

**УДК 615.322**

**DOI 10.29039/2413-1725-2024-10-3-147-154**

## **КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГИДРОКСИКОРИЧНЫХ КИСЛОТ И ОЦЕНКА АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ *AMORPHA FRUTICOSA* L.**

*Мурталиева В. Х., Цибизова А. А., Сергалиева М. У.*

*ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава  
России, Астрахань, Россия  
E-mail: murtalieva90@mail.ru*

Работа посвящена количественному определению гидроксикоричных кислот и оценке антиоксидантных свойств экстракта плодов *Amorpha fruticosa* L., произрастающей в Астраханской области. Содержание гидроксикоричных кислот в экстракте *A. fruticosa* определяли спектрофотометрическим методом. Антиоксидантную активность экстракта изучали методом восстановления стабильного радикала 2-2-дифенил-1-пикрилгидразила. Содержание общих гидроксикоричных производных составило  $12,26 \pm 2,07$  мг/г сухого вещества. При исследовании антиоксидантной активности экстракта плодов *A. fruticosa* в отношении катион-радикалов DPPH выявлена максимальная степень ингибирования 63,79 % и 79,18 % при концентрации экстрагента 60 %. Установлено, что наличие гидроксикоричных кислот определяет выраженный антиоксидантный эффект экстракта плодов *Amorpha fruticosa* L.

**Ключевые слова:** *Amorpha fruticosa*, экстракт, гидроксикоричные кислоты, антиоксидантная активность.

### **ВВЕДЕНИЕ**

В последние десятилетия отмечается рост интереса к поиску и изучению новых антиоксидантов, в том числе и природного происхождения, играющих важную роль в профилактике и лечении заболеваний, основным патогенетическим фактором развития которых считается окислительное повреждение клеток активными формами кислорода (АФК), включая атеросклероз, нейродегенеративные заболевания, рак, сахарный диабет, воспалительные заболевания и др. [1]. Установлено, что основными мишенями воздействия АФК являются липидная целостность мембраны и активность АФК-чувствительных белков. АФК могут индуцировать перекисное окисление липидов и нарушать расположение мембранных липидных бислоев, что приводит к инактивации мембраносвязанных ферментов и к увеличению проницаемости тканей [2]. Под воздействием АФК наблюдается фрагментация пептидной цепи, изменение электрического заряда белков, что приводит к конформационным изменениям, разворачиванию и деградации белков [3]. В связи с чем коррекция нарушений окислительно-восстановительного характера имеет решающее значение для нормального функционирования организма в целом. С этой целью используются антиоксиданты – соединения, нормализующие антиоксидантный потенциал организма посредством простых или сложных механизмов, включая предотвращение

иницирования цепи, связывание катализаторов трансляционных ионов металлов, разложение пероксидов, предотвращение продолжающегося отщепления водорода и удаление радикалов [4]. Интерес представляют природные антиоксиданты и это, прежде всего, фенольные соединения: простые фенолы, флавоноиды, ксантоны, лигнаны, фенольные кислоты, которые содержатся, как правило, во всех частях растений [5]. Известно, что гидроксикоричные кислоты являются мощными антиоксидантами, основной механизм действия которых заключается в поглощении радикалов, связанный с их водородо- или электрон-донорной способностью и стабильностью образующихся феноксильных продуктов [6, 7]. Наряду с выраженной активностью они также оказывают разностороннее фармакологическое действие: антимикробное, противоопухолевое, противовоспалительное, нейро-, кардио- и гепатопротекторное и др. [8].

В качестве растительного сырья, содержащего гидроксикоричные кислоты и оказывающего антиоксидантную активность, может быть рассмотрена Аморфа кустарниковая (*Amorpha fruticosa* L.) семейства Бобовые (*Fabaceae*). В различных частях данного растения идентифицированы: гиперозид, кумаровая кислота, кверцетин, рутозид, лютеолин, кемпферол, гидроксикоричные кислоты, которые и определяют биологическое действие данного растения [9, 10].

В связи с чем, целью настоящей работы явилось количественное определение гидроксикоричных кислот и оценка антиоксидантных свойств плодов *Amorpha fruticosa* L., произрастающей на территории Астраханской области.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использовали плоды *A. fruticosa*, собранные в Володарском районе Астраханской области в 2023 году. Растительный материал сушили воздушно-теневым способом. Экстракт аморфы получали в соотношении 1:5 путём экстрагирования измельченных плодов 60 %-ным этанолом на водяной бане при температуре 60°C в течение 2,5 ч с последующим удалением спирта на ротационном испарителе «HeiVAP Value G3» (Германия).

