

АНТИОКСИДАНТНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ОМЕЛЫ БЕЛОЙ (*VISCUM ALBUM* L.) В УСЛОВИЯХ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ

Л.Н. Скрыпник, П.В. Федуреаев, П.В. Масленников, А.В. Пунгин, А.В. Головин

ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», Калининград, Россия

Введение

Омела белая (*Viscum album* L.) является полупаразитическим растением, развивающим устойчивые гаустории в дереве-хозяине. Проведенные в 2019–2021 гг. исследования показали широкое распространение данного полупаразита на территории Калининградской области и достаточный ресурсный потенциал региона для использования омелы белой в биотехнологических целях. При этом среди зафиксированных инфицированных видов деревьев преобладали деревья липы (*Tilia cordata* Mill.), клена (*Acer platanoides* L.) и тополя (*Populus nigra* L.) [1].

Несмотря на то, что омела белая не входит в список лекарственного растительного сырья по Фармакопеи РФ, различные части омелы находят широкое применение в народной медицине. В частности, ее используют для профилактики и лечения различных заболеваний (атеросклероз, гипертония, артрит, бронхиальная астма, воспалительные заболевания почек, сахарный диабет и др.). Потенциально экстракты омелы белой могут также применяться в качестве гепатопротекторных или седативных препаратов [2, 3]. К наиболее хорошо изученным и наиболее активным фитокомпонентам омелы относятся лектины и вискотоксины, которые играют существенную роль в лечении рака из-за их апоптотического и цитотоксического действия. Другая группа соединений, идентифицированных в омеле белой, – это фенольные кислоты, фенилпропаноиды и флавоноиды с антиоксидантной и противовоспалительной активностью, которые снижают кровяное давление. Кроме того, в омеле выявлены тритерпены с цитотоксическими и апоптотическими свойствами, а также фитостеролы, олиго- и полисахариды [3].

На накопление вторичных метаболитов в растениях оказывают влияние многие факторы, связанные как с местом и условиями их произрастания, так и с особенностями роста и развития самого растения [4]. Ранее было показано, что метаболический профиль омелы белой также зависит от дерева, на котором она произрастает [5]. Кроме того, качественный и количественный состав фитокомпонентов в разных органах растений может сильно варьировать, что, в свою очередь, обуславливает и различие в их биологической активности. Однако, исследований антиоксидантной активности экстрактов растений омелы, собранных с деревьев с различной степенью поражения, ранее не проводилось.

В связи с этим целью данной работы являлось исследование антиоксидантной активности экстрактов различных частей омелы белой (*Viscum album* L.), произрастающей на деревьях липы сердцевидной, отличающихся различной степенью поражения данным полупаразитом.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали 70 %-ные водно-этанольные экстракты различных частей омелы белой (*Viscum album* L.). Образцы растений собирали в период их плодоношения с января по февраль 2022 г. Сбор всех проб омелы осуществлялся с деревьев липы сердцевидной (*Tilia cordata* Mill.), отличающихся различной степенью поражения данным полупаразитом – низкой (менее 10 кустов омелы на дерево), средней (от 10 до 30 кустов омелы на дерево) и высокой (более 30 кустов омелы на дерево). С каждого варианта собиралось 5 кустов омелы ($n=5$). Собранный растительный материал разделяли на части (листья, стебли и плоды), лиофилизировали и измельчали до размера частиц менее 0,5 мм.

Для определения антиоксидантной активности были получены растительные экстракты из измельченного материала с использованием 70 %-го водного раствора этилового спирта в качестве экстрагента. Навеску массой 1,0000 г. помещали в круглодонную колбу, добавляли 30 мл 70 % этилового спирта и нагревали на водяной бане с обратным холодильником в течение 60 минут, затем фильтровали в мерную колбу на 100 мл. Экстракцию проводили трёхкратно, затем объем объединенного экстракта доводили до 100 мл 70 % этиловым спиртом.

