

**Аннотация.** В работе приведены результаты исследований антиоксидантной активности эфирного масла полыни горькой, полученное методом гидродистилляции с использованием аппарата Клевенджера. Установлено наличие антиоксидантной активности в отношении DPPH и ABTS<sup>+</sup>.

**Ключевые слова:** эфирное масло, полынь горькая, антиоксидантная активность, DPPH, ABTS.

В настоящее время наблюдается тенденция в использовании природных фитохимических веществ, присутствующих в овощах, фруктах, лекарственных растениях. Антиоксиданты природного происхождения с низкой молекулярной массой могут рассматриваться как возможные протекторы, уменьшающие окислительное повреждение организма человека, когда внутренние механизмы антиоксидантной защиты нарушаются или недостаточно эффективны. Также природные антиоксиданты могут быть хорошей альтернативой синтетическим, широко применяемым в различных отраслях [1].

Эфирные масла представляют собой очень сложные в химическом отношении смеси веществ, биологические свойства которых характеризуются комплексным фармакологическим действием.

*Artemisia absinthium* относится к самому крупному и распространенному роду семейства *Compositae*. Эфирное масло, получаемое из полыни, раздражает вкусовые рецепторы полости рта, а действующие вещества самого масла усиливают секреторную функцию желудочно-кишечного тракта. Основное действующее вещество является абсинтин, который усиливает секрецию желчи, панкреатического и желудочного сока, также приводит к стабилизации иммунных реакций в организме. Применяют эфирные масла полыни горькой как средство, возбуждающее аппетит и улучшающее пищеварение при гастритах, как с повышенной, так и с пониженной кислотностью. Эфирное масло растений рода полынь оказывает противогрибковое и противопаразитарное действия [2].

Известно, что биологическая активность эфирного масла зависит от его компонентного состава. Содержание эфирного масла полыни горькой колеблется в пределах 0,2 - 0,5%. В зависимости от состава эфирного масла представители вида *Artemisia* делятся на несколько хемотипов. Разные хемотипы позволяют получить эфирное масло, отличающееся по составу. Так, основным компонентом эфирного масла из полыни горькой может быть одно из веществ: (Z)-β-эпоксицимен, (Z)-хризантенил ацетат, сабинил ацетат и β-туйон [3].

В связи с тем, что полынь горькая повсеместно распространена на территории Беларуси и относится к лекарственным растениям, представляется значимым изучение эфирного масла, получаемого из сухого сырья, определение его компонентного состава и антиоксидантной активности.

#### *Экспериментальная часть.*

Сырье полыни горькой собирали в августе, когда содержание эфирного масла максимально. Получение эфирного масла из сухого растительного сырья проводили методом гидродистилляции с использованием аппарата Клевенджера. Процесс гидродистилляции в стадии кипения продолжался не более 3 ч. Отбор эфирного масла осуществляли с использованием шприца. Во избежание погрешностей гидродистилляция проводилась в трехкратном повторении. Выход эфирного масла составил 0,45±0,04%.

Компонентный состав эфирных масел определяли с помощью газового хромато-масс-спектрометра Shimadzu QP2010 (EI ионизация) с применением неполярной капиллярной колонки (30 м × 0,32 мм × 0,5 мкм, активная фаза Rtx-1MS Restek). В качестве газа-носителя использовали гелий с постоянным давлением 49,5 кПа, режим инъекции – с расщеплением потока 1/3. Для про-

ведения хроматографического анализа эфирное масло объемом 10 мкл смешивали с 1,5 мл дихлорметана. Объем пробы эфирного масла, вносимого в газовый хроматограф, составлял 1 мкл. Идентификацию компонентов проводили с помощью базы данных Wiley. Компонентный состав эфирного масла полыни горькой представлен в таблице 1.

