ФЛАВАНОНУУДЫН АНТИОКСИДАНТ ИДЭВХИЙН СУДАЛГАА

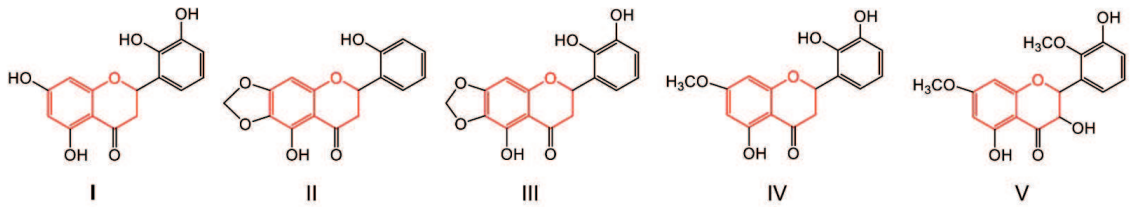
О.Олдох[1], Э.Уянга[2], Б.Дававапурэв[2], Д.Энхмаа[1]

[1]АШУҮИС, Био-АС, Анагаахын химийн тэнхим
[2] МУИС, ХШУИС, Химии, Биологийн инженерчлэлийн тэнхим
enkhmaa.d@mnums.edu.mn

Түлхүүр үг:
Антиоксидант идэвх, флаванон, Iris tenuifolia Pall

Товч утга: Нарийн навчит цахилдаг (Iris tenuifolia Pall) ургамлын газрын доод хэсгийн спиртэн ханд болон түүнээс цэвэр төлөв байдлаар ялгаж авсан флаваноны ангилалд хамаарах 5,7,2’,3’-тетрагидрокси флаванон (I), 5,2’-дигидрокси-6,7-метилендиокси флаванон (II), 5,2’,3’-тригидрокси-6,7-метилен-диокси флаванон (III), 5,2’,3’-тригидрокси-7-метокси флаванон (IV), 3,5,3’-тригидрокси-7,2’-диметокси флаванон (V) гэсэн 5 бодисын антиоксидант идэвхийг DPPH чөлөөт радикал зайлуулах аргаар судалж IC_{50} утгыг 93.05 мкг/мл ба 83.73 – 96.90 мкг/мл хооронд гэж тус тус тогтоолоо. Эдгээрээс I бодис буюу 5,7,2’,3’-тетрагидрокси флаванон нь байгалийн шинэ нэгдэл байв.

Үндэслэл: Байгалийн гаралтай антиоксидантуудын бүлэгт флавоноидууд хамаарах бөгөөд тэдгээр нь хорт хавдрын эсрэг, үрэвслийн эсрэг, микробын эсрэг, антиоксидант зэрэг олон төрлийн фармакологийн идэвхтэй болохыг судлан тогтоожээ[1,2,3,4]. Антиоксидант идэвхийн судалгаанд гидроксил радикал, супероксидын анион, DPPH ба ABTs чөлөөт радикалуудыг зайлуулах зэрэг төрөл бүрийн аргууд хэрэглэдэг. Үүнээс байгалийн гаралтай антиоксидантуудын идэвхийн судалгаанд DPPH чөлөөт радикалыг зайлуулах аргыг өргөн ашигладаг. Чөлөөт радикалын исэлдэлт нь олон төрлийн өвчний гол эх үүсвэр болдог бөгөөд иймд хоргүй, өндөр нөлөөтэй антиоксидант бүрэлдэхүүн бүхий байгалийн гаралтай түүхий эдээс шинэ антиоксидантуудыг судалж тогтоох зайлшгүй шаардлагатай байна[1,5,6]. Иймд бид энэхүү судалгааны ажлаараа Нарийн навчит цахилдаг (I. tenuifolia Pall) ургамлын газрын доод хэсгээс ялгасан флаванонууд болон ургамлын хандны антиоксидант идэвхийг судлан тогтоолоо.



1-р зураг. Нарийн навчит цахилдаг ургамлаас ялгасан флаванонууд

Зорилго: Нарийн навчит цахилдаг (I. tenuifolia Pall) ургамлын газрын доод хэсгээс химийн цэвэр төлөв байдлаар ялгасан флаванонууд болон ургамлын хандны антиоксидант идэвхийг судлах.

