. Moskalev, E. Chernyagina, V. Tsvetkov, A. Fedintsev, M. Shaposhnikov, V. Krut'ko, A. Zhavoronkov, B.K. Kennedy // Aging cell. – Vol. 15. – № 3. – 2016. – P. 407-415.

14. Nielsen S. P. The biological role of strontium / S.P. Nielsen // Bone. – Vol. 35. – № 3. – 2004. – P. 583-588.

15. Szwajgier D. The neuroprotective effects of phenolic acids: molecular mechanism of action / D Szwajgier, K. Borowiec, K. Pustelniak // Nutrients. – Vol. 9. – №. 5. – 2017. – P. 477.

STUDY OF THE GEROPROTECTIVE POTENTIAL
OF SECONDARY METABOLITES OF MEDICINAL PLANTS
OF THE RUSSIAN FEDERATION OF ERYNGIUM MARITIMUM,
DELPHINIUM CONSOLIDA, ACHILLÉA MILLEFÓLIUM IN ORDER
TO CREATE DIETARY SUPPLEMENTS FOR THE PREVENTION OF
AGE PATHOLOGY

Bakhtiarova Alina Khalimovna – first-year student at the Institute of Living Systems of the Immanuel Kant Baltic Federal University. Russian Federation, Kaliningrad.

Scientific supervisor – Larina Victoria Viktorovna – M.D. of the Laboratory of Microbiology and Biotechnology of the Institute of Living Systems. Russian Federation, Kaliningrad.

Abstract: elemental and vitamin compositions of extracts of *Eryngium maritimum*, *Delphinium consolida*, *Achilléa millefólium* were studied, parameters for the release of biologically active compounds in individual form were selected. It was possible to single out hyperoside, astrangaline, phenolic acid and camferol and apigenin derivatives. These substances have antidiabetic, anti-cancer, antioxidant and anti-inflammatory properties, which allows them to be used to prevent age-related diseases.

Keywords: geroprotector, biologically active compounds, secondary metabolites, *Eryngium maritimum*, *Delphinium consolida*, *Achilléa millefólium*.