

## ИЗУЧЕНИЕ ФЛАВОНОИДНОГО СОСТАВА И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ НООТРОПНОГО СБОРА

### Е.А. Доровских

аспирант, кафедра фармацевтического естествознания, Институт фармации им. А.П. Нелюбина,  
Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова (Сеченовский университет)  
E-mail: 5ksusha5@mail.ru

### Д.А. Тращенко

ассистент, кафедра фармакологии, Институт фармации им. А.П. Нелюбина,  
Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет)  
E-mail: music-of-stars@mail.ru

### Т.Ю. Ковалева

к. фарм.н., доцент, кафедра фармацевтического естествознания, Институт фармации им. А.П. Нелюбина,  
Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова (Сеченовский университет)  
E-mail: tatyana\_kovaleva\_75@inbox.ru

### В.А. Ермакова

профессор, кафедра фармацевтического естествознания, Институт фармации им. А.П. Нелюбина,  
Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет)  
E-mail: ermakova1701@yandex.ru

**Актуальность.** В современном обществе увеличивается потребность в нейропротекторах. К ним, среди прочих, относятся препараты обладающие ноотропным и антиоксидантным действием. Химический скрининг ноотропного сбора показал наличие различных групп биологически активных веществ. Доминирующими являются фенольные соединения, особое место среди которых занимают флавоноиды, которые известны своими антиоксидантными свойствами.

**Цель работы** - провести изучение качественного состава и количественного содержания флавоноидов и определить антиоксидантную активность разработанного ноотропного сбора.

**Материал и методы.** Качественный анализ проведен методом тонкослойной хроматографии. Количественное содержание флавоноидов определено спектрофотометрическим методом. Антиоксидантная активность ноотропного сбора доказана спектрофотометрическим методом, основанным на реакции ингибирования радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила.

**Результаты.** Изучен качественный состав ноотропного сбора. Обнаружено до 9 соединений фенольной природы, из которых удалось идентифицировать при сравнении с достоверными образцами свидетелей следующие соединения: рутин, кверцетин, гиперозид, хлорогеновую кислоту. Сумма флавоноидов в пересчете на рутин в ноотропном сборе составила  $2,22 \pm 0,11\%$ . Доказана антиоксидантная активность ноотропного сбора, значение  $IC_{50}$  составило  $6,33 \pm 0,25$  мг/мл.

**Выводы.** В результате исследования был изучен качественный состав ноотропного сбора и была определена сумма флавоноидов в пересчете на рутин. Доказана антиоксидантная активность ноотропного сбора.

**Ключевые слова:** ноотропные препараты, сбор лекарственных растений, флавоноиды, спектрофотометрия, рутин, антиоксидантная активность, 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (ДФПГ).

**Для цитирования:** Доровских Е.А., Тращенко Д.А., Ковалева Т.Ю., Ермакова В.А. Изучение флавоноидного состава и антиоксидантной активности ноотропного сбора. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2020;23(4):33–37. <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-04-05>

В настоящее время наблюдается увеличение случаев заболеваний, вызывающих нарушения когнитивно-мнестических функций. Согласно опубликованным в 2018 г. Всемирной организацией здравоохранения данным, последние 15 лет ведущими причинами смерти являются ишемическая болезнь сердца и инсульт. А смертность от деменции за этот период увеличилась в два раза и занимает пятое ведущее место в этом списке [1]. Основываясь на этих статистических данных, разработ-

ка новых эффективных, а главное безопасных лекарственных препаратов является актуальной задачей современной системы здравоохранения. В связи с этим увеличивается потребность в нейропротекторах, среди которых особенно востребованы препараты, обладающие ноотропным и антиоксидантным действием. Особое место занимают средства растительного происхождения, отличающиеся большей безопасностью по сравнению с синтетическими аналогами. Основываясь на вы-

шесказанном, авторами разработан состав растительного сбора ноотропного действия. В него входят 5 видов лекарственного растительного сырья, принадлежащих к различным морфологическим группам. Ноотропная активность сбора была доказана в ходе доклинических исследований.

