

УДК 577.127.4; 58.009

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ, АНТИОКСИДАНТНОЙ И АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЭТАНОЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ РАСТЕНИЯ *KOENIGIA WEYRICHII*, ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО НА КОЛЬСКОМ ПОЛУОСТРОВЕ

© А.В. Коровкина¹, Н.С. Цветов^{2*}, О.И. Паукшта², А.Л. Шаварда³, Д.А. Петрашова¹, В.К. Жиров¹

¹ Федеральний исследовательский центр «Кольский научный центр» РАН, ул. Ферсмана, 14, Апатиты, 184209 (Россия)

² Институт химии и технологии редких элементов и минерального сырья им. И.В. Тананаева, Федеральний исследовательский центр «Кольский научный центр» РАН, мкр. Академгородок, 26А, Апатиты, 184209 (Россия), e-mail: n.tsvetov@ksc.ru

³ Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, ул. Профессора Попова, 2, Санкт-Петербург, 197376 (Россия)

Флавоноиды – ценные полифенольные соединения, обладающие различными видами биологической активности. Одним из растений, характеризующимся высоким содержанием флавоноидов в надземных частях, является *Koenigia Weyrichii* (F. Schmidt) T.M. Schust. et Reveal. Целью настоящей работы является сравнение общего содержания полифенолов, флавоноидов, общей антиоксидантной и антирадикальной активности этанольных экстрактов, полученных из различных частей растения *K. Weyrichii*, произрастающего в Арктической зоне России, сравнение эффективности ультразвуковой экстракции и настаивания, а также определение оптимальных условий экстракции. Общее содержание полифенольных компонентов определялось с использованием реактива Фолина-Чокалтеу, общего содержания флавоноидов – с использованием реакции комплексообразования с хлоридом алюминия, общей антиоксидантной активности – фосфомолибдатным методом, а антирадикальной активности – в реакции с 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (DPPH). Повышенный выход флавоноидов наблюдается в случае применения мацерации. По данным об общем содержании флавоноидов определены оптимальные условия настаивания (время и соотношение компонентов водно-этанольной смеси). *K. Weyrichii* может рассматриваться как перспективный источник флавоноидов и культивироваться в условиях Арктики для дальнейшего использования.

Ключевые слова: *Koenigia Weyrichii*, флавоноиды, антиоксидантная активность, экстракция.

Работа выполнена в рамках темы НИР 0186-2019-0009 и при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации МК-566.2020.11. В работе использовано оборудование ресурсного центра Молекулярных и клеточных технологий, Научный парк, Санкт-Петербургский государственный университет.

Введение

Флавоноиды – это обширная синтезируемая растениями группа полифенолов, которая участвует в процессах роста и развития растений и играет важную роль в механизмах неспецифической адаптации растений к неблагоприятным факторам окружающей среды (высокоинтенсивный видимый свет, ультрафиолетовое излучение, перепады температур, повышенные концентрации тяжелых металлов, патогенные микроорганизмы и др.) [1, 2].

Коровкина Анна Викторовна – научный сотрудник лаборатории медицинских и биологических технологий, e-mail: dokkto@list.ru

Цветов Никита Сергеевич – научный сотрудник, e-mail: n.tsvetov@ksc.ru, tsvet.nik@mail.ru

Паукшта Оксана Ивановна – инженер, e-mail: o.i.paukshta@mail.ru

Высокая антиоксидантная активность флавоноидов, защищающая растения от процессов

Окончание на С. 276.

* Автор, с которым следует вести переписку.

свободнорадикального окисления, представляет практический интерес и широко используется в медицинской практике [3]. Помимо антиоксидантной активности, флавоноиды обладают потенциалом ингибировать возникновение и развитие воспалительных заболеваний, могут модулировать ряд ключевых элементов в клеточных сигнальных путях трансдукции, связанных с апоптозом, ангиогенезом и метастазированием.

Основным природным источником флавоноидов являются высшие растения [4]. В работах различных авторов установлено, что у растений, которые более подвержены воздействию экстремальных факторов различной природы, синтез флавоноидов происходит более интенсивно по сравнению с представителями тех же видов из регионов с более благоприятными условиями [5–7]. В частности, такие условия наблюдаются на Крайнем Севере: отсутствие тепла и особыми условиями освещения, связанными с такими явлениями, как полярный день и полярная ночь. В связи с этим логично предположить, что потенциальными источниками флавоноидов для нужд фармацевтики и производства БАДов являются растения, успешно произрастающие в экстремальных условиях высоких широт.