Количественное содержание гидроксикоричных кислот (ГК) в экстракте *A. fruticosa* определяли спектрофотометрическим методом [7]. 2,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу и добавляли 70 мл воды, которую затем присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на водяной бане в течение 15 минут. Экстракцию повторяли дважды. Извлечения охлаждали, фильтровали через бумажный фильтр и переносили в мерную колбу на 200 мл и доводили объем раствора водой до метки (раствор А). В мерную колбу вместимостью 50 мл вносили 1 мл раствора А и доводили объем раствора 20 % спиртом этиловым до метки. Оптическую плотность полученного раствора измеряли при длине волны 330 нм, которая является аналитической для хлорогеновой кислоты. В качестве раствора сравнения использовали спирт этиловый 20 %. Содержание суммы ГК в пересчете на хлорогеновую кислоту (стандартный образец CAS № 327-97-9, чистота более 95 %) рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{A_x \times 200 \times 50 \times 100}{E_{1\text{см}}^{1\%} \times m \times V_a \times (100 - W)}$$

где  $A_x$  – оптическая плотность исследуемого раствора;  $E_{1\text{см}}^{1\%}$  – удельный показатель поглощения хлорогеновой кислоты при 330 нм = 507;  $m$  – масса навески исследуемого сырья, г;  $V_a$  – объем аликвоты, мл;  $W$  – влажность, %.

Антиоксидантную активность исследуемого экстракта измеряли с помощью метода восстановления стабильного радикала 2-2-дифенил-1-пикрилгидразила (DPPH) [11]. Метод основан на взаимодействии антиоксидантов со стабильным хромоген-радикалом DPPH. Стандартный раствор DPPH ( $5 \times 10^{-4}$  М) в этаноле, подкисленном уксусной кислотой, разводили этанолом в соотношении 1:10 для получения рабочего раствора. К 5 мл рабочего раствора DPPH добавляли 50 мкл исследуемых экстрактов с концентрацией этанола 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % и 96 %, перемешивали и регистрировали кинетику убыли оптической плотности раствора в течение 30 минут при длине волны 517 нм. В качестве контрольного образца использовали рабочий раствор DPPH. Все измерения регистрировали на спектрофотометре ПЭ-5400В (Россия).

Антиоксидантную активность (АОА) определяли по формуле:

$$\text{АОА} = (A_{\text{контр}} - A_x / A_{\text{контр}}) \cdot 100\%,$$

где  $A_x$  – оптическая плотность исследуемого раствора,  $A_{\text{контр}}$  – оптическая плотность исследуемого образца. АОА выражали в процентах ингибирования активности DPPH.

Все исследования проводили в пятикратной повторности с последующей статистической обработкой результатов исследования с помощью «StatTech» (Россия), используя для оценки различий параметрический t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони. Уровень статистической значимости различий в группах сравнения оценивали при  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты количественного анализа спиртового извлечения плодов *A. fruticosa* на наличие ГК представлены в таблице 1.

По результатам фитохимического исследования установлено, что суммарное содержание ГК в плодах *A. fruticosa* составляет  $12,26 \pm 2,07$  мг/г сухого вещества, что дает возможность использования данного представителя рода Аморфа в медицине и фармации с целью возможной разработки новых фитопрепаратов.

**Таблица 1**  
**Метрологические показатели содержания гидроксикоричных кислот**  
**в плодах *A. Fruticosa***

№	Масса навески, г	Сумма ГК, мг/г	Метрологические данные	RSD, %
1	2,01	12,25	$X_{\text{ср}} = 12,26$ $S^2 = 0,058$ $S = 0,041$ $S_x = 0,009$ $\varepsilon = 4,15\%$ $\varepsilon_{\text{ср}} = 1,57\%$	3,21
2	2,02	12,27		
3	2,01	12,25		
4	2,00	12,29		
5	2,01	12,26		

Спектр поглощения комплекса ГК экстракта плодов *A. fruticosa* с представлен на рисунке 1.

