

Резникова Е.А., Хионина К.А.

Исследование антиксантинооксидазной активности эффекторов, выделенных из листьев земляники

ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России

Резюме

По данным литературных источников фенольные соединения, обладая структурными сходствами с ксантином, способны по конкурентному механизму ингибировать ксантинооксидазу. Земляника является источником данных соединений, и, следовательно, перспективным объектом для выделения новых природных эффекторов. Выделение и очистка данных соединений, определение их химической структуры, будет служить основой для создания новых средств фармакокоррекции нарушений обмена пуриновых нуклеотидов. Оптимальными условиями для выделения ингибиторов ксантинооксидазы является извлечение 0,1 М раствором аммиака или водное извлечение. При использовании этанола экстрагируются эффекторы, активирующие ксантинооксидазу. Компоненты водного (1,25 мг/мл) и аммиачного (5 мг/мл) снижают активность ксантинооксидазы на 100%. Этанольные экстракты активируют ксантинооксидазу в 3-5-раз. В водных и аммиачных экстрактах обнаружены дубильные вещества; в спиртовых извлечениях – флавоноиды.

Ключевые слова: земляника, ксантинооксидаза, эффекторы

Актуальность

Земляника лесная – растение семейства Розовые, широко распространенное в лесной и лесостепной зонах европейской части России, Сибири, Белоруссии, Украине, а также в некоторых других областях Евразии. Земляника нашла широкое применение как в народной, так и в официальной медицине. В листьях земляники содержатся флавоноиды, дубильные вещества, органические кислоты, витамины группы В, соли железа, кобальта, марганца. Настои листьев земляники часто используются как мочегонное средство при мочекаменной и желчнокаменной болезни, а также лечении подагры.

По данным литературных источников фенольные соединения, обладая структурными сходствами с ксантином, способны по конкурентному механизму ингибировать ксантинооксидазу. Земляника является источником данных соединений, и, следовательно, перспективным объектом для выделения новых природных эффекторов. Выделение и очистка данных соединений, определение их химической структуры, будет служить основой для создания новых средств фармакокоррекции нарушений обмена пуриновых нуклеотидов.

Цель работы: исследование химической природы и антиксантинооксидазной активности эффекторов, выделенных из листьев земляники.

Задачи:

1. Получить сухие экстракты листьев земляники, используя разные экстрагенты. Выбрать оптимальные условия экстракции для получения эффекторов.
2. Провести оценку влияния полученных экстрактов на ксантинооксидазу молока.
3. Определить химическую природу выделенных эффекторов.

Материал и методы

Экстракцию листьев земляники проводили в течение часа (при температуре 60°C) [1], используя экстрагенты: 0,1 М раствор аммиака, 0,1 М раствор уксусной кислоты, воду и этанол различной концентрации (50%, 70%, 96%). Экстракты высушивали и на водяной бане и получали растворы с концентрацией 10 мг/мл; 5 мг/мл; 2,5 мг/мл и 1,25 мг/мл. Активность ксантинооксидазы молока определяли спектрофотометрическим методом, по используемой ранее методике [2], добавляя в тест-систему: 2 мл обезжиренного молока, 0,2 мл субстрата кофеина, 0,2 мл экстракта) и 50 мкл окислительно-восстановительного индикатора. В качестве положительного контроля использовали ингибитор ксантинооксидазы аллопуринол (5 мг/мл). Отрицательный контроль содержал цитратный буферный раствор, вместо экстракта (рН=10).

Идентификацию компонентов экстракта проводили с помощью цветных реакций и методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). В качестве подвижной фазы использовали 70% этанол. После проведения хроматографии, пластинки высушивали и проявляли в УФ-свете.

Результаты и обсуждение

Аммиачные и водные извлечения из листьев земляники демонстрируют антиксантинооксидазную активность (в концентрации 5 мг/мл для аммиачного и 1,25 мг/мл для водного извлечения активность ксантинооксидазы снижается на 100%). В данных экстрактах обнаруживаются дубильные вещества (полифенолы), которые специфически проявляются в УФ-свете при постановке ТСХ. Кислотное извлечение не показало четкой тенденции к ингибированию ксантинооксидазы.

Однако компоненты этанольных экстрактов листьев земляники обладают активирующим влиянием на ксантинооксидазу (активность увеличивается в 3-5 раз). Это может быть обусловлено присутствием в экстрактах флавоноидов, поскольку при проведении ТСХ на пластинках проявляются пятна, специфически окрашивающиеся при проявлении в УФ-свете и обработке раствором аммиака. Спиртовые извлечения также давали положительные реакции с хлоридом железа (III) и пробу Шинода. При этом наибольшую активность в отношении фермента показал 96% этанольный экстракт, который содержал флавоноидов существенно больше, чем другие извлечения.

Выводы

1. Оптимальными условиями для выделения ингибиторов ксантиноксидазы является извлечение 0,1 М раствором аммиака или водное извлечение. При использовании этанола экстрагируются эффекторы, активирующие ксантиноксидазу.
2. Компоненты водного (1,25 мг/мл) и аммиачного (5 мг/мл) снижают активность ксантиноксидазы на 100%. Этанольные экстракты активируют ксантиноксидазу в 3-5-раз.
3. В водных и аммиачных экстрактах обнаружены дубильные вещества; в спиртовых извлечениях – флавоноиды.

Литература

1. Буслаева Н.Н., Калинин Е.П. К вопросу о выборе лабораторных методов оценки антикоагулянтного действия новых фармакологических соединений. Материалы конференции: Молекулярные аспекты химии, фармацевтики и фармакологии. М.: Издательство «Перо» 14 с., Москва, 2020.
2. Панина, С.Б. Роль антиоксидантной системы и провоспалительных цитокинов в механизмах развития гонартроза: дисс. ...кан. биол. наук: 03.01.04. - Ростов на-Дону, 2016. – 149 с.