Среди травянистых растений Мурманской области наиболее перспективными в качестве возможного источника флавоноидов являются растения *Koenigia Weyrichii*, интродуцированные на Кольский полуостров в 20-х годах XX в. [8]. *K. Weyrichii* также известна как горец Вейриха, *Polygonum Weyrichii Fr.Schmidt*, ранее относилась к роду *Aconogonon (Meinh.) Rchb.* как *A. weyrichii (F. Schmidt) H. Hara* [9], но в настоящий момент на основе молекулярных филогенетических данных относится к роду *Koenigia L. (K. Weyrichii (F. Schmidt) T.M. Schust. et Reveal)* [10].

Представители этого вида успешно интродуцировались в местных условиях и в настоящее время широко распространены по всей территории промышленно освоенной части региона. *K. weyrichii* является многолетним холодостойким растением, плантации можно использовать без посева 10–15 лет. Даже в неблагоприятных условиях предгорий Хибинского массива и близости к промышленным объектам данный вид отличается высокой урожайностью (растения достигают высоты до 3 м), высоким содержанием флавоноидов в тканях. Низкие трудозатраты для культивирования позволяют рассматривать *K. weyrichii* в качестве перспективного источника биологически активных веществ для фармакологии в Мурманской области. Для подбора метода экстракции и дальнейшего использования в производстве необходимы данные о фитохимическом составе листьев и соцветий данного растения в разные периоды вегетации [11].

Среди существующих методов экстракции флавоноидов большое внимание уделяется ультразвуковой экстракции (УАЕ) [12]. Воздействие ультразвука позволяет не только ускорить диффузию вещества из твердой фазы в жидкую, но и за счет кавитации разрушает клеточные стенки, увеличивая выход целевых компонентов. Однако можно предположить, что для разных частей растения ультразвуковая обработка будет действовать немного по-разному в виду различий клеточных структур, например, соцветий и листьев. Кроме того, воздействие ультразвука может оказывать влияние на структуру биологически активных веществ, что может привести к снижению их активности. Поэтому важно проводить оценку эффективности мягких методов экстракции, таких как мацерация, и методов, предполагающих дополнительную обработку, например, ультразвуковой экстракции.

Цель настоящей работы заключалась в оценке содержания флавоноидов в листьях и соцветиях *K. Weyrichii*, произрастающего в различных условиях, и сравнении эффективности экстракции методами настаивания и ультразвуковой экстракции для подбора оптимальных условий экстракции.

Материалы и методы

Использованные реактивы. Молибдат аммония, дигидрофосфат калия, карбонат натрия, хлорид алюминия, уксусная кислота (все реактивы квалификации ХЧ, Вектон), концентрированная серная кислота (>94%, Невареактив), этанол (96%, РФК), ацетонитрил (99.9% для ВЭЖХ), 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил

Шаварда Алексей Леонидович – заведующий лабораторией аналитической фитохимии,
e-mail: stachyopsis@gmail.com

Петрашова Диана Александровна – старший научный сотрудник, заведующая лабораторией медицинских и биологических технологий,
e-mail: dinapetrashova@mail.ru

Жиров Владимир Константинович – профессор,
e-mail: v_zhirov_1952@mail.ru

(99%, Sigma-Aldrich), реактив Фолина-Чокалтеу (2М, Sigma-Aldrich), аскорбиновая кислота (>99.7%, HUGESTONE, China), галловая кислота (98% Sigma-Aldrich), рутин (≥94%, Sigma-Aldrich) и дистиллированная вода.

Объекты исследования. Для исследования образцы *K. Weyrichii* были собраны экспериментальных площадках ПАБСИ КИЦ РАН в районе

г. Апатиты (67°34'N 33°24' E) и г. Кировска (67°36'N 33°40'E), которые, несмотря на близкое расположение, различаются по климатическим условиям [13]. Участки сбора в районе г. Апатиты находятся на предгорной равнине, на высоте 140 м над уровнем моря, а участок сбора в районе г. Кировска – в Хибинских горах на высоте 340 м над уровнем моря. Среднесуточная температура на первом участке выше на 5 °С, чем на втором, а вегетационный период больше на 12–15 дней. Каменистые почвы участка в Хибинских горах, периодическая почвенная засуха, ограниченная горными вершинами освещенность позволяют говорить о более экстремальных условиях в данной местности.

На указанных участках сбор проводился до цветения (12 июня 2019 г.), во время цветения (22 июля 2019 г.) и в фазу плодоношения (5 сентября 2019 г.). Собраны были листья верхнего и среднего ярусов и соцветия (в фазы цветений). Все образцы были высушены и хранились в соответствии с рекомендациями к высушиванию и хранению растительных материалов для медицины [14]. Для экстракции растительный материал измельчался, просеивался через сито с диаметром 1.0 мм и дополнительно высушивался при 60 °С до постоянной массы (около 3 ч).