Зорилт: Нарийн навчит цахилдаг (I. tenuifolia Pall) ургамлын газрын доод хэсгээс флаванонуудыг химийн цэвэр байдлаар ялгах, ялгасан нэгдлүүд болон ургамлын хандны антиоксидант идэвхийг тодорхойлох.

Судалгааны арга аргачлал

Ургамлын дээж бэлтгэх: Өмнөговь аймгийн Хүрмэн сумын нутаг дэвсгэрээс 2016 онд түүж хуурай болтол хатааж, нунтаглаж бэлтгэсэн ургамлын дээжийг ЭЗШУИС-ийн ургамлын химийн лабораториос авч судалгаанд ашиглав. Ургамлын ангилал зүйн тодорхойлолтыг ШУА-ийн Ерөнхий болон Сорилын Биологийн Хүрээлэнгийн эрдэм шинжилгээний ажилтан доктор М.Ургамал хийсэн.

Судалгааны ажлын хэрэглэгдэхүүн: Антиоксидант идэвхийн судалгаанд 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил буюу DPPH урвалж, уусгагчаар метанол, стандарт бодисоор рутин (кверцетин-3-О-рутинозид)-ыг тус тус ашиглан ACCU READER маркийн спектрофотометрын багажин дээр хэмжилт хийсэн.

Цэвэр бодис ялгах арга зүй: Ургамлын хатааж нунтагласан газрын доод хэсгийг (үндэслэг иш, үндэс) 95%-ийн этилийн спиртээр 3 удаа хандлав. Спиртэн хандыг вакуум ууршуулагчаар өтгөрүүлэхэд өтгөн бор ханд гарсан. Улмаар хандыг нимгэн үеийн хроматографи (НҮХ), баганат хроматографийн (БХ) аргуудаар төрөл бүрийн уусгагчийн системийг ашиглан флаванонуудыг химийн цэвэр төлөв байдлаар ялган авч, тэдгээрийн молекулын бүтцийг HR-ESI-масс спектр, ХЯТ-ны спектр, нэг ба хоёр хэмжээст ЦСР спектрийн үр дүнд үндэслэн бүтцийн тайллыг хийж гүйцэтгэсэн.

Антиоксидант идэвх тодорхойлох арга зүй: Антиоксидант идэвхийн туршилт нь DPPH чөлөөт радикалын устөрөгчийн атом болон электрон өгөх чадвартай (антиоксидант үйлдэлтэй) бодистой урвалд орж өөрөө ангижран формазин буюу DPPH-H (2,2-дифенил-1-пикрилгидразин)-т хувиран улмаар нөгөө бодисоо исэлдүүлдэг шинж чанар дээр үндэслэгддэг. Урвалын дүнд DPPH чөлөөт радикал ангижирснаар түүний гүн ягаан өнгө цайвар шар болж хувирна. Химийн цэвэр төлөв байдлаар ялгасан флаванонууд болон ургамлын ханд бүрээс 200; 100; 50; 25 мкг/мл концентрацтай метанолын уусмал бэлтгэж, дээж бүрээс 1.5 мл-ийг таслан авч $6\cdot10^{-5}$ М DPPH метанол уусмалаас тус бүр 1.5 мл-ийг нэмнэ. Үүнтэй зэрэгцүүлэн флаванонууд болон ургамлын ханд бүрийн дээрх концентрацтай уусмалаас тус бүр 1.5 мл-ийг авч тус бүр 1.5 мл метанол нэмж харьцуулах уусмал бэлтгэнэ. Дээж ба харьцуулах уусмалын гэрлийн шингээлтийг гэрлийн долгионы 517 нм-н утгад спектрофотометрт харьцуулан хэмжинэ. DPPH $6\cdot10^{-5}$ М концентрацтай уусмалын гэрэл шингээлтийг хяналт болгон хэмжсэн. Стандарт бодисоор рутинийг авч 40; 20; 10; 5 мкг/мл концентрацтай метанол уусмал бэлтгэж, улмаар дээрх арга зүйгээр гэрэл шингээлтийг спектрофотометрт хэмжив. Хэмжилтийн үр дүнд тулгуурлан дээж болон рутиний концентрац тус бүрээр доорх томьёог ашиглан АА% утгыг тооцоолно.