Таблица 1. – Компонентный состав эфирного масла *Artemisia absinthium*

Химический компонент	#CAS	Концентрация, %
Сабинен	3387-41-5	2,62
$\beta$ -пинен	127-91-3	0,81
$\beta$ -мирцен	123-35-3	3,42
$\alpha$ -туйон	2867-05-2	19,76
$\beta$ -туйон	471-15-8	24,43
Терпинен-4-ол	562-74-3	1,32
<i>транс</i> – соберол	42370-41-2	2,66
2,4 - туйондинен	36262-09-6	13,16
Кариофиллен	87-44-5	2,75
$\alpha$ -копаен	3856-25-5	1,61
Формиат геранила	105-86-2	3,92
Геранил пропионат	109-20-6	16,21
Линалил изовалерат	1118-27-0	5,46

Основными компонентами эфирного масла полыни горькой, произрастающей в климатогеографических условиях Беларуси, являются  $\beta$ -туйон (24,43%),  $\alpha$ -туйон (19,76%), геранил пропионат (16,21%), 2,4-туйондинен (13,16%), линалил изовалерат (5,46%).

Антиоксидантную активность эфирного масла исследовали спектрофотометрически с использованием DPPH (1,1-дифенил-2-пикрилгидразил) и ABTS<sup>+</sup> (2,2-азино-бис (3-этилбензотиазолин-6-сульфоновая кислота)) радикал-генерирующей систем [4,5].

Антиоксидантные соединения, присутствующие в эфирном масле, реагируют с DPPH, превращая его в 1-дифенил-2-пикрилгидразин, при этом меняется цвет раствора с фиолетового на желтый [1]. В свежеприготовленный спиртовой раствор DPPH (57 мкМ) добавляли раствор эфирного масла полыни горькой в диапазоне концентраций (0,01 – 1 мг/мл). В качестве растворителя эфирного масла использовали диметилсульфоксид (DMSO). В контрольной и опытных пробах концентрация DMSO составляла не более 5%. Регистрацию изменения оптической плотности раствора DPPH после инкубации с исследуемым эфирным маслом при комнатной температуре в темноте в течении 20 минут осуществляли на длине волны 515 нм. Измерения проводили в трех повторностях.

Антиоксидантную активность образцов рассчитывали по формуле 1.

$$\text{Антиоксидантная активность (\%)} = \frac{DPPH - \text{Образец}}{DPPH} \times 100\% \quad (1)$$

где DPPH – оптическая плотность контрольной пробы; Образец – оптическая плотность опытной пробы.

Уровень оптической плотности DPPH в контрольной пробе принимали за 100%. Для эфирного масла полыни горькой рассчитывали IC50 в отношении DPPH радикала.

Метод ABTS (2,2-азино-бис (3-этилбензотиазолин-6-сульфоновая кислота)) широко используется для оценки антиоксидантной активности, особенно в пищевых продуктах [5]. Анализ удаления радикалов ABTS первоначально состоит из превращения ABTS (бесцветная окраска) в ABTS<sup>+</sup> (синий цвет), что происходит при добавлении K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>. В присутствии соединений-антиоксидантов ABTS<sup>+</sup> снова переходит в нейтральную ABTS (бесцветную) форму [1]. Радикал ABTS (2 мМ) окисляли персульфатом калия (0,17 мМ) в бидистиллированной воде после инкубации при комнатной температуре в темноте 18 ч. Раствор ABTS<sup>+</sup> доводили этанолом до оптической плотности 0,70±0,02 при длине волны 745 нм. В подготовленный раствор ABTS<sup>+</sup> добавляли раствор эфирного

масла полыни горькой в диапазоне концентраций (0,01 – 1 мг/мл). В качестве растворителя для эфирных масел использовали диметилсульфоксид. В контрольных и опытных пробах концентрация DMSO составляла не более 5%. Регистрацию изменения оптической плотности раствора ABTS<sup>+</sup> после инкубации с эфирным маслом при комнатной температуре в темноте в течении 10 минут осуществляли на длине волны 745 нм. Измерение проводили в трех повторностях.

Антиоксидантную активность образцов рассчитывали по формуле 2

$$\text{Антиоксидантная активность (\%)} = \frac{ABTS - \text{Образец}}{ABTS} \times 100\% \quad (2)$$

где *ABTS* – оптическая плотность контрольной пробы; Образец – оптическая плотность опытной пробы.

Уровень оптической плотности ABTS в контрольной пробе принимали за 100%. Для эфирного масла полыни горькой рассчитывали IC50 в отношении ABTS<sup>+</sup> радикала.