Экстракция. Для экстракции использовалась смесь этанол – вода (70 об.% этанола). К 0.2 г растительного материала приливали 2 мл экстрагента в закрывающуюся виалу и перемешивали. Настаивание проводилось в течение 24 ч в воздушном термостате при температуре 25 °С, ультразвуковая экстракция осуществлялась 3 ч при 50 °С [15] в ультразвуковой ванне ВИЛИТЕК VBS-3D. После экстракции растворы центрифугировали в течение 15 мин со скоростью 2000 об./мин на центрифуге ELMi Multi Centrifuge CM 6M и фильтровали.

Оптимизация мацерации. Для оптимизации условий настаивания использовались смеси этанол – вода с содержанием этанола 0, 20, 40, 60 и 80 об.%, процесс проводился в течение 1–5 суток при 25 °С.

Общее содержание фенольных компонентов (total phenolic content, TPC) определялось с помощью реакции с реактивом Фолина-Чокалтеу по методу, описанному в [16], с небольшими изменениями: исходный реактив с концентрацией 2 моль/л разбавляли в 10 раз, к 1 мл полученного раствора добавляли 0.2 мл разбавленного в 100 раз экстракта, через 5 мин добавляли 0.8 мл 5% карбоната натрия и выдерживали в темноте при комнатной температуре на 60 мин. После этого измеряли оптическую плотность с помощью фотоколориметра КФК-3-01 (ЗОМЗ, Россия, 2010 г.) при длине волны 765 нм. Калибровка проводилась с использованием галловой кислоты в диапазоне концентраций 10–200 мкг/мл. Общее содержание фенольных компонентов выражалось в мг эквивалента галловой кислоты (GAE) на 1 г растительного материала:

$$TPC = \frac{0.1 \cdot (A_{765} - b) \cdot V_{ext}}{a \cdot m_{plant}}, \text{ мг GAE/г}$$

где A_{765} – оптическая плотность при длине волны 765 нм, a и b – коэффициенты линейного уравнения градуировочного графика (наклон и сдвиг соответственно), V_{ext} – объем экстрагента, m_{plant} – масса растительного материала.

Общее содержание флавоноидов (total flavonoid content, TFC) определялось с помощью реакции комплексообразования с хлоридом алюминия [15, 17]. 0.05 мл разбавленного в 5 раз экстракта смешивали с 0.1 мл 2% раствора хлорида алюминия в 96% этаноле и доводили объем до 2.5 мл 96% этанолом. Оптическая плотность измерялась при длине волны 415 нм. Калибровка проводилась с использованием рутина в диапазоне концентраций 100–1000 мкг/мл. Общее содержание флавоноидов в экстракте выражается в мг эквивалента рутина (RE) на 1 г растительного материала:

$$TFC = \frac{0.005 \cdot k \cdot A_{415} \cdot V_{ext}}{m_{plant}}, \text{ мг RE/г}$$

где k – калибровочный коэффициент, A_{415} – оптическая плотность при длине волны 415 нм.

Общая антиоксидантная активность (total antioxidant activity, TAC) определялась с использованием фосфомолибдатного метода [18]. 0.2 мл разбавленного в 30 раз 70% этанолом экстракта смешивали с 2 мл реакционного раствора (4 мМ молибдата аммония, 28 мМ дигидрофосфата калия, 0.6 М серная кислота) в закрывающихся виалах. Смесь термостатировали при 95 °С в течение 90 мин. Затем измеряли оптическую плотность растворов при 850 нм. Калибровка проводилась с использованием аскорбиновой кислоты в диапазоне концентраций 100–1000 мкг/мл. Общее содержание антиоксидантных веществ в экстракте выражалось в мг эквивалента аскорбиновой кислоты (AAE) на 1 г растительного материала:

$$TAC = \frac{0.03 \cdot k \cdot A_{850} \cdot V_{ext}}{m_{plant}}, \text{ мг ААЕ/г}$$

где k – калибровочный коэффициент, A_{850} – оптическая плотность при 850 нм.

Антирадикальная активность (free radical scavenging, FRS) определялась с помощью реакции со свободным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (DPPH) [19]. 0.05 мл разбавленного в 400 раз 96% этанолом экстракта смешивали с 0.95 мл раствора DPPH в 96% этаноле (4 мг на 100 мл) и термостатировали при 30 °С в течение 30 мин. Затем измеряли оптическую плотность растворов при 505 нм. Калибровка проводилась с использованием аскорбиновой кислоты в диапазоне концентраций 10–100 мкг/мл. Общее содержание антиоксидантных веществ в экстракте выражалось в мг эквивалента аскорбиновой кислоты (ААЕ) на 1 г растительного материала:

$$FRS = \frac{0.4 \cdot (A_{505} - b) \cdot V_{ext}}{a \cdot m_{plant}}, \text{ мг ААЕ/г}$$

где A_{505} – оптическая плотность при длине волны 505 нм, a и b – коэффициенты линейного уравнения градуировочного графика (наклон и сдвиг соответственно).