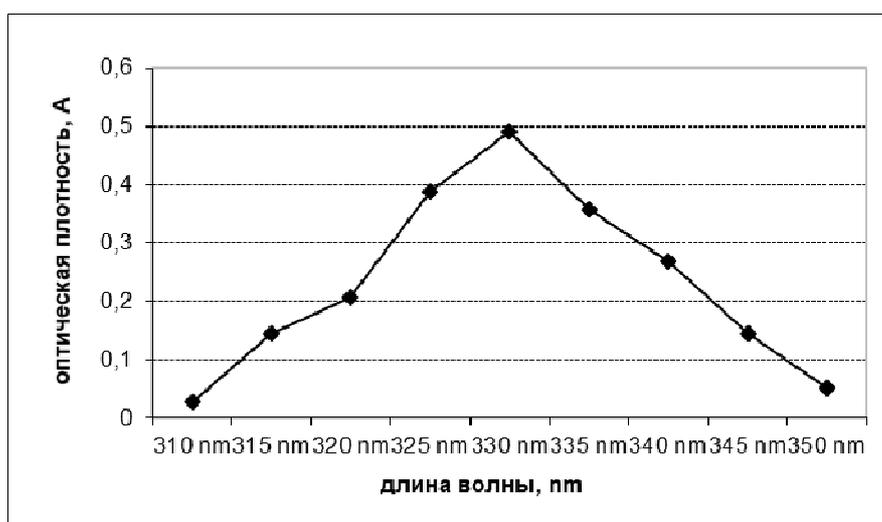


Рис. 1. Дифференциальный спектр поглощения ГК из плодов *A. Fruticosa*.

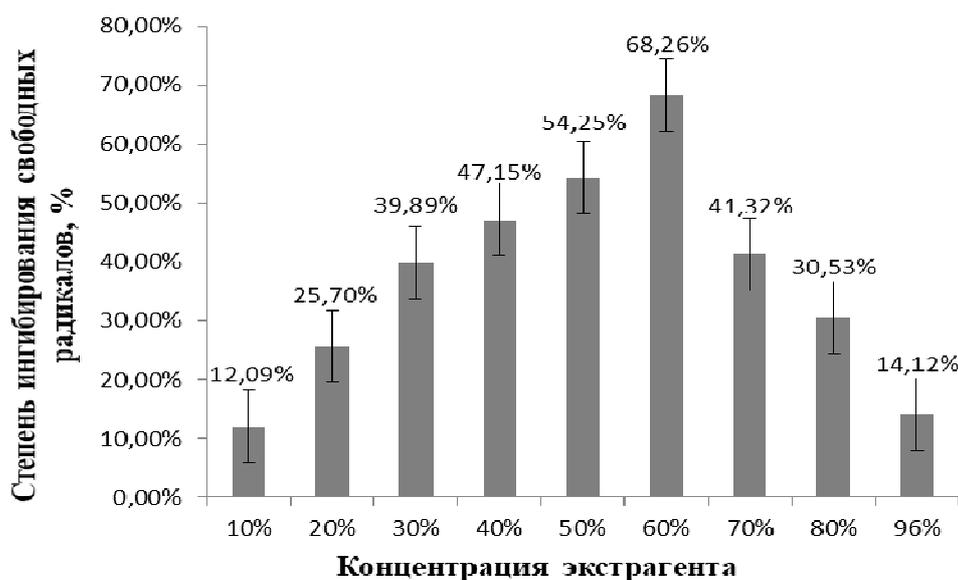


Рис. 2. Антиоксидантная активность исследуемых извлечений из плодов *A. fruticosa*\*

Примечание: \*На графике представлены средние значения шести измерений

При исследовании антиоксидантной активности ГК из плодов *A. fruticosa* в отношении катион-радикалов DPPH выявлена максимальная степень ингибирования 63,79 % и 79,18 %. На основании полученных данных можно сделать вывод, что высокая степень ингибирования свободных радикалов отмечается у всех извлечений, что свидетельствует о наличии у указанных экстрактов легкорастворимых и активных антиоксидантов, максимальное ингибирование которых было зафиксировано у 60 %-ного этанольного экстракта с АОА = 68,26 %.