Метод ABTS аналогичен методу DPPH в оценке антиоксидантных свойств, но катион-радикал ABTS более реакционноспособен и путь его нейтрализации отличается от пути нейтрализации DPPH [4].

В качестве стандартного антиоксиданта использовали Trolox (0,39 – 6,3 мкг/мл) при исследовании антиоксидантной активности в отношении DPPH и ABTS радикалов.

Статистическую обработку результатов и вычисление значений IC50 осуществляли с использованием программы статистического анализа GraphPad Prism7.

С понижением концентрации эфирного масла снижалась антиоксидантная активность, приводя к увеличению оптической плотности DPPH и ABTS, из-за чего процентное отношение снижалось или стремилось к нулю (таблица 2).

Таблица 2 – Антиоксидантная активность эфирного масла *Artemisia absinthium*, %

Тип радикал-генерирующей системы	Концентрация эфирного масла (мг/мл)						
	1	0,5	0,25	0,1	0,05	0,025	0,01
DPPH	9,89 ±0,91	4,53 ±0,79	2,79 ±0,22	1,99 ±0,79	0,64 ±0,29	1,04 ±0,50	0,29 ±0,27
ABTS <sup>+</sup>	39,76 ±2,80	32,07 ±1,66	21,58 ±1,18	11,60 ±1,95	6,19 ±1,04	3,36 ±1,25	1,91 ±0,78

Как видно, из результатов исследования (таблица 1) антиоксидантная активность эфирного масла полыни горькой более высокая по отношению к ABTS<sup>+</sup> радикалу, чем к радикалу DPPH, тем не менее взаимосвязь антиоксидантных свойств аналогична.

Результаты показали, что общая антиоксидантная способность эфирного масла полыни была значительно ( $P < 0,05$ ) ниже, чем у эталонного соединения Тролокс, в отношении DPPH радикала. Антиоксидантная активность эфирного масла *A. Absinthium* характеризовалась IC50 в отношении DPPH радикала равным 0,98±0,14 мг/мл), тогда как для Тролокса IC50 составляла 0,003±0,027 мг/мл.

При исследовании антиоксидантной активности эфирного масла полыни горькой в отношении ABTS<sup>+</sup> радикалов IC50 составило 0,189±0,16 мг/мл. Но также, как и в случае с антиоксидантной активностью в отношении к DPPH радикалу, эффективность антиоксидантной активности эфирного масла полыни горькой в отношении ABTS<sup>+</sup> радикала была ниже по сравнению с Тролокс (IC50 0,001±0,012 мг/мл).

Таким образом, эфирное масло *A. Absinthium* обладает антиоксидантной активностью, но в меньшей степени, чем стандартный антиоксидант Тролокс. Это может быть обусловлено антиоксидантным действием неосновных компонентов эфирного масла полыни горькой. В то же время антиоксидантная активность эфирного масла полыни горькой более высокая по отношению к ABTS<sup>+</sup> радикалу, чем к радикалу DPPH.

### Список использованных источников

1. Amzad Hossain M. A study on the total phenols content and antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of endemic plant *Merremia borneensis* / M. Amzad Hossain, Muhammad Dawood Shah // *Arabian Journal of Chemistry* – 2015. – vol. 8. – pp. 66-71.
2. Ханина, М.А. Новые данные по химическому составу эфирного масла *Artemisia absinthium L.* Сибирской флоры / М.А. Ханина, Е.А. Серых, Л. М. Покровский, А.В. Ткачѳв // *Химия растительного сырья*, №3, 2000. С. 33–40.
3. Llorens-Molina J.A. Variability of essential oil composition of wormwood (*Artemisia absinthium L.*) affected by plant organ // J.A. Llorens-Molina, Vacas S. Castell V., Németh-Zámборинé E. // *Journal of Essential Oil Research* – 2017. – vol. 29:1. – pp. 11–21. DOI: 10.1080/10412905.2016.1202152.
4. Brand-Williams, W. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity / W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C.L.W.T. Berset // *LWT-Food Science and Technology* – 1995. – vol.28. – pp. 25–30.
5. Re R., Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay / R. Re N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans // *Free Radic. Biol. Med.* – 1999. – vol. 26. – pp.1231–1237