Антиоксидантную активность (АОА) определяли тремя методами: по способности связывать радикал 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (DPPH); по способности связывать радикал 2,2'-азино-бис (3-этилбензтиазолин-6-сульфоновой кислоты) (ABTS); по способности восстанавливать комплекс Fe(III)–2,4,6-трипиридил-*s*-триазин до комплекса Fe(II)–2,4,6-трипиридил-*s*-триазин (FRAP) согласно методике [6]. В качестве стандартов использовали растворы тролокса известной концентрации. Антиоксидантную активность выражали в мкмоль эквивалентов тролокса на г сухой массы растительного материала (мкмоль экв. тролокса/г).

Экспериментальные данные были обработаны статистически. На рисунках представлены средние значения со стандартными отклонениями ($n = 5$). Для оценки корреляционной зависимости между показателями антиоксидантной активности рассчитывали коэффициент Пирсона.

Результаты

Антиоксидантная активность экстрактов омелы, измеренная по способности связывать радикал 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (DPPH) зависела как от анализируемого органа растения, так и от степени поражения дерева-хозяина данным полупаразитом (рис. 1). Максимальной антиоксидантной активностью отличались плоды (от 16 до 43 мкмоль экв. тролокса/г). При этом между листьями и стеблями достоверных различий в антиоксидантной активности установлено не было. С увеличением степени поражения деревьев липы омелой антиоксидантная активность во всех исследованных частях снижалась в среднем 1,5 раза при средней степени поражения и в 3 раза при высокой.

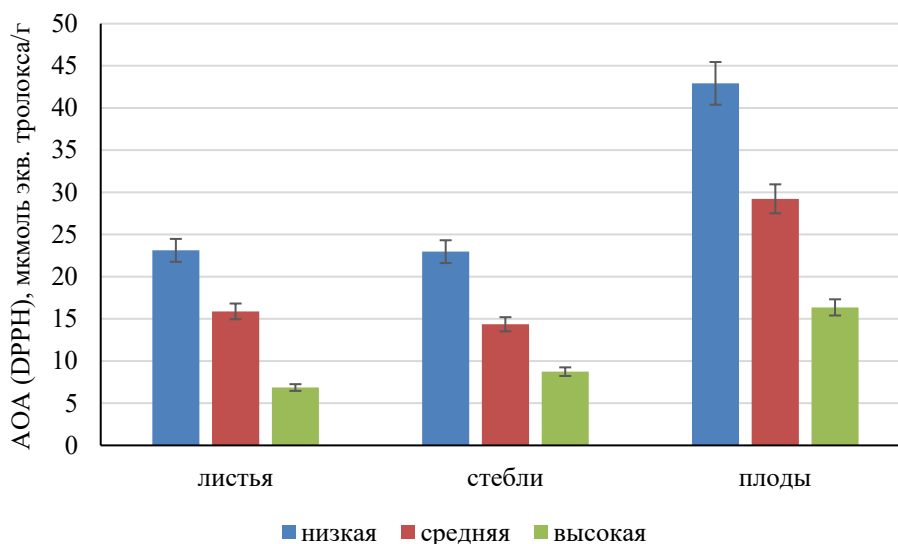


Рисунок 1 – Антиоксидантная активность экстрактов различных частей омелы, определённая по методу DPPH, в зависимости от степени поражения ею дерева-хозяева (липы сердцевидной)

Результаты определения антиоксидантной активности экстрактов омелы, измеренной по способности связывать радикал 2,2'-азино-бис (3-этилбензтиазолин-6-сульфоновой кислоты) (ABTS) представлены на рисунке 2. Максимальной антиоксидантной активностью в данном случае также отличались плоды, которые проявляли активность в диапазоне от 74 до 102 мкмоль экв. тролокса/г. В листьях и стеблях антиоксидантная активность достоверно не различалась и в среднем была в 1,6–2,0 раза ниже по сравнению с листьями. Степень поражения также сказывалась и на способности экстрактов связывать ABTS-радикал. Однако, для проб листьев и стеблей снижение антиоксидантной активности установлено только по сравнению с низкой степенью поражения (примерно в 1,5 раза). При этом экстракты омелы, собранные с деревьев, характеризующихся средней и высокой степенью поражения, достоверно не различались.