Представленная методика оценки антиоксидантной активности широко используется для оценки способности различных растительных экстрактов к удалению свободных радикалов и подтверждает наличие в химическом составе экстракта плодов *A. fruticosa*, произрастающей на территории Астраханской области, гидроксикоричных кислот, которые определяют выраженный антиоксидантный эффект.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования установлено, что количественное содержание суммы гидроксикоричных кислот определяют антиоксидантную активность экстракта плодов *Amorpha fruticosa* L., произрастающей на территории Астраханской области и могут быть использованы в качестве перспективной основы для фитопрепаратов для применения в профилактике окислительного повреждения клеток.

**Список литературы**

1. Checa J. Reactive oxygen species: drivers of physiological and pathological processes / J. Checa, J. M. Aran // *Journal of Inflammation research*. – 2020. – No 13. – P. 1057–1073. doi: 10.2147/JIR.S275595.
2. Sies H. Defining roles of specific reactive oxygen species (ROS) in cell biology and physiology / H. Sies, V. V. Belousov, N. S. Chandel [et al.] // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2022. – Vol. 23, No 7. – P. 499–515. doi: 10.1038/s41580-022-00456-z.
3. Incalza M. A. Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases / M. A. Incalza, R. D'Oria, A. Natalicchio [et al.] // *Vascular Pharmacology*. – 2018. – No 100. – P. 1–19. doi: 10.1016/j.vph.2017.05.005.
4. He L. Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species / L. He, T. He, S. Farrar [et al.] // *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2017. – Vol. 44, No 2. – P. 532–553. doi: 10.1159/000485089.
5. Lourenço S. C. Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications / S. C. Lourenço, M. Moldão-Martins, V. D. Alves // *Molecules*. – 2019. – Vol. 24, No 22. – P. 4132. doi: 10.3390/molecules24224132.
6. Teixeira J. Hydroxycinnamic acid antioxidants: an electrochemical overview / J. Teixeira, A. Gaspar, E. M. Garrido [et al.] // *BioMed research international*. – 2013. – Vol. 2013. doi: 10.1155/2013/251754.
7. Razzaghi-Asl N. Antioxidant properties of hydroxycinnamic acids: a review of structure-activity relationships / N. Razzaghi-Asl, J. Garrido, H. Khazraei [et al.] // *Current medicinal chemistry*. – 2013. – Vol. 20, No 36. – P. 4436–4450.
8. Coman V. Hydroxycinnamic acids and human health: recent advances / V. Coman, D. C. Vodnar // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. – 2020. – Vol. 100, No 2. – P. 483–499. doi: 10.1002/jsfa.10010.
9. Cui X. Analysis of bioactive constituents from the leaves of *Amorpha fruticosa* L. / X. Cui, J. Guo, C. S. Lai [et al.] // *Journal of food and Drug Analysis*. – 2017. – Vol. 25, No 4. – P. 992–999. doi: 10.1016/j.jfda.2016.10.006.
10. Marinas I. C. Chemical composition, antipathogenic and cytotoxic activity of the essential oil extracted from *Amorpha fruticosa* fruits / I. C. Marinas, E. Oprea, M. Buleandra [et al.] // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26, No 11. – P. 3146. doi: 10.3390/molecules26113146.
11. Антиоксидантная и антирадикальная активность *in vitro* экстрактов травы *Sanguisorba officinalis* L., собранной в различные фазы развития / Е.М. Мальцева, Н.О. Егорова, И. Н. Егорова, Р. А. Мухамадияров // *Медицина в Кузбассе*. – 2017. – Т. 16, № 2. – С. 32–38.

**QUANTITATIVE DETERMINATION OF HYDROXYCINMONARY ACIDS  
AND ASSESSMENT OF THE ANTIOXIDANT PROPERTIES  
OF AMORPHA FRUTICOSA L.**

***Murtaliev V. Kh., Tsibizova A. A., Sergaliev M. U.***

*Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russian Federation  
E-mail: murtaliev90@mail.ru*

In recent decades, there has been a growing interest in the search and study of new antioxidants, including those of natural origin, which play an important role in the prevention and treatment of diseases, the main pathogenetic factor in the development of which is considered to be oxidative damage to cells by reactive oxygen species (ROS),

including atherosclerosis, neurodegenerative diseases, cancer, diabetes mellitus, inflammatory diseases etc. In this connection, the correction of redox disorders is crucial for the normal functioning of the body as a whole. It is known that hydroxycinnamic acids are powerful antioxidants, the main mechanism of action of which is the absorption of radicals, which is associated with their hydrogen or electron-donating ability and the stability of the resulting phenoxy radicals. *Amorpha fruticosa* L. can be considered as a plant raw material containing hydroxycinnamic acids and providing antioxidant activity. In various parts of this plant, hyperoside, coumaric acid, quercetin, rutoside, luteolin, kaempferol, and hydroxycinnamic acids have been identified, which determine the biological effect of this plant.