$$AA\% = 100 - \left(\frac{\left[\left(Abs_{дээж} - Abs_{харьцуулах}\right)\cdot 100\right]}{Abs_{хяналт}}\right)$$

АА% – антиоксидант идэвхи, %

$Abs_{дээж}$ – дээжний шингээлт

$Abs_{харьцуулах}$ – харьцуулах уусмалын шингээлт

$Abs_{хяналт}$ – DPPH радикалын шингээлт /0.88±1/

Антиоксидант идэвхи (АА%) болон концентрацаас хамаарсан хамаарлын муруй байгуулж регрессийн тэгшитгэлээс IC_{50} (чөлөөт радикалыг 50% зайлуулах концентрац) утгыг тооцоолсон. IC_{50}-ийн утга хэдийчинээ бага байх тусам тухайн дээжийг идэвхтэйд тооцно.

Үр дүн: Нарийн навчит цахилдаг (I. tenuifolia Pall) ургамлын газрын доод хэсгээс ялгасан флаванонууд (I-V) болон ургамлын хандны антиоксидант идэвхийн үр дүнг 1-р хүснэгтээр харуулав.

Хүснэгт 1. I. tenuifolia Pall ургамлын антиоксидант идэвхийн үр дүн

Дээж Концентраци (мкг/мл)	Дарангуйлах идэвхи (%)				IC_{50} (мкг/мл)
	25	50	100	200	
I	24.87	39.96	65.99	94.25	86.14±0.04
II	12.88	34.30	59.89	92.26	96.90±0.01
III	24.65	43.22	55.91	89.18	92.97±0.37
IV	24.32	44.15	65.33	88.51	88.37±0.28
V	25.55	42.02	68.16	94.05	83.73±0.21
Ханд	10.65	34.93	73.32	89.27	93.05±0.05
Рутин	5	10	20	40	
(мкг/мл)	26.02	36.97	49.22	78.44	21.73±0.02

Бидний судалгаанд авсан флаванонууд болон ургамлын хандны дээжүүд чөлөөт радикалыг зайлуулах идэвх үзүүлсэн бөгөөд IC_{50} (чөлөөт радикалыг 50% зайлуулах концентрац) утга 83.73 – 96.90 мкг/мл хооронд байсан. Эдгээрээс антиоксидант идэвх хамгийн өндөртэй нь V бодис (IC_{50} = 83.73 мкг/мл), харин хамгийн багатай нь II бодис (IC_{50} = 96.90 мкг/мл) байна.

Хэлцэмж: Цахилдаг (Iris) -ийн төрлийн ургамлуудын антиоксидант идэвхийн судалгаа нэлээд хийгдсэн байна. Тухайлбал Iris pseudopumila Tineo ургамлын цэцгийн метанол болон хлороформ хандны антиоксидант идэвхийг DPPH чөлөөт радикалыг зайлуулах аргаар судалж IC_{50} утгыг 101,83 мкг/мл гэж тус тус тодорхойлсон бөгөөд антирадикал идэвхтэй гэж үзсэн байна[1]. Iris songarica Schrenk ургамлын үндэс ба үндэслэг ишнээс ялгасан байгалийн шинэ нэгдэл дигидрофлавонол (сонгарикол) болон мэдэгдэж буй 7 флавоноид болох айяменин, ирисфлавон, 5,3'-дигидрокси-7,8,2'-триметоксифлавон, ирилин В, 5,3'-дигидрокси-7,8,2'-триметоксифлавон, иризоид А-ийн антиоксидант идэвхийг DCFH-DA аргаар витамин С-тэй харьцуулан судалж, сонгарикол, ирилин В, иризоид А зэрэг бодисуудын IC_{50} утгыг 21.00 ± 3.0, 9.25 ± 1.7, 3.75 ± 0.2 мкг/мл гэж тус тус тодорхойлсон байна[7]. Харин Iris tenuifolia Pall ургамлаас ялгасан хоёр шинэ нэгдэл болох тенуифодион ба тенуифон, мэдэгдэж буй 12 бодисуудын хамт антиоксидант идэвхийг DPPH чөлөөт радикалыг зайлуулах аргаар судлахад зөвхөн изальпинин, 5,7-дигидрокси-2',6-диметокси изофлавон, тенуифон гэсэн 3 бодис (IC_{50} = 159.153 ± 4.492, 293.939 ± 17.984, 418.727 ± 10.219 мкМ) антиоксидант идэвх үзүүлсэн байна[5]. Эдгээр бодисуудыг химийн бүтцээр нь авч үзвэл изофлавон болон флавонолын ангилалд хамаарч байна.