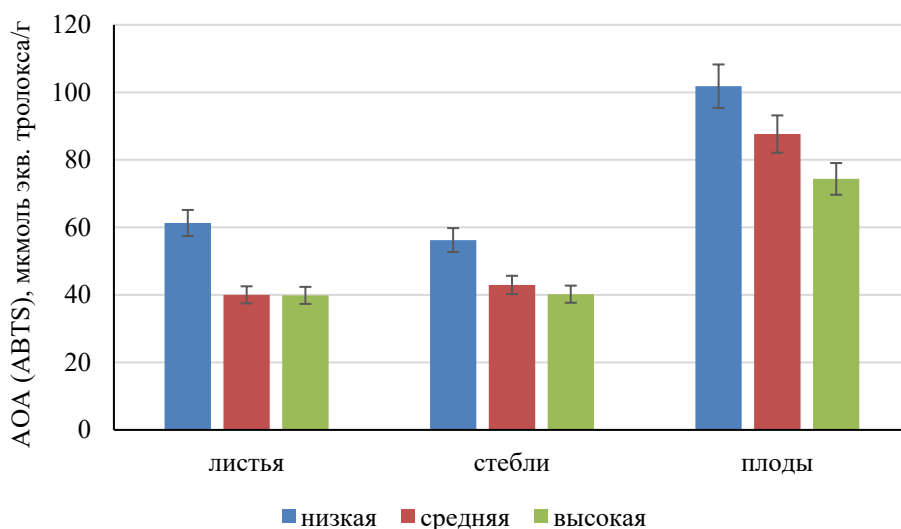


Рисунок 2 – Антиоксидантная активность экстрактов различных частей омелы, определённая по методу ABTS, в зависимости от степени поражения ею дерева-хозяева (липы сердцевидной)

Результаты определения антиоксидантной активности экстрактов омелы, измеренной по способности восстанавливать комплекс Fe(III) – 2,4,6–трипиридил-s-триазин до комплекса Fe(II) – 2,4,6–трипиридил-s-триазин представлены на рисунке 3. Максимальной антиоксидантной активностью отличались плоды (от 42 до 52 мкмоль экв. тролокса/г). Достоверно более низкие показатели антиоксидантной активности наблюдались при увеличении степени поражения деревьев омелой – от низкой степени к средней и высокой.

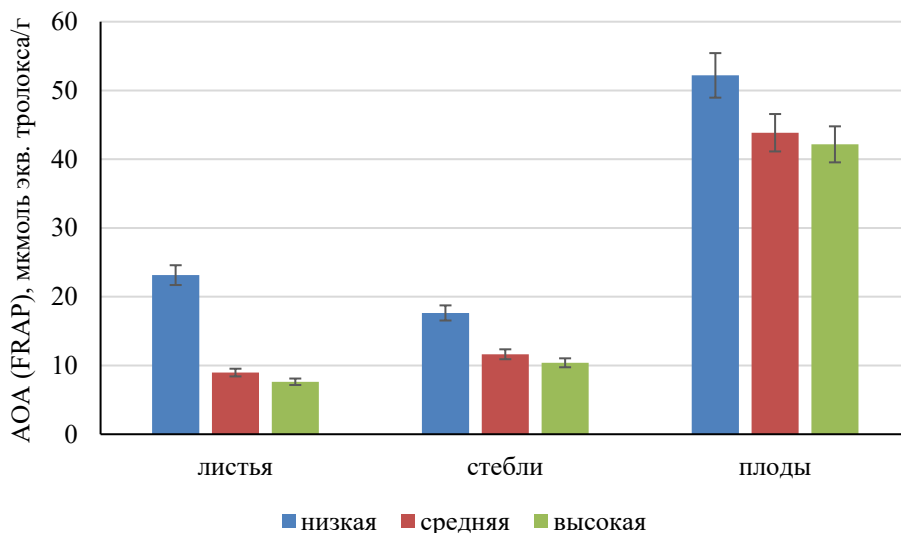


Рисунок 3 – Антиоксидантная активность экстрактов различных частей омелы, определённая по методу FRAP, в зависимости от степени поражения ею дерева-хозяева (липы сердцевидной)

