Journal of Chemistry of Goods and Traditional Medicine

J Chem Good Trad Med, Volume 4, Issue 5, 2025 Traditional Medicine

ИЗУЧЕНИЕ АНТИРАДИКАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ ПСОРАЛИН

Махсумов Абдухамит Гафурович
Ташкентский химико-технологический институт, профессор, доктор химических наук, заслуженный изобретатель Узбекистана, действительный член Академии «ТАБОБАТ» Узбекистана
https://orcid.org/0000-0002-8535-3950

DOI: https://doi.org/10.55475/jcgtm/vol4.iss4.2025.499

Ключевые слова: 2,2’-difenil-1-pikrilgidrazil (DPPH), свободный радикал, ингибирование, витамин С, витамин Е, IC50, антирадикал, длина волны.

Аннотация

В данной статье мы представляем результаты исследования антирадикальной активности пищевой добавки, содержащей псоралин. Для оценки ингибирующей способности по отношению к свободным радикалам DPPH• (2,2’-дифенил-1-пикрилгидразил) был использован спектрофотометрический метод, основанный на работе Блуа, с некоторыми модификациями. Оценка проводилась путём измерения поглощения света при длине волны 517 нм (D1) на спектрофотометре K7000 (производство YOKE, Китай). При добавлении к раствору DPPH и этанола исследуемых образцов, мы наблюдали снижение их абсорбции, что напрямую свидетельствует о наличии антирадикальной активности. В результате проведённых измерений было установлено, что все образцы обладают выраженными антирадикальными свойствами. В частности, для спиртового экстракта значение IC50 составило 80,854 мкл, а для водного – 250,62 мкл. Эти данные наглядно демонстрируют высокий потенциал исследуемой добавки в борьбе со свободными радикалами.

Как цитировать

Махсумов, А. Г. ИЗУЧЕНИЕ АНТИРАДИКАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ ПСОРАЛИН. Журнал химии товаров и народной медицины, 4(5). https://doi.org/10.55475/jcgtm/vol4.iss4.2025.499

Проблема окислительного стресса в организме человека является предметом пристального внимания со стороны учёных, медиков и биохимиков. Как отмечали в своём исследовании российские учёные под руководством А.И. Приды [1], окислительный стресс возникает в результате дисбаланса между механизмами образования и утилизации кислорода в организме. Свободные радикалы, которые по своей природе являются нестабильными молекулами с неспаренным электроном, могут приводить к цепным реакциям, повреждающим клеточные структуры.

Для нейтрализации этих реакций организм использует антиоксиданты — биологически активные вещества, способные останавливать окислительные процессы. Антиоксиданты стабилизируют свободные радикалы, превращая их в неактивные соединения и способствуя их выведению из организма [2, 3]. Без достаточного количества антиоксидантов свободные радикалы накапливаются, особенно в клеточных мембранах, что приводит к их разрушению и, как следствие, к повреждению тканей, преждевременному старению и развитию более чем 60 различных заболеваний, включая сердечно-сосудистые патологии, онкологические заболевания, атеросклероз и нейродегенеративные расстройства [4, 5].

Избыточное накопление свободных радикалов является одной из ключевых причин ухудшения здоровья и раннего старения [6, 7]. Антиоксиданты наиболее эффективны при совместном действии. Например, витамин Е, являясь мощным ингибитором окисления липидов, может быть восстановлен витамином С. В свою очередь, витамин С также выполняет защитную

функцию для селена. Кроме того, глутатион играет важную роль в нейтрализации продуктов перекисного окисления липидов, тем самым защищая витамин Е [8].

В данном исследовании для оценки антирадикальных свойств образцов был выбран метод, основанный на использовании стабильного свободного радикала DPPH•. Этот метод позволяет количественно определить способность соединения отдавать атом водорода или электрон, что проявляется в изменении цвета фиолетового раствора DPPH. Спектрофотометрический анализ является надёжным инструментом для подобных измерений [9]. Наша работа опиралась на методику Блуа [10], адаптированную для текущих экспериментов [11].

Материалы и методы

Для проведения экспериментальных исследований использовались следующие реагенты и материалы:

2,2'-дифенил-1-пикрилгидразил (DPPH•) — химический реагент, используемый в качестве источника стабильных свободных радикалов.