Как свидетельствуют данные научной литературы и результаты изучения химического состава сбора, в него входят различные группы биологически активных веществ, доминирующими являются фенольные соединения, особое место среди которых занимают флавоноиды. Как известно, они обладают антиоксидантным действием [2, 3].

**Ц е л ь р а б о т ы** – изучение качественного состава и количественного содержания флавоноидов и определение антиоксидантной активности разработанного ноотропного сбора.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали воздушно-сухой измельченный сбор ноотропного действия, компоненты которого были заготовлены в различных областях РФ в 2018–2019 гг.

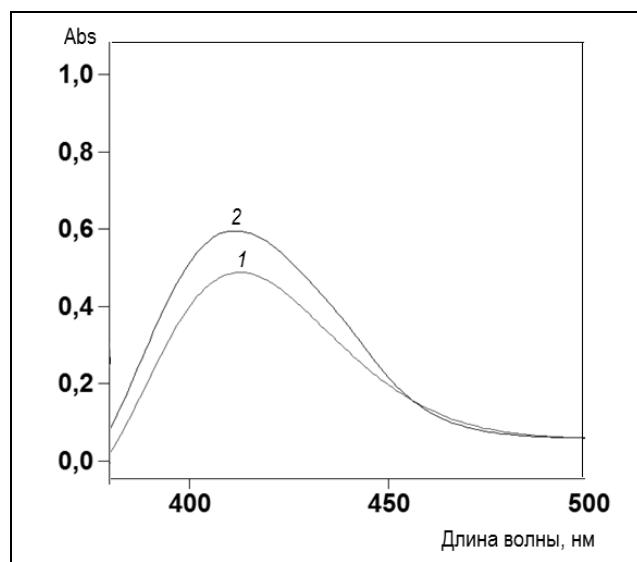
Качественный состав фенольных соединений изучали методом хроматографии в тонком слое сорбента. Использовали систему растворителей: безводная муравьиная кислота – вода – этилацетат (10:8:34) и пластинки со слоем силикагеля (MERCK, Германия) 20×20. На линию старта пластинки наносили водно-спиртовое (70%-ный спирт) извлечение ноотропного сбора (1:10), раствор стандартного образца рутин ( $\geq 97\%$ , CN Acrosorganics, CAS 153-18-4) и рабочие растворы кверцетина, гиперозида и хлорогеновой кислоты. Для детектирования пластинку выдерживали в сушильном шкафу 2–3 мин при 100–105 °С. Затем еще теплую пластинку последовательно обрабатывали дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира раствором 1%-ным и макроголом 400 раствором спиртовым 5%-ным, выдерживали в сушильном шкафу 3–5 мин при 100–105 °С и изучали в УФ-свете при длине волны 365 нм.

Количественное содержание суммы флавоноидов определяли спектрофотометрически. Так как максимум спектра поглощения водно-спиртового извлечения (70%-ный спирт) после реакции комплексообразования с хлоридом алюминия был близок к максимуму комплекса рутин с хлоридом алюминия, то пересчет суммарного содержания флавоноидов вели на рутин (рис. 1).

Около 1 г измельченного сырья (точная навеска), просеянного сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм, помещали в коническую колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляли 30 мл 70%-ного спирта. Затем колбу соединяли с обратным холодильником и нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Горячее извлечение фильтровали через ватный тампон в мерную колбу вместимостью 100 мл. Вату помещали в колбу для экстрагирования и прибавляли 30 мл 70%-ного спирта. Экстракцию повторяли еще 2 раза в тех же условиях, фильтруя извлечение в ту же мерную колбу. После охлаждения объем извлечения доводили до метки 70%-ным спиртом (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 1 мл раствора алюминия хлорида 5%-ного в 95%-ном спирте, 3 мл извлечения, 2–3 капли разведенной соляной кислоты и доводили объем раствора 70%-ным спиртом до метки. Через 40 мин измеряли оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 406 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из 3 мл извлечения, 2–3 капель разведенной соляной кислоты, и доведенный 70%-ным спиртом до метки (раствор Б).