Результаты корреляционного анализа показали высокую степень сопряженности между показателями антиоксидантной активности, измеренными по трем методам (таблица 1). При этом, наибольший коэффициент корреляции ($r = 0,982$, $p \leq 0,05$) установлен между данными по методу ABTS и FRAP несмотря на то, что в основе данных методов лежат различные механизмы взаимодействия антиоксидантов с используемыми реагентами – радикалом 2,2'-азино-бис (3-этилбензтиазолин-6-сульфоновой кислоты) и комплексом Fe(III)–2,4,6–трипиридил-s-триазин соответственно.

Таблица 1 – Коэффициенты корреляции Пирсона между показателями антиоксидантной активности экстрактов омелы, измеренными различными методами

Показатель	АОА (DPPH)	АОА (ABTS)	АОА (FRAP)
АОА (DPPH)	–		
АОА (ABTS)	0,890	–	
АОА (FRAP)	0,807	0,982	–

Обсуждение

Антиоксидантная активность экстрактов является интегральным показателем, значения которого зависят от наличия в экстрактах целого комплекса природных соединений различной химической структуры. На сегодняшний день существует большое разнообразие методов определения антиоксидантной активности, однако встречающаяся в литературе вариативность экспериментальных условий для каждого из методов затрудняет выбор наиболее подходящего метода и возможность легкого сравнения полученных результатов с результатами других исследований [7, 8]. В связи с этим общепринятым при исследовании антиоксидантной активности является использованием минимум трех методов для ее оценки, отличающихся механизмом протекающих реакций между антиоксидантом и используемым реагентом. В данной работе использовались следующие методы: метод, основанный на переносе электрона – FRAP и два метода, имеющих смешанный механизм и включающие как перенос электрона, так и атома водорода – DPPH и ABTS. Несмотря на различия в абсолютных значениях антиоксидантной активности экстрактов омелы, полученных при использовании этих методов, коэффициенты корреляции для них были высокими ($r = 0.807\text{--}0.982$, $p \leq 0,05$), что, в целом, позволяет делать вывод о сопоставимости результатов, полученных этими тремя методами.

В настоящем исследовании подтверждено, что экстракты омелы белой могут рассматриваться как первичные и или вторичные антиоксиданты, способные элиминировать свободные радикалы и предотвращать смещение редокс-равновесия в сторону процессов окисления. Сравнительное исследование антиоксидантной активности различных частей омелы показало, что наибольшей антиоксидантной активностью отличались плоды. Антиоксидантная активность листьев и стеблей практически не различалась и была в 2–3 раза ниже по сравнению с плодами. Стоит отметить, что в проведенном ранее исследовании [9] максимальная антиоксидантная активность была выявлена для экстрактов листьев омелы. Однако различия в полученных результатах могут быть связаны с тем, что образцы омелы собирались с разных деревьев. При этом известно, что вид дерева-хозяина в значительной мере определяет фитохимический состав и антиоксидантную активность омелы [10]. Среди основных компонентов, отвечающих за антиоксидантную активность экстрактов омелы белой, выделяют фенольные кислоты (3,4-дигидроксibenзойная, кофейная, сиреневая, синапиновая и др.) и флавоноиды (3-О-метилкверцетин, рамнетин, эриодиктиол и др.) [10].