Этанол (96%) — растворитель для приготовления рабочего раствора DPPH и экстракции образцов.

Псоралин-содержащий растительный образец.

Дистиллированная вода для приготовления водного экстракта.

Оборудование.

Спектрофотометр K7000 (YOKE, Китай) — использовался для измерения поглощения света при длине волны 517 нм.

Ультразвуковая ванна — для эффективной экстракции биологически активных веществ из растительного образца.

Мерные колбы, кварцевые кюветы, пипетки, шприцевые фильтры (0,45 мкм).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Приготовление рабочего раствора DPPH.

Раствор DPPH• объемом 7,92 мл в этаноле был приготовлен в мерной колбе на 100 мл. Для обеспечения стабильности и защиты от фотодеградации раствор был завернут в алюминиевую фольгу и выдержан в темноте при комнатной температуре в течение 30 минут перед использованием [12].

Приготовление экстрактов образцов.

Для получения спиртового экстракта 0,75 г растительного образца помещали в 25 мл 96% этанола и подвергали ультразвуковой обработке в течение 20 минут. Для получения водного экстракта аналогичную навеску обрабатывали в 25 мл дистиллированной воды. Полученные экстракты затем фильтровали через шприцевой фильтр с размером пор 0,45 мкм для удаления твёрдых частиц и использовали для дальнейшего анализа.

Определение антирадикальных свойств образцов. Измерения поглощения проводили на спектрофотометре K7000. В качестве контрольного образца (холостая проба) в кварцевую кювету объёмом 4 мл вносили 3 мл рабочего раствора DPPH и 100 мкл этанола. Измерение поглощения (D1) проводилось при длине волны 517 нм каждые 5 минут в течение 30 минут. Для оценки активности образца к 3 мл раствора DPPH добавляли 25, 50, 75 и 100 мкл экстракта. Поглощение (D2) измеряли аналогичным образом. Общий объём доводился до 3,1 мл с помощью этанола. Антирадикальная активность рассчитывалась по формуле:

$$ARF\% = \frac{D_1 - D_2}{D_1} \cdot 100\%$$

Полученные результаты приведены в следующей таблице:

Таблица 1

Измеренные значения поглощения света и рассчитанные значения антирадикальной активности холостых и тестовых образцов спиртовой экстракции, добавленных к раствору DPPH.

Объем, мкл	Время, мин.	Образцы					
		Abs, D	ARF%		Время, мин.	Abs, D	ARF%
25	0	0,931	0,00	75	0	0,931	0,0
	5	0,784	15,79		5	0,623	33,1
	10	0,768	17,51		10	0,573	38,5
	15	0,757	18,69		15	0,545	41,5
	20	0,74	20,52		20	0,514	44,8
	25	0,735	21,05		25	0,503	46,0
	30	0,729	21,70		**30**	0,493	47,0
50	0	0,931	0,00	100	0	0,931	0,00
	5	0,715	23,20		5	0,515	44,68
	10	0,684	26,53		10	0,467	49,84
	15	0,663	28,79		15	0,435	53,28
	20	0,64	31,26		20	0,402	56,82
	25	0,632	32,12		25	0,39	58,11
	30	0,624	32,98		**30**	0,378	59,40

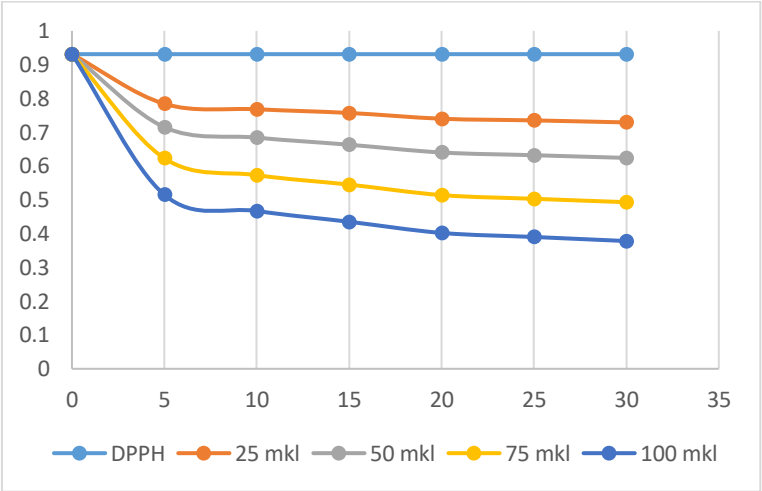


Рисунок 1. Графическое представление измеренного поглощения света холостыми и исследуемыми растворами спиртовой экстракции, добавленными к раствору DPPH