Параллельно измеряли оптическую плотность раствора стандартного образца (СО) рутин, приготовленного аналогично испытываемому раствору.



**Рис. 1.** Спектр поглощения СО рутин ( $\lambda_{\max}$  409 нм) (1) и ноотропного сбора ( $\lambda_{\max}$  406 нм) (2)

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в процентах ( $X$ ) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A \times 25 \times 100 \times 100}{A_{1\text{см}}^{1\%} \times m \times 3 \times (100 - W)},$$

где  $X$  – содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, %;  $A$  – оптическая плотность испытуемого раствора;  $A_{1\text{см}}^{1\%}$  – удельный показатель поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом при длине волны 406 нм, равный 190;  $m$  – навеска сырья, г;  $W$  – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Оценку антиоксидантной активности проводили спектрофотометрическим методом, основанном на реакции ингибирования радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (ДФПГ), в результате которой изменяется интенсивно-фиолетовая окраска ДФПГ и снижается величина оптической плотности раствора [4, 5].

Готовили раствор ДФПГ (Sigma – Aldrich) с концентрацией  $5 \cdot 10^{-4}$  М в 96%-ном этаноле и разбавляли в 10 раз для получения рабочего раствора. В качестве антиоксиданта использовали водно-спиртовое извлечение сбора (раствор А из количественного определения) из которого готовили серию разведений. К 2 мл рабочего раствора ДФПГ добавляли 2 мл испытуемого образца. Полученные образцы с ДФПГ переносили в темноту на 30 минут, а после определяли оптическую

плотность методом спектрофотометрии при длине волны 517 нм. Раствором сравнения служил этанол 70%-ный [6].

Антиоксидантную активность (АОА) исследуемых веществ вычисляли по формуле

$$АОА = \frac{(A_0 - A) \times 100\%}{A_0},$$

где  $A_0$  – оптическая плотность DPPH раствора (контроль);  $A$  – оптическая плотность исследуемого образца с DPPH.

Для оценки антиоксидантной активности рассчитывали  $IC_{50}$  (half maximal inhibitory concentration) – концентрацию субстрата, при которой 50% радикалов связывается с тестируемым образцом. Для расчета  $IC_{50}$  был построен график зависимости антиоксидантной активности от концентрации, где выбирали отрезок между двумя точками на прямолинейном участке графика. Считается, что чем меньше значение параметра  $IC_{50}$ , тем большей антиоксидантной активностью обладает объект исследования. [4, 6–9]

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализируя качественный состав фенольных соединений методом тонкослойной хроматографии, обнаружили не менее 9 зон адсорбции, из которых удалось идентифицировать при сравнении с достоверными образцами свидетелей рутина, гиперозид, кверцетин и хлорогеновую кислоту (табл. 1).

**Таблица 1. Хроматографический профиль водно-спиртового извлечения (70%-ный спирт) ноотропного сбора**

№ зоны	R <sub>f</sub>	Цвет зоны адсорбции в УФ 365 нм	Идентифицировано
1	0,98	Оранжево-красный	Кверцетин
2	0,93	Оранжевый	Гиперозид
3	0,80	Оранжево-желтый	Рутин
4	0,75	Светло-голубой	Не идентифицировано
5	0,70	Голубой	Хлорогеновая кислота
6	0,55	Оранжевый	Не идентифицировано
7	0,48	Сине-фиолетовый	Не идентифицировано
8	0,40	Голубовато-синий	Не идентифицировано
9	0,07	Желто-оранжевый	Не идентифицировано

**Таблица 2. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в сборе ноотропного действия**

Содержание, %	$\bar{X}$	$\Delta X$	$p, \%$	$t(p;f)$	$E, \%$
2,14	2,22	0,11	95	2,57	2,91
2,23					
2,30					
2,22					
2,27					
2,16					

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в ноотропном сборе составило  $2,22 \pm 0,11\%$ . Результаты представлены в табл. 2.

Основываясь на полученных данных, можно сделать вывод, что содержание флавоноидов значительно, следовательно, они вносят весомый вклад в фармакотерапевтические свойства сбора.