DPPH чөлөөт радикалын аргаар антиоксидант идэвхийг тодорхойлоход IC_{50} утга 0-200 мкг/мл хооронд байвал дээжийг антиоксидант идэвхтэй байна гэж үзэх ба 0 рүү ойртох тусам идэвх өндөртэйг илэрхийлнэ.

Фенолт нэгдлүүд нь маш сайн устөрөгчийн атомын донор бөгөөд ихэвчлэн үр дүнтэй DPPH радикалыг саатуулагчид болдог[8]. Фенолт нэгдлүүд, ялангуяа флавоноидууд антиоксидант шинж өндөртэй байдаг бөгөөд тэдгээрийн бүтцээс хамаарч радикал зайлуулах

чадвар нь харилцан адилгүй байдаг. Тухайлбал флавоноидын В цагираг дахь орто-дигидроксил бүтэцтэй фрагмент нь антиоксидант идэвхт чухал нөлөө үзүүлдэг[9]. Харин С цагиргийн орто-гидроксил бүлэг антиоксидант болон хавдрын эсрэг идэвхт нөлөөлдөг байна. Үүнээс гадна А цагирагийн 5 болон 7 байрлал дахь гидроксилжилт, А болон В цагиргийн метоксилжилт нь флавоноидуудын биологийн идэвхийг нэмэгдүүлдэг байна[10].

Дээрх судалгааны үр дүнтэй харьцуулахад бидний туршилтанд авсан бодисуудын IC_{50} утга нь 83.73 — 96.90 мкг/мл хооронд илэрсэн нь флаваноны төрлийн бодисууд илүү антиоксидант идэвхи үзүүлснийг харуулж байна. Бидний судалгаагаар V, I, IV, III, II гэсэн дараалаар флаванонуудад антиоксидант идэвхи нь буурсан. Энэ зүй тогтолыг тэдгээрийн химийн бүтэц байгуулалттай нь холбон авч үзвэл орто-гидроксил бүлэг агуулсан I, III, IV ба V бодисууд орто-гидроксил агуулаагүй II бодисоос илүү идэвх үзүүлсэн. Эдгээрийн дундаас В ба С цагирагууд дээрээ орто-гидроксил бүлэг агуулсан V нэгдэл хамгийн өндөр идэвх үзүүлжээ. V бодисыг I ба IV бодистой харьцуулахад С цагирагийн орто-гидроксилжилт болон В цагирагийн метоксилжилт нь түүний биологийн идэвхид онцгой үүрэг гүйцэтгэсэн нь илэрхий байна. С цагирагтаа орто-гидроксил агуулаагүй бодисуудын тухайд: I, III, IV бодисуудыг харьцуулахад I бодис нь илүү идэвхитэй байгаа нь түүний А цагирагийн 5, 7 дигидроксилжилт, харин IV бодисыг III-тай, III бодисыг II-той харьцуулахад идэвх нь тус тус нэмэгдсэн нь тэдгээрийн В цагирагийн орто-дигидроксилжилтоос гадна А цагираг дахь гидроксил бүлгийн тоо чухал нөлөө үзүүлдэг нь тус тус ажиглагдаж байна.

Дүгнэлт: Нарийн навчит цахилдаг (I. tenuifolia Pall) ургамлын газрын доод хэсгийн спиртэн ханд болон химийн цэвэр төлөв байдлаар ялган авсан 5,7,2’,3’-тетрагидрокси флаванон, 5,2’-дигидрокси-6,7-метилендиокси флаванон, 5,2’,3’-тригидрокси-6,7-метилендиокси флаванон, 5,2’,3’-тригидрокси-7-метокси флаванон, 3,5,3’-тригидрокси-7,2’-диметокси флаванонууд бүгд антиоксидант идэвх үзүүллээ. Флаванонуудын антиоксидант идэвх нь А цагирагийн гидроксилжилт, В болон С цагирагийн орто-гидроксилжилт, А болон В цагирагийн метокси бүлгээс тус тус хамаарч байна. Ялгасан химийн цэвэр бодисуудын IC_{50} утга тухайн ургамлын хандтай ойролцоо байгаа нь энэ зүйл ургамлын газрын доод хэсгийн антиоксидант идэвхийг флаванонууд үзүүлж байна гэж үзэж болох юм.