Для расчета IC50 образцов — концентрации 50% ингибирования раствора DPPH — был построен следующий график на основе значений 30-минутной активности поглощения антирадикалов (ARF%) и добавленного объема образца в каждом эксперименте, а также рассчитан на основе примененной к нему функции линии тренда.

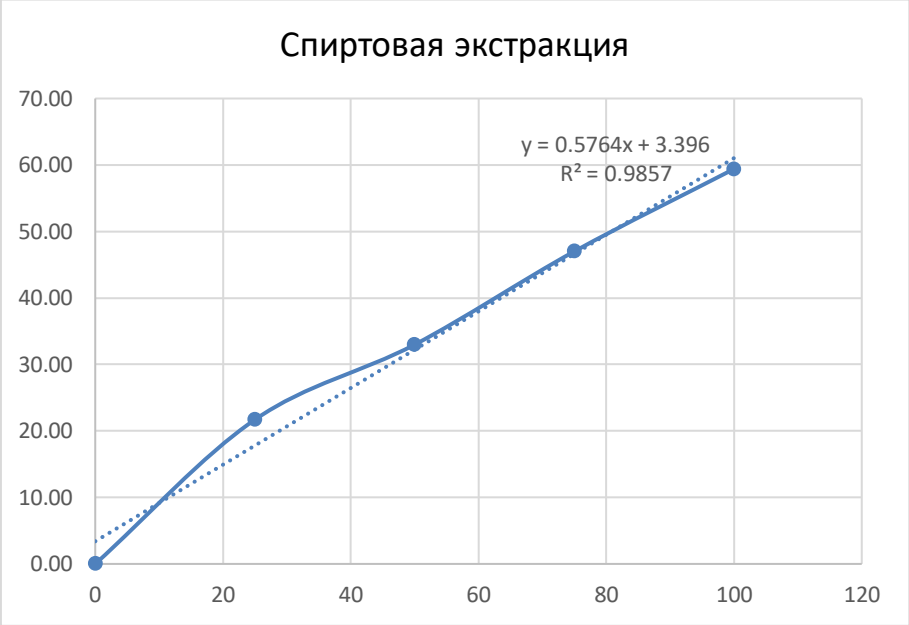


Рисунок 2. График зависимости между ARF% и объемом, определенным через 10 минут спиртовой экстракции образца

Линия тренда, нанесенная на график, была рассчитана по функциональной формуле y=mx+b, основанной на формуле x=(y-b)/m, которая представляет собой объем 50% ARF% (IC50):

$$IC_{50} = \frac{(50 - 0.5764)}{0{,}396} = 80{,}854\, mkl$$

Таблица 2

Измеренные поглощение света и рассчитанные значения антирадикальной активности холостых и тестовых образцов водной экстракции, добавленных к раствору DPPH

Объем, мкл	Время, мин.	Образцы					
		Abs, D	ARF%		Время, мин.	Abs, D	ARF%
25	0	0,931	0,00	75	0	0,931	0,0
	5	0,889	4,51		5	0,861	7,5
	10	0,874	6,12		10	0,825	11,4
	15	0,869	6,66		15	0,812	12,8
	20	0,865	7,09		20	0,804	13,6
	25	0,86	7,63		25	0,791	15,0
	30	0,86	7,63		**30**	0,785	15,7
50	0	0,931	0,00	100	0	0,931	0,00
	5	0,882	5,26		5	0,84	9,77
	10	0,858	7,84		10	0,791	15,04
	15	0,849	8,81		15	0,776	16,65
	20	0,844	9,34		20	0,766	17,72
	25	0,835	10,31		25	0,75	19,44
	30	0,828	11,06		**30**	0,742	20,30