Обработка результатов измерений. Все измерения проводились в тройной повторности. Статистическая обработка осуществлялась с использованием критерия Краскера-Уоллиса в MS EXCEL 2010, при этом данные разбивались на различные группы по трем показателям – месту сбора, вегетативной фазе и части растения. Данные оптимизации условий экстракции были обработаны с использованием программного обеспечения DesignExpert 7 Trial (Stat-Ease) с помощью ANOVA, проведена аппроксимация экспериментальных данных и найдено оптимальное значение условий экстракции в соответствии с RSM (Response Surface Methodology).

Обсуждение результатов

Полученные в работе результаты приведены в таблице 1.

По содержанию флавоноидов и общей антиоксидантной активности более высокие значения наблюдаются в случае соцветий *K. Weyrichii*, выращенной на культивируемой площадке (образец 1). Различия в параметрах экстрактов, полученных из разных частей растения, были оценены с помощью критерия Краскела-Уоллиса, критерий $p = 0.004$, и различия являются значимыми ($p < 0.05$). Содержание фенольных компонентов и антирадикальная активность оказалась выше у экстрактов листьев растений с той же площадки. Отличия в определяемых характеристиках экстрактов растений, произрастающих в районе г. Апатиты и г. Кировска, показывают достоверную разницу в соответствии с критерием Краскела-Уоллиса ($p=0.03 < 0.05$). В периоды цветения наблюдается рост количества фенольных соединений и, соответственно, антиоксидантной и антирадикальной активности. Известно, что синтез и накопление флавоноидов в растениях определяются условиями окружающей среды. Ряд исследований показывает, что биосинтез флавоноидов усиливается при увеличении уровня освещения [20, 21]. Возможно, с этим связано более высокое содержание флавоноидов в растениях, произрастающих на культивируемой площадке, которая освещалась лучше и не была затенена.

Накопление большего количества флавоноидов в соцветиях можно связать с тем, что эти соединения могут участвовать в защите гаплоидного генома пыльцы от мутагенных эффектов ультрафиолетового света, росте и развитии пыльцевой трубки [22].

Сравнение двух методов экстракции – мацерации и ультразвуковой экстракции – показывает достоверную разницу ($p=0.02 < 0.05$), причем для экстрактов, полученных ультразвуковой экстракцией, наблюдается в целом меньшее содержание фенольных соединений, меньшая антиоксидантная и антирадикальная активность. При этом содержание флавоноидов в экстрактах, полученных при обработке ультразвуком, выше, чем при использовании мацерации в среднем, на 3.3 мг RE/г. Такую разницу можно связать с тем, что в ходе ультразвуковой экстракции с нагреванием могут разрушаться некоторые компоненты, не относящиеся к флавоноидам, но обладающие антиоксидантными и антирадикальными свойствами.

Таблица 1. Образцы, использованные в работе, и данные об общем содержании фенольных компонентов (TPC), флавоноидов (TFC), антиоксидантной (TAC) и антирадикальной активности (FRS) 70% водно-этанольных экстрактов *Koenigia Weyrichii* (М – мацерация, UAE – ультразвуковая экстракция)