На антиоксидантную активность экстрактов всех исследованных частей омелы сильное влияние оказывала степень поражения дерева-хозяина данным полупаразитом. Наивысший показатель антиоксидантной активности наблюдался у образцов, собранных с деревьев с наименьшей степенью поражения (менее 10 кустов омелы на дерево). Известно, что несмотря на то, что омела относится к полупаразитическим растениям, при поражении омелой наблюдаются существенные изменения в первичном и вторичном метаболизме деревьев-хозяев. Во многом эти изменения связывают с нарушением водного и минерального баланса в деревьях, которое может приводить к развитию окислительного стресса [11]. В настоящей работе впервые показано, что при сильном поражении омелой изменение вторичного метаболизма наблюдается не только в дереве-хозяине, но и в самой омеле, что и приводит к снижению антиоксидантной активности ее экстрактов. Однако для более точных выводов необходимо проведение дополнительных исследований, направленных на изучение метаболического профиля листьев, стеблей и плодов омелы белой в зависимости от степени поражения ею деревьев.

Заключение

В ходе проведенного исследования было установлено, что максимальной антиоксидантной активностью характеризовались плоды омелы белой, собранные с деревьев липы сердцевидной с низкой степень поражения (менее 10 кустов омелы на дерево). По сравнению с листьями и стеблями показатель антиоксидантной активности в экстрактах плодов был 1,9–3,5 раза выше в зависимости от использованного метода определения. Впервые было показано, что с увеличением степени поражения деревьев липы омелой антиоксидантная активность во всех исследованных частях снижалась.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Министерства экономического развития, промышленности и торговли Калининградской области (Соглашение № 16-с/2021) в рамках научного проекта № 19-44-390004 п_а.

Литература

1. Skrypnik L., Maslennikov P., Feduraev P., Pungin A., Belov N. Ecological and Landscape Factors Affecting the Spread of European Mistletoe (*Viscum album* L.) in Urban Areas (A Case Study of the Kaliningrad City, Russia) // Plants. – 2020. – Vol. 9. – N. 3. – P. 394.
2. Singh B.N., Saha C., Galun D., Upreti D.K., Bayry J., Kaveri S.V. European *Viscum album*: a potent phytotherapeutic agent with multifarious phytochemicals, pharmacological properties and clinical evidence // RSC advances. – 2016. – Vol. 6. – N. 28. – P. 23837–23857.
3. Nazaruk J., Orlikowski P. Phytochemical profile and therapeutic potential of *Viscum album* L // Natural product research. – 2016. – Vol. 30. – N. 4. – P. 373–385.
4. Li Y., Kong D., Fu Y., Sussman M.R., Wu H. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants // Plant Physiology and Biochemistry. – 2020. – Vol. 148 – P. 80–89.
5. Jäger T., Holandino, C., Melo, M.N. d. O., Peñaloza E.M.C., Oliveira A.P., Garrett R., Glauser G., Grazi M., Ramm H., Urech K., Baumgartner S. Metabolomics by UHPLC-Q-TOF Reveals Host Tree-Dependent Phytochemical Variation in *Viscum album* L. // Plants. – 2021. – Vol. 10. – P. 1726.
6. Скрыпник Л.Н., Курашова А.А. Сравнительное исследование антиоксидантных свойств растений некоторых видов рода *Sambucus* L // Химия растительного сырья. – 2019. – №. 1. – С. 127–137.
7. Chaves N., Santiago A., Alías J.C. Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: Analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used // Antioxidants. – 2020. – Vol. 9. – N. 1. – P. 76.
8. Munteanu I.G., Apetrei C. Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22. – N. 7. – P. 3380.
9. Majeed M., Pirzadah T.B., Mir M.A., Hakeem K.R., Alharby H.F., Alsamadany H., Bamagoos A.A., Rehman R.U. Comparative Study on Phytochemical Profile and Antioxidant Activity of an Epiphyte, *Viscum album* L. (White Berry Mistletoe), Derived from Different Host Trees // Plants. – 2021. – Vol. 10. – P. 1191.
10. Pietrzak W., Nowak R. Impact of Harvest Conditions and Host Tree Species on Chemical Composition and Antioxidant Activity of Extracts from *Viscum album* L. // Molecules. – 2021. – Vol. 26. – N. 12. – P. 3741.
11. Scalón M.C., Rossatto D.R., Franco A.C. How does mistletoe infection affect seasonal physiological responses of hosts with different leaf phenology? // Flora. – 2021. – Vol. 281. – P. 151871.