In this connection, the purpose of this work was to quantitatively determine hydroxycinnamic acids and evaluate the antioxidant properties of the fruits of *Amorpha fruticosa* L., growing in the Astrakhan region.

The study used *A. fruticosa* fruits collected in the Volodarsky district of the Astrakhan region in 2023, on the basis of which an extract was obtained in a ratio of 1:5 by extracting crushed fruits with 60 % ethanol in a water bath at a temperature of 60° C for 2.5 hours followed by removal of alcohol. The quantitative content of hydroxycinnamic acids (HA) in the *A. fruticosa* extract was determined by spectrophotometric method. The antioxidant activity of the studied extract was measured using the method of reduction of the stable radical 2-2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. The content of total hydroxycinnamic derivatives in terms of chlorogenic acid was  $12,26 \pm 2,07$  mg/g dry matter. A study of the antioxidant activity of hydroxycinnamic acids from *A. fruticosa* fruits against DPPH radical cations revealed a maximum degree of inhibition of 63,79 % and 79,18 % at an extractant concentration of 60 %.

As a result of the study, it was established that the quantitative content of the amount of hydroxycinnamic acids determines the antioxidant activity of the *Amorpha fruticosa* L. fruit extract and can be used as a promising basis for herbal medicines for use in the prevention of oxidative damage to cells.

**Keywords:** *Amorpha fruticosa*, extract, hydroxycinnamic acids, antioxidant activity.

### References

1. Checa J., Aran J. M. Reactive oxygen species: drivers of physiological and pathological processes. *Journal of Inflammation research*, **13**, 1057 (2020). doi: 10.2147/JIR.S275595.
2. Sies H., Belousov V. V., Chandel N. S. [et al.], Defining roles of specific reactive oxygen species (ROS) in cell biology and physiology. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **23(7)**, 499 (2022). doi: 10.1038/s41580-022-00456-z.
3. Incalza M. A., D'Oria R., Natalicchio A. [et al.], Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vascular Pharmacology*, **100**, 1 (2018). doi: 10.1016/j.vph.2017.05.005.
4. He L., He T., Farrar S. [et al.], Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species. *Cellular Physiology and Biochemistry*, **44(2)**, 532 (2017). doi: 10.1159/000485089.
5. Lourenço S., Moldão-Martins C. M., Alves V. D. Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications. *Molecules*, **24(22)**, 4132 (2019). doi: 10.3390/molecules24224132.
6. Teixeira J., Gaspar A., Garrido E. M. [et al.], Hydroxycinnamic acid antioxidants: an electrochemical overview. *BioMed research international*, **2013** (2013). doi: 10.1155/2013/251754.

7. Razzaghi-Asl N., Garrido J., Khazraei H. [et al.], Antioxidant properties of hydroxycinnamic acids: a review of structure-activity relationships. *Current medicinal chemistry*, **20(36)**, 4436 (2013).
8. Coman V., Vodnar D. C. Hydroxycinnamic acids and human health: recent advances. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **100(2)**, 483 (2020). doi: 10.1002/jsfa.10010.
9. Cui X., Guo J., Lai C. S. [et al.], Analysis of bioactive constituents from the leaves of *Amorpha fruticosa* L. *Journal of food and Drug Analysis*, **25(4)**, 992 (2017). doi: 10.1016/j.jfda.2016.10.006.
10. Marinas I. C., Oprea E., Buleandra M. [et al.], Chemical composition, antipathogenic and cytotoxic activity of the essential oil extracted from *Amorpha fruticosa* fruits. *Molecules*, **26(11)**, 3146 (2021). doi: 10.3390/molecules26113146.
11. Mal'tseva E. M., Egorova N. O., Egorova I. N., Mukhamadiyarov R. A. Antioxidant and antiradical activity in vitro of extracts of the herb *Sanguisorba officinalis* L., collected in various phases of development. *Medicine in Kuzbass*, **16(2)**, 32 (2017).