№	Часть растения	Место сбора	Период вегетации	TPC, мг GAE/г		TFC, мг RE/г		TAC, мг ААЕ/г		FRS, мг ААЕ/г		
				М	UAE	М	UAE	М	UAE	М	UAE	
1	Соцветия	Культивируемая площадка. г. Апатиты	Цветение	95.4	92.6	84.1	75.2	27.1	24.8	131.0	165.9	
2			Плодоношение	75.0	71.2	36.4	38.2	14.6	12.5	139.7	160.3	
3		г. Апатиты	Цветение	76.9	63.9	62.8	65.0	17.2	21.4	121.5	122.3	
4			Плодоношение	93.0	65.6	28.3	26.7	12.3	12.6	167.5	116.8	
5		г. Кировск	Цветение	77.9	65.4	53.4	60.7	16.7	17.4	108.8	104.1	
6			Плодоношение	86.4	83.9	54.3	56.6	19.2	20.4	181.7	116.8	
7	Листья верхнего яруса	г. Апатиты	До цветения	127.2	87.6	44.8	45.6	22.3	17.0	264.9	183.3	
8			Цветение	115.8	99.5	40.8	40.9	18.8	18.0	219.7	219	
9			Плодоношение	102.1	86.6	42.4	43.7	20.1	19.1	262.5	184.1	
10		Культивируемая площадка. г. Апатиты	До цветения	116.0	93.2	48.5	50.5	18.6	14.8	267.3	148.4	
11			Цветение	125.9	114.6	43.2	45.6	21.2	18.1	252.2	264.9	
12			Плодоношение	127.2	126.5	49.5	47.1	25.0	20.9	274.4	264.9	
13		г. Кировск	До цветения	145.7	89.0	33.0	33.5	14.4	9.6	269.7	169.8	
14			Цветение	97.7	102.9	35.1	39.5	14.6	14.0	253.8	124.7	
15			Плодоношение	118.5	121.7	36.1	45.8	22.8	20.1	262.5	203.9	
16		Листья среднего яруса	Культивируемая площадка. г. Апатиты	До цветения	84.9	73.4	40.1	53.5	19.8	16.8	181.7	145.3
17				Цветение	44.1	89.6	43.7	51.8	16.2	17.8	138.1	112
18				Плодоношение	140.3	104.5	39.3	45.1	20.4	18.2	301.3	190.4
19			г. Апатиты	До цветения	105.3	71.6	51.4	57.6	26.4	19.7	194.4	109.6
20				Цветение	118.7	97.3	44.0	46.6	21.2	20.6	219.0	192
21				Плодоношение	147.2	89.2	36.6	43.5	23.6	21.0	264.1	187.3
22	г. Кировск		До цветения	53.4	108.6	44.5	45.6	16.8	18.0	154.8	169	
23			Цветение	145.5	100.5	47.2	50.8	22.2	18.1	242.7	179.3	
24			Плодоношение	125.3	87.4	35.1	44.0	20.9	14.0	254.6	181.7	
Относительное стандартное отклонение, %				0.70		2.12		2.22		0.77		

Для того чтобы оценить наиболее подходящую концентрацию водно-этанольной смеси и время мацерации, были проведены эксперименты по оптимизации мацерации. Экстракция проводилась из соцветий *K. Weyrichii*, собранных на культивируемой площадке в фазу цветения (образец 1). Растительный материал смешивали с водно-этанольными смесями с содержанием этанола 0–80 об.% и настаивали в течение 1–5 дней при температуре 25 °С. В качестве аналитического отклика, по которому проводилась дальнейшая оптимизация, было выбрано общее содержание флавоноидов.

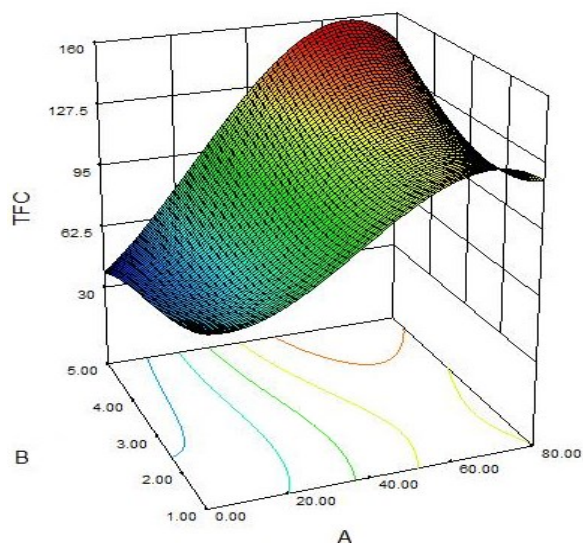
Экспериментальные данные наилучшим образом описываются с помощью уравнения

$$TPC = 118.63 + 58.23A + 18.95B + 11.09AB - 59.14A^2 + 10.56B^2 - 19.16A^2B + 9.65AB^2 - 52.58A^3 - 5.28B^3$$

где А – содержание этанола (об.%), В – время экстракции (в днях) (рис.).

Параметры уравнения приведены в таблице 2. Коэффициент корреляции данного уравнения $R^2=0.9343$, что показывает удовлетворительное описание экспериментальных данных. По результатам ANOVA члены полинома А, A^2 , A^3 являются значимыми (значение «Prob > F» меньше 0.05), AB^2 и B^3 – напротив, незначимы (значение «Prob > F» больше 0.1). Оптимальными условиями экстракции являются содержание этанола 67%, время экстракции – 5 дней.

Для подтверждения расчетов была проведена экстракция при рассчитанных условиях. Общее содержание полифенолов в полученном экстракте составляет 88.3 мг GAE/г, флавоноидов – 209.3 мг RE/г, общая антиоксидантная активность – 48.5 мг ААЕ/г, общая антирадикальная активность – 185.9 мг ААЕ/г. Используя найденные условия экстракции, можно получить высокие выходы флавоноидов *K. Weyrichii* без нагревания смеси и использования более сложных методик.