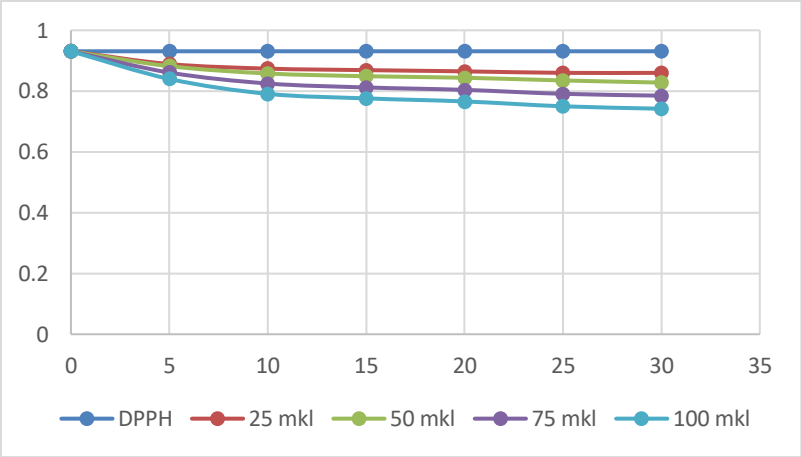


Рисунок 3. Графическое представление измеренного поглощения света холостыми и испытанными растворами образцов водной экстракции, добавленными к раствору DPPH

Для расчета IC_{50} образцов — концентрации 50% ингибирования раствора DPPH — был построен следующий график на основе значений 30-минутной активности поглощения антирадикалов (ARF%) и добавленного объема образца в каждом эксперименте, а также рассчитан на основе примененной к нему функции линии тренда.

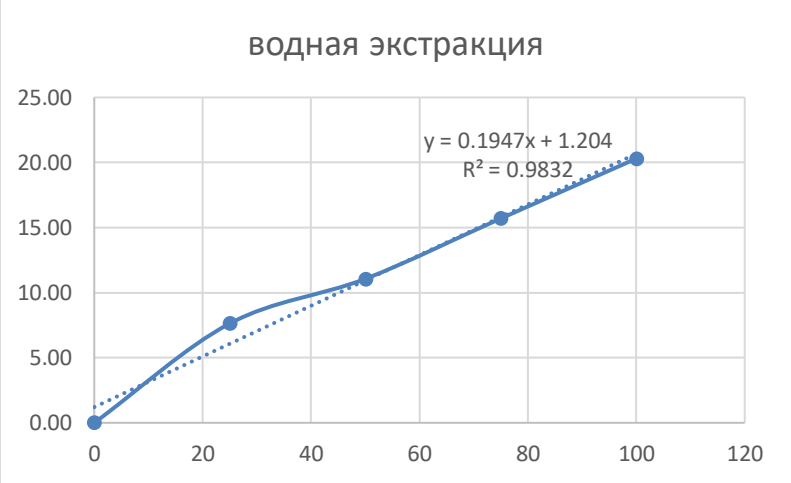


Рисунок 4. График зависимости между ARF% и объемом, определенным через 10 минут водной экстракции образца

Линия тренда, нанесенная на график, была рассчитана по функциональной формуле y=mx+b, основанной на формуле x=(y-b)/m, которая представляет собой объем 50% ARF% (IC50):

$$IC_{50} = \frac{(50 - 1.204)}{0{,}1947} = 250{,}62\ mkl$$

Результаты и обсуждение

Полученные экспериментальные данные, включая значения поглощения и рассчитанные показатели антирадикальной активности (ARF%), были сведены в Таблицу 1 для спиртовых экстрактов и в Таблицу 2 для водных экстрактов.

Для количественной оценки эффективности образцов был рассчитан показатель IC50, который представляет собой объём экстракта, необходимый для достижения 50% ингибирования активности DPPH. Этот показатель был определён по графику зависимости ARF% от объёма добавленного образца, построенному на основе 30-минутных измерений.

На основе данных, представленных на графике, была построена линейная линия тренда по уравнению y=mx+b. Используя это уравнение, мы рассчитали значение IC_{50} по формуле x=(y-b)/m, где y=50% ARF.