Талархал: Энэхүү судалгааны ажлыг хийж гүйцэтгэхэд нөхцөл бололцоо олгосон АШУҮИС-ийн Анагаахын химийн тэнхим, МУИС-ийн Хэрэглээний шинжлэх ухаан, инженерчлэлийн сургуулийн Хими, Биологийн инженерчлэлийн тэнхимийн хамт олонд талархалаа илэрхийлье.

Ном зүй:

1. *Rigano D, Conforti F, Formisano C, Menichini F, Senatore F. Comparative free radical scavenging potential and cytotoxicity of different extracts from Iris pseudopumila Tineo flowers and rhizomes. Nat Prod Res. 2009;23(1):17-25.*
2. *Singab ANB, Ayoub IM, El-Shazly M, et al. Shedding the light on Iridaceae: Ethnobotany, phytochemistry and biological activity. Ind Crops Prod. 2016;92:308-335.*
3. *Wang H, Cui Y, Zhao C. Flavonoids of the Genus Iris (Iridaceae). Mini-Reviews Med Chem. 2010;10(7):643-661.*
4. *Kukula-Koch W, Sieniawska E, Widelski J, Urjin O, Głowniak P, Skalicka-Woźniak K. Major secondary metabolites of Iris spp. Phytochem Rev. 2015;14(1):51-80.*
5. *Choudhary MI, Hareem S, Siddiqui H, et al. A benzil and isoflavone from Iris tenuifolia. Phytochemistry. 2008;69(9):1880-1885.*
6. *Kojima K, Gombosurengyin P, Ondognyi P, et al. Flavanones from Iris tenuifolia. Phytochemistry. 1997;44(4):711-714.*
7. *Mahmood R. Moein, Shabana I. Khan , Zulfiqar Ali, Syed A. M. Ayatollahi, Farzad Kobarfard, Shama Nasim, Muhammad I. Choudhary, Ikhlas A. Khan. Flavonoids from Iris songarica and their Antioxidant and Estrogenic Activity. Planta Med. 2008;74((12)):1492-1495.*
8. *Yang X, Zhang W, Ying X, Stien D. New flavonoids from Portulaca oleracea L. and their activities. Fitoterapia. 2018;127(January):257-262.*
9. *Grigalius I, Petrikaite V. Relationship between antioxidant and anticancer activity of trihydroxyflavones. Molecules. 2017;22(12).*
10. *Farhadi F, Khameneh B, Iranshahi M, Iranshahy M. Antibacterial activity of flavonoids and their structure-activity relationship: An update review. Phyther Res. 2019;33(1):13-40.*

STUDY OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SOME ISOLATED FLAVANONES

O.Oldokh[1], E.Uyanga[2], B.Davaapurev[2], D.Enkhmaa[1]

[1] School of Biomedicine, MNUMS
[1] School of Engineering and Applied Sciences, NUM
enkhmaa.d@mnums.edu.mn

A new flavanone, 5,7,2’,3’-tetrahydroxy flavanone (I) and four known flavanones, 5,2’-dihydroxy-6,7-methylenedioxy flavanone (II), 5,2’,3’-trihydroxy-6,7-methylenedioxy flavanone (III), 5,2’,3’-trihydroxy-7-methoxy flavanone (IV) and 3,5,3’-trihydroxy-7,2’-dimethoxy flavanone (V) were isolated from the underground part of *Iris tenuifolia* Pall. In addition, the antioxidant activities of compounds I – V and plant extract were determined through DPPH radical scavenging assays. They exhibited potential antioxidant activities, with IC_{50} values of 83.73 96.90 μg/ml and 93.05 μg/ml for compounds I – V and plant extract, respectively.