Результаты моделирования зависимости общего содержания флавоноидов в экстрактах, полученных методом мацерации. Содержание этанола (А) – в об.%, время (В) – в днях, TFC – в мг RE/г

Таблица 2. Результаты расчета ANOVA для экспериментов по оптимизации условий мацерации. А – содержание этанола, об.%, В – время экстракции, дни

	Sum of Squares	df	Mean Square	F-Value	p-value Prob > F
Model	25389.89	9	2821.10	23.71	<0.0001
A	3342.54	1	3342.54	28.09	<0.0001
B	435.15	1	435.15	3.66	0.0751
AB	366.11	1	366.11	3.08	0.0998
A ²	3074.41	1	3074.41	25.84	0.0001
B ²	451.54	1	451.54	3.79	0.0704
A ² B	387.11	1	387.11	3.25	0.0914
AB ²	141.60	1	141.60	1.19	0.2925
A ³	1041.50	1	1041.50	8.75	0.0098
B ³	31.360	1	31.36	0.26	0.6152
Residual	1784.84	15	118.99		
Cor Total	27174.73	24			

Выводы

1. Получены экспериментальные данные о содержании полифенольных веществ и флавоноидов, антиоксидантных и антирадикальных свойств в этанольных экстрактах соцветий и листьев *K. Weyrichii*, собранных на экспериментальных площадках ПАБСИ КНЦ РАН в районе г. Апатиты и г. Кировска. Показано, что в целом наибольшее содержание флавоноидов наблюдается в соцветиях, произрастающих на культивируемых экспериментальных площадках в г. Апатиты.

2. Проведено сравнение методов мацерации и ультразвуковой экстракции. Показано, что в случае мацерации удастся выделить больше полифенольных и антиоксидантных веществ, чем в случае ультразвуковой экстракции.

3. Рассчитаны и подтверждены оптимальные условия мацерации при комнатной температуре, позволяющие получить повышенный выход флавоноидов: содержание этанола 67%, время экстракции – 5 дней.

Результаты сравнения различных способов экстракции полифенольных компонентов и флавоноидов из *K. Weyrichii* позволят в дальнейшем организовывать процессы переработки данного растительного сырья для изготовления биологически активных добавок и функциональных продуктов питания.

Список литературы

1. Cowan M.M. Plant products as antimicrobial agents // Clin. Microbiol. Rev. American Society for Microbiology Journals. 1999. Vol. 12. N4. Pp. 564–582. DOI: 10.1128/cmr.12.4.564.