Наши результаты демонстрируют, что спиртовой экстракт обладает значительно более высокой антирадикальной активностью, чем водный. Это подтверждается значениями IC50: 80,854 мкл для спиртового экстракта против 250,62 мкл для водного. Данное различие может быть обусловлено тем, что активные компоненты, обладающие антиоксидантными свойствами, в том числе псоралин, лучше растворяются в этаноле, чем в воде. Таким образом, спиртовая экстракция позволяет извлечь больше биологически активных веществ из растительного сырья.

Заключение. Проведённое исследование подтвердило наличие выраженной антирадикальной активности у всех исследованных образцов. Было установлено, что эффективность экстрактов зависит от типа растворителя: значение IC50 для спиртовой пробы составило 80,854 мкл, в то время как для водной пробы — 250,62 мкл. Эти результаты свидетельствуют о более высокой антирадикальной активности спиртового экстракта по сравнению с водным. Полученные данные могут быть использованы для дальнейших исследований и разработки новых пищевых добавок и функциональных продуктов с антиоксидантными свойствами.

ЛИТЕРАТУРЫ

1. Prida A.I., Ivanova R.I. "Polifenolik tabiatdagi tabiiy antioksidantlar (antiradikal xususiyatlar va foydalanish istiqbollari)". Oziq-ovqat ingredientlari. Xomashyo va qo'shimchalar. 2004. №2. B. 76–78.
2. Yashin Ya.I., Vedenin A.N., Yashin A.Ya. Tabiiy antioksidantlar - sog'lom va to'laqonli ovqatlanishning ajralmas qismi va insonni xavfli kasalliklar va qarishdan himoyasi: -M.: "Interlab", 2016 y. B. 7-14.
3. Petrova S.N., Ivkova A.V. Rosa L turining kimyoviy tarkibi va antioksidant xususiyatlari // O'simlik xomashyosi kimyosi, 2014 y. №2. B.13-19.
4. Misin V.M., Sazhina N.N., Zavyalov A.Yu., Yashin Ya.I. Dorivor o'tlar ekstraktlaridagi fenollar miqdorini amperometrik usulda o'lchash // O'simlik xomashyosi kimyosi. 2009. №4. B.127–132.
5. Brainina X.Z., Ivanova A.V., Sharafutdinova Ye.N. Oziq-ovqat mahsulotlarining antioksidant faolligini potensiometrik usulda baholash // Oliy o'quv yurtlari xabarnomasi. Oziq-ovqat texnologiyasi. 2004. №4. B. 73–75.
6. Lapin A.A., Zelenkov V.N., Muzychuk A.S. O'simlik xomashyosi suvda eruvchan polisaxaridlarining antioksidant sig'imi // IV Butunrossiya ilmiy konferensiya materiallar tezislari. "O'simlik moddalari kimyosi va texnologiyasi". – Siktivkar. 2006. B. 257.
7. Trofimova S.A., Dubinina Ye.Ye., Valunov O.A., Leonova N.V. Donatorlarda va ishemik insultni boshdan kechirgan bemorlarda tsitoflavin, vinposetin, aktovegin va etilmetilgidroksipiridin suksinat preparatlarining in vitro eksperimentida antioksidant va antiradikal xususiyatlarini o'rganish // Nevrologiya va psixiatriya jurnali № 7, 2016 y. B. 46-49.
8. Halliwell, B. Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Plant Physiol. 2006; 141 (2):312-322.
9. Gulcin, I.; Beydemir, S.; Sat, I.G.; Kufrevioglu, O.I. Evaluation of antioxidant activity of cornelian cherry (Cornus mas L.). Acta Aliment. Hung. 2005, 34, 193–202.
10. 10. Blois, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 1958, 181, 1199–1200.
11. Askarov I.R., Muminov M.M., Yusupov M.A. STUDY OF ANTIRADICAL PROPERTIES OF ARTICHOKE (CYNARA SCOLYMUS L.) AND MILK THISTLE (SYLYBUM MARIANUM L.) VEGETABLE OILS. NamDU Ilmiy Axborotnomasi, 2024, 11, p.173-177.

12. Askarov, I. R., Abdullaev, S. S., Mamatkulova, S. A., & Abdulloev, O. S. (2024). ANTIOXIDANT ACTIVITY AND ELEMENTAL COMPOSITION OF ARTICHOKE (CYNARA SCOLYMUS L.) VEGETABLE OIL.