В ходе проведенного исследования была доказана антиоксидантная активность водно-спиртового извлечения сбора ноотропного действия, что объясняется содержанием природных антиоксидантов, а именно фенольных соединений, в том числе флавоноидов. Было установлено значение  $IC_{50} 6,33 \pm 0,25$  мг/мл. При этом АОА исходного образца составила 23,7%, а при разведении 1:10 - 71,1%. Это свидетельствует о достаточно высокой антиоксидантной активности даже при разведении извлечений ноотропного сбора.

### Выводы

Изучен качественный состав ноотропного сбора методом хроматографии в тонком слое сорбента. Обнаружено до 9 соединений фенольной природы, из которых удалось идентифицировать при сравнении с достоверными образцами свидетелей следующие соединения: рутин, кверцетин, гиперозид, хлорогеновую кислоту. Содержание в ноотропном сборе суммы флавоноидов в пересчете на рутин составило  $2,22 \pm 0,11\%$ .

Полученные результаты важны для стандартизации ноотропного сбора и могут быть использованы при разработке нормативной документации.

Изучена антиоксидантная активность ноотропного сбора. Показатель  $IC_{50}$  сбора составил  $6,33 \pm 0,25$  мг/мл. Таким образом, установленные в доклинических исследованиях ноотропные свойства сбора можно объяснить значительным содержанием

в нем флавоноидов и высокими антиоксидантными свойствами разработанного сбора.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Бурцев А., Гизатулина Л., Ильницкий А., Процаев К., Ткаченко Е. Гериатрический подход и деменция: повышение квалификации специалистов, Врач. 2018; 29(6): 79–83.
2. Enogieru A.B. Haylett W., Hiss D.C., Bardien S., Ekpo O.E. Rutin as a Potent Antioxidant: Implications for Neurodegenerative Disorders. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2018:1–17.
3. Хасанова С.Р. Антиоксиданты и биологически активные соединения сборов. Фармация. 2003; 4:28–29.
4. Исмаилов И.З., Сабирова Т.С. Изучение антиоксидантных свойств сухого экстракта *Padusgrayanae* Maxim. Достижения науки и образования. 2017; 1(14).
5. Хасанов В.В., Рыжова Г.Л., Мальцева Е.В. Методы исследования антиоксидантов. Химия растительного сырья. 2004; 3:63–75.
6. Гимадиева А.Р., Хазимуллина Ю.З., Белая Е.А., Зимин Ю.С., Абдрахманов И.Б., Мустафин А.Г. Экспресс-оценка антиоксидантной активности производных урацила. Биомедицинская химия. 2015; 61(6):765–769.
7. Володин В.В. и др. Антиоксидантные свойства экстрактов растений семейства Lamiaceae, произрастающих в республике Коми. Известия Коми научного центра УрО РАН. 2014; 1(17):27–31.
8. Алексеева Л.И., Тетерюк Л.В., Быструшкин А.Г., Булышева Л.А. Фенольные соединения и антиоксидантная активность уральских представителей рода *Thymus* (Lamiaceae). Растительные ресурсы. 2012; 1:110–118.
9. Хилько С.Л., Макарова Р.А., Семенова Р.Г. Антирадикальная активность ванилинов в реакциях с ДФПГ. Вестник Новгородского государственного университета. 2017; 5(103):93–96.

Поступила 26 марта 2020 г.

# THE STUDY OF FLAVONOID COMPOSITION AND ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF NOOTROPIC SPECIES

© Authors, 2020

**E.A. Dorovskikh**

Post-graduate Student,

Department of the Pharmaceutical Natural Science, Institute of Pharmacy, Sechenov University

E-mail: 5ksusha5@mail.ru

**D.A. Trashchenkova**

Assistant, Department of the Pharmacology, Institute of Pharmacy, Sechenov University

E-mail: music-of-stars@mail.ru

**T.Yu. Kovaleva**

Ph.D. (Pharm.), Associate Professor,

Department of the Pharmaceutical Natural Science, Institute of Pharmacy, Sechenov University

E-mail: tatyana\_kovaleva\_75@inbox.ru

**V.A. Ermakova**

D.Sc. (Pharm.), Professor,

Department of the Pharmaceutical Natural Science, Institute of Pharmacy, Sechenov University

E-mail: ermakova1701@yandex.ru

In modern society, necessity for neuroprotectors is increasing, including drugs with nootropic and antioxidant effects. Chemical screening of nootropic species showed the presence of various groups of biologically active substances. Phenolic compounds are dominant, including flavonoids, which are known for their antioxidative activity.