2. Brunetti C. et al. Flavonoids as Antioxidants and Developmental Regulators: Relative Significance in Plants and Humans // *Int. J. Mol. Sci.* 2013. Vol. 14. N2. Pp. 3540–3555. DOI: 10.3390/ijms14023540.
3. Nimse S.B., Pal D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms // *RSC Adv.* 2015. Vol. 5. N35. Pp. 27986–28006. DOI: 10.1039/C4RA13315C.
4. Кашулин П.А., Калачева Н.В., Жиров В.К. Растительные фенолы, флавоноиды и окружающая среда. Апатиты, 2005. 140 с.
5. Mayol M. et al. A multiscale approach to detect selection in nonmodel tree species: Widespread adaptation despite population decline in *Taxus baccata* L // *Evol. Appl.* 2020. Vol. 13. N1. Pp. 143–160. DOI: 10.1111/eva.12838.
6. Yang L. et al. Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors // *Molecules.* 2018. Vol. 23. N4. P. 762. DOI: 10.3390/molecules23040762.
7. Jaakola L., Hohtola A. Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants // *Plant Cell Environ.* 2010. Vol. 33. Pp. 1239–1247. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2010.02154.x.
8. Korovkina A.V., Zhiron V.K. Environmental factors affecting flavonoid accumulation in plants *Polygonum weyrichii* growing in Murmansk region // *Regul. Mech. Biosyst.* 2019. Vol. 10. N4. Pp. 553–559. DOI: 10.15421/021981.
9. Hassannejad S., Ghafarbi S.P. A Taxonomic Revision of Genus *Polygonum* L. sensu lato (Polygonaceae) for Flora of Iran // *Annu. Res. Rev. Biol.* 2017. Pp. 1–5.
10. Schuster T.M. et al. An updated molecular phylogeny of Polygonoideae (Polygonaceae): Relationships of *Oxygonum*, *Pteroxygonum*, and *Rumex*, and a new circumscription of *Koenigia* // *Taxon.* 2015. Vol. 64. N6. Pp. 1188–1208. DOI: 10.12705/646.5.
11. Alamgir A.N.M. Herbal Drugs: Their Collection, Preservation, and Preparation; Evaluation, Quality Control, and Standardization of Herbal Drugs // *Therapeutic Use of Medicinal Plants and Their Extracts: Vol. 1. Progress in Drug Research.* Cham.: Springer, 2017. Pp. 453–495. DOI: 10.1007/978-3-319-63862-1_10.
12. Chaves J.O. et al. Extraction of Flavonoids From Natural Sources Using Modern Techniques // *Front. Chem.* 2020. Vol. 8. 507887. DOI: 10.3389/fchem.2020.507887.
13. Жиров В.К., Кислых Е.Е. Структурно-функциональные изменения растительности в условиях техногенного загрязнения на Крайнем Севере. М., 2007. 164 с.
14. Waterhouse A.L. Determination of Total Phenolics // *Current Protocols in Food Analytical Chemistry.* Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2003. DOI: 10.1002/0471142913.fai0101s06.
15. Korovkina A.V., Tsvetov N.S., Nikolaev V.G. Flavonoid content and antioxidant activity of extracts of *Polygonum Weyrichii* Fr. Schmidt // *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* 2020. Vol. 421. 052044. DOI: 10.1088/1755-1315/421/5/052044.
16. Ainsworth E.A., Gillespie K.M. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent // *Nat. Protoc.* 2007. Vol. 2. N4. Pp. 875–877. DOI: 10.1038/nprot.2007.102.
17. Беликов В.В., Шрайбер М.С. Методы анализа флавоноидов // *Фармация.* 1970. Т. 19. С. 66–72.
18. Prieto P., Pineda M., Aguilar M. Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E // *Anal. Biochem.* 1999. Vol. 269. N2. Pp. 337–341. DOI: 10.1006/abio.1999.4019.
19. Blois M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical // *Nature.* 1958. Vol. 181. N4617. Pp. 1199–1200. DOI: 10.1038/1811199a0.
20. Cheyner V. et al. Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology // *Plant Physiol. Biochem.* 2013. Vol. 72. Pp. 1–20. DOI: 10.1016/j.plaphy.2013.05.009.
21. Figueiredo-González M. et al. Evolution of flavonoids in Mouratón berries taken from both bunch halves // *Food Chem.* 2013. Vol. 138. N2–3. Pp. 1868–1877. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.11.083.
22. Andersen O.M., Markham K.R. *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry, & Applications.* London: CRC Press Taylor & Francis, 2006. 1256 p. DOI: 10.1002/anie.200685399.

Поступила в редакцию 18 февраля 2021 г.

После переработки 25 апреля 2021 г.

Принята к публикации 10 августа 2021 г.

Для цитирования: Коровкина А.В., Цветов Н.С., Паукшта О.И., Шаварда А.Л., Петрашова Д.А., Жиров В.К. Определение содержания полифенольных компонентов, антиоксидантной и антирадикальной активности этанольных экстрактов растения *Koenigia Weyrichii*, произрастающего на Кольском полуострове // *Химия растительного сырья.* 2021. №3. С. 275–282. DOI: 10.14258/jcprm.2021039226.

Korovkina A.V.¹, Tsvetov N.S.^{2*}, Paukshta O.I.², Shavarda A.L.³, Petrashova D.A.¹, Zhirov V.K.¹ DETERMINATION OF THE CONTENT OF POLYPHENOL COMPONENTS, ANTIOXIDANT AND ANTIRADICAL ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACTS OF THE PLANT *KOENIGIA WEYRICHII* GROWING ON THE KOLA PENINSULA

¹ Federal Research Center "Kola Scientific Center" RAS, ul. Fersmana, 14, Apatity, 184209 (Russia)

² Institute of Chemistry and Technology of Rare Elements and Mineral Raw Materials named after I.V. Tananaeva, Federal Research Center "Kola Scientific Center" RAS, Akademgorodok, 26A, Apatity, 184209 (Russia), e-mail: n.tsvetov@ksc.ru

³ Botanical Institute V.L. Komarov RAS, ul. Professora Popova, 2, St. Petersburg, 197376 (Russia)

Flavonoids are valuable polyphenolic compounds that accumulate in plants and have various biological activities. *Koenigia Weyrichii* (F. Schmidt) T.M. Schust. et Reveal is one of the plants with high flavonoid content in aerial parts. The aim of this work is to compare the total content of polyphenols, flavonoids, the total antioxidant and antiradical activity of ethanol extracts obtained from different parts of the *K. Weyrichii* plant growing in the Arctic zone of Russia, to compare the efficiency of ultrasonic extraction and maceration, and to determine the optimal extraction conditions. The determination of the total content of polyphenolic components was carried out using the Folin-Chocalteu reagent, the total content of flavonoids - using the complexation reaction with aluminum chloride, the total antioxidant activity - using the phosphomolybdate method, and the free radical scavenging - in the reaction with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). An increased yield of flavonoids is observed when maceration is used. According to the data on the total content of flavonoids, the optimal conditions for maceration (time and ratio of the components of the water-ethanol mixture) were determined. *K. Weyrichii* can be considered as a promising source of flavonoids and cultivated in the Arctic for further use.

Keywords: *Koenigia Weyrichii*, flavonoids, antioxidant activity, extraction.

References

1. Cowan M.M. *Clin. Microbiol. Rev. American Society for Microbiology Journals*, 1999, vol. 12, no. 4, pp. 564–582. DOI: 10.1128/cmr.12.4.564.
2. Brunetti C. et al. *Int. J. Mol. Sci.*, 2013, vol. 14, no. 2, pp. 3540–3555. DOI: 10.3390/ijms14023540.
3. Nimse S.B., Pal D. *RSC Adv.*, 2015, vol. 5, no. 35, pp. 27986–28006. DOI: 10.1039/C4RA13315C.
4. Kashulin P.A., Kalacheva N.V., Zhirov V.K. *Rastitel'nyye fenoly, flavonoidy i okruzhayushchaya sreda*. [Plant phenols, flavonoids and the environment]. Apatity, 2005, 140 p. (in Russ.).
5. Mayol M. et al. *Evol. Appl.*, 2020, vol. 13, no. 1, pp. 143–160. DOI: 10.1111/eva.12838.
6. Yang L. et al. *Molecules*, 2018, vol. 23, no. 4, p. 762. DOI: 10.3390/molecules23040762.
7. Jaakola L., Hohtola A. *Plant Cell Environ.*, 2010, vol. 33, pp. 1239–1247. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2010.02154.x.
8. Korovkina A.V., Zhirov V.K. *Regul. Mech. Biosyst.* 2019, vol. 10, N4, pp. 553–559. DOI: 10.15421/021981.
9. Hassannejad S., Ghafarbi S.P. *Annu. Res. Rev. Biol.*, 2017, pp. 1–5.
10. Schuster T.M. et al. *Taxon*, 2015, vol. 64, N6, pp. 1188–1208. DOI: 10.12705/646.5.
11. Alamgir A.N.M. *Therapeutic Use of Medicinal Plants and Their Extracts: Vol. 1. Progress in Drug Research*. Cham.: Springer, 2017, pp. 453–495. DOI: 10.1007/978-3-319-63862-1_10.
12. Chaves J.O. et al. *Front. Chem.*, 2020, vol. 8, 507887. DOI: 10.3389/fchem.2020.507887.
13. Zhirov V.K., Kislykh Ye.Ye. *Strukturno-funktsional'nyye izmeneniya rastitel'nosti v usloviyakh tekhnogenogo zagryazneniya na Kraynem Severe*. [Structural and functional changes in vegetation under conditions of technogenic pollution in the Far North]. Moscow, 2007, 164 p. (in Russ.).
14. Waterhouse A.L. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2003. DOI: 10.1002/0471142913.fai0101s06.
15. Korovkina A.V., Tsvetov N.S., Nikolaev V.G. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, 2020, vol. 421, 052044. DOI: 10.1088/1755-1315/421/5/052044.
16. Ainsworth E.A., Gillespie K.M. *Nat. Protoc.*, 2007, vol. 2, no. 4, pp. 875–877. DOI: 10.1038/nprot.2007.102.
17. Belikov V.V., Shrayber M.S. *Farmatsiya*, 1970, vol. 19, pp. 66–72. (in Russ.).
18. Prieto P., Pineda M., Aguilar M. *Anal. Biochem.*, 1999, vol. 269, no. 2, pp. 337–341. DOI: 10.1006/abio.1999.4019.
19. Blois M.S. *Nature*, 1958, vol. 181, no. 4617, pp. 1199–1200. DOI: 10.1038/1811199a0.
20. Cheyner V. et al. *Plant Physiol. Biochem.*, 2013, vol. 72, pp. 1–20. DOI: 10.1016/j.plaphy.2013.05.009.
21. Figueiredo-González M. et al. *Food Chem.*, 2013, vol. 138, no. 2–3, pp. 1868–1877. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.11.083.
22. Andersen O.M., Markham K.R. *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry, & Applications*. London: CRC Press Taylor & Francis, 2006, 1256 p. DOI: 10.1002/anie.200685399.

Received February 18, 2021

Revised April 25, 2021

Accepted August 10, 2021

For citing: Korovkina A.V., Tsvetov N.S., Paukshta O.I., Shavarda A.L., Petrashova D.A., Zhirov V.K. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2021, no. 3, pp. 275–282. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2021039226.

* Corresponding author.