**The aim.** To conduct a study of the qualitative composition and quantitative content of flavonoids and determine the antioxidant activity of the developed nootropic species.

**Material and methods.** Qualitative analysis was carried out by TLC. The quantitative content of flavonoids was determined by spectrophotometric method. The antioxidant activity of nootropic species was proved by spectrophotometric method based on the inhibition reaction of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH).

**Results.** As a result of the research, the qualitative composition of the nootropic species was studied. Up to 9 phenolic compounds were found, among them the following compounds were identified: rutin, quercetin, hyperoside, and chorogenic acid. The sum of flavonoids in terms of rutin in the nootropic species was  $2.22 \pm 0.11\%$ . As a result of the research, the antioxidant activity of nootropic species was proved, the IC<sub>50</sub> value was  $6.33 \pm 0.25$  mg / ml.

**Conclusion.** As a result of the study, the qualitative composition of the nootropic species was examined and the sum of flavonoids in terms of rutin was determined. The antioxidant activity of nootropic species has been proven.

**Key words:** *nootropic drugs, herbal species, flavonoids, spectrophotometry, rutin, antioxidative activity, 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).*

---

**For citation:** Dorovskikh. E.A., Trashchenkova D.A., Kovaleva T.Yu., Ermakova V.A. The study of flavonoid composition and antioxidative activity of nootropic species. *Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry.* 2020;23(4):33-37. <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-04-05>

## REFERENCES

1. Burcev A., Gizatulina L., Il'nickij A., Proshchaev K., Tkachenko E. Geriatricheskij podhod i demenciya: povyshenie kvalifikacii specialistov, *Vrach.* 2018; 29(6): 79-83.
2. Enogieru A.B. et al. Rutin as a Potent Antioxidant: Implications for Neurodegenerative Disorders. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2018: 1-17.
3. Khasanov S.R. Antioksidanty i biologicheski aktivnyue soedineniya sborov. *Farmatsiya.* 2003; 4: 28-29.
4. Ismailov I.Z., Sabirova T.S. Izuchenie antioksidantnyukh svoistv sukhogo ekstrata Padusgrayanae Maxim. *Dostizheniya nauki i obrazovaniya.* 2017; 1(14).
5. Khasanov V.V., Ryuzhova G.L., Mal'tseva E.V. Metodyu issledovaniya antioksidantov. *Khimiya rastitel'nogo syur'ya.* 2004; 3: 63-75.
6. Gimadieva A.P., Khazimullina Yu.Z., Belaya E.A., Zimin Yu.S., Abdarakhmanov I.B., Mustafin A.G. Ekspress-otsenka antioksidantnoi aktivnosti proizvodnyukh uratsila. *Biomeditsinskaya khimiya.* 2015; 61(6): 765-769.
7. Volodin V.V. i dr. Antioksidantnyue svoistva ekstratov rastenii semeistva Lamiaceae, proizrastayushchikh v respublike Komi. *Izvestiya Komi nauchnogo tsentra Uro RAN.* 2014; 1(17): 27-31.
8. Alekseeva L.I., Teteryuk L.V., Byustrushkin A.G., Bulyusheva L.A. Fenol'nyue soedineniya i antioksidantnaya aktivnost' ural'skikh predstavitelei roda Thymus (Lamiaceae). *Rastitel'nyue resursy.* 2012; 1: 110-118.
9. Khil'ko S.L., Makarova R.A., Semenova R.G. Antiradikal'naya aktivnost' vanilinov v reaktsiyakh s DFPG. *Vestnik Novgorodskogo gosudarstvennogo universiteta.* 2017; 5(103): 93-96.