

АНТИОКСИДАНТНАЯ СПОСОБНОСТЬ ВОДНЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ ЙЕРБА МАТЕ (*Plex paraguariensis*)

© 2021 г. Ю.О. Теселкин, И.В. Бабенкова, Л.А. Павлова, А. Ли, А.А. Кочетова,
А.Н. Осипов, Ю.А. Владимиров

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова МЗ РФ, 117997,
Москва, ул. Островитянова, 1

E-mail: teselkin-box@mail.ru

Поступила в редакцию 13.05.2020 г.

После доработки 17.06.2020 г.

Принята к публикации 18.06.2020 г.

Исследована антиоксидантная способность водных извлечений из йерба мате и некоторых полифенольных компонентов мате — кверцетина, рутина, хлорогеновой и кофеиновой кислот. Водные извлечения из мате дозозависимым образом обесцвечивали катион-радикалы 2,2'-азинобис(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты) и вызывали появление латентного периода хемилюминесценции люминола, индуцированной 2,2'-азобис(2-амидинопропан)дигидрохлоридом. Исследованные вещества в порядке уменьшения антиоксидантной способности, представленной в виде тролокс-эквивалентов, в обеих модельных системах составили следующую последовательность: кверцетин — рутин — хлорогеновая кислота — кофеиновая кислота. Антиоксидантная способность кверцетина была выше, чем у хлорогеновой и кофеиновой кислот. С использованием хемилюминесцентной системы установлено повышение антиоксидантной способности плазмы крови у здоровых добровольцев через один и два часа после однократного употребления чайного напитка, приготовленного из 8 г мате. Полученные результаты показывают, что водные извлечения из йерба мате могут использоваться для создания фитопрепаратов с антиоксидантным действием.

Ключевые слова: йерба мате, *Plex paraguariensis*, полифенольные соединения, хлорогеновая кислота, кофеиновая кислота, антиоксиданты, антиоксидантная способность, плазма крови, хемилюминесценция, тролокс-эквивалент антиоксидантной способности.

DOI: 10.31857/S0006302921010166

Роль оксидативного стресса в патогенезе многих заболеваний человека хорошо известна [1–3]. В связи с этим важной задачей является разработка новых лекарственных препаратов и биологически активных добавок к пище, обладающих антиоксидантными свойствами. Применение в качестве антиоксидантов биологически активных веществ (БАВ) растительного происхождения открывает большие перспективы, поскольку природные антиоксиданты менее токсичны, чем синтетические [4–6].

Одним из растений, обладающих уникальными свойствами, является падуб парагвайский (*Plex paraguariensis*), произрастающий в ряде стран Южной Америки (Бразилии, Аргентине, Парагвае и

Уругвае), листья и стебли которого, обработанные по традиционной технологии для изготовления коммерческого продукта, получили название «йерба мате» [7, 8]. Такое же название имеет соответствующий чайный напиток — йерба мате (мате). Установлено, что водные извлечения из мате (водные экстракты мате) содержат большое количество БАВ. К ним относятся кофеиновая кислота и ее производные (моно- и дикофеоилхиновые кислоты), метилксантины (кофеин, теобромин, теофиллин), флавоноиды (кверцетин, кемпферол, рутин), тритерпеновые сапонины, аминокислоты, минералы (фосфаты, железо, кальций), витамины (С, В₁, В₂) [7–9]. БАВ определяют широкий спектр биологической активности чая мате: стимулирующее действие на центральную нервную систему, положительное влияние на сердечно-сосудистую систему, гипохолестеринемические, гепатопротекторные, диуретические, противовоспалительные, антибактериальные, антидиабетические, антиоксидантные и другие свойства [4, 7, 10]. Полагают, что антиоксидантные свойства водных

Сокращения: БАВ — биологически активные вещества, ТБК-РП — продукты пероксидного окисления липидов, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой, АОС — антиоксидантная способность, АБАП — 2,2'-азобис(2-амидинопропан)дигидрохлорид, АБТС — диаммониевая соль 2,2'-азинобис(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты).

экстрактов мате обусловлены соединениями полифенольной природы [5, 10, 11, 12]. Среди них выделяют прежде всего кофеиновую кислоту, моно- и дикофеоилхинные кислоты, а также рутин, кверцетин, кемпферол [6,13,14].

В экспериментах *in vitro* показано, что водные экстракты мате ингибировали процесс пероксидного окисления липидов [13, 15], обладали антирадикальным действием по отношению к 1,1-дифенил-2-пикрилгидразилу [6, 11, 13], проявляли каталазоподобную [6] и супероксидперехватывающую способность [15], тормозили окисление липопротеинов низкой плотности плазмы крови [16, 17], защищали ДНК *Saccharomyces cerevisiae* от двухпочечных разрывов, индуцированных пероксидом водорода [17].

Антиоксидантные эффекты водных извлечений из мате были также подтверждены в экспериментах на животных. Пероральное введение чая мате мышам приводило к понижению содержания продуктов пероксидного окисления липидов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-РП), в печени и сыворотке крови [18]. У крыс с гиперхолестеринемией употребление чая мате в качестве питья оказывало выраженное гиполипидемическое действие и снижало в сыворотке крови уровень одного из продуктов пероксидного окисления липидов — малонового диальдегида [19]. При моделировании инфаркта миокарда на изолированном сердце крысы водные экстракты мате уменьшали размер зоны некроза и содержание в миокарде ТБК-РП [20]. Внутривенное введение водных извлечений из мате крысам с иммобилизационным стрессом вызывало снижение интенсивности свободнорадикальных реакций в разных структурах мозга по сравнению с контрольными животными [21].

В работах, выполненных с участием здоровых волонтеров, обнаружено, что употребление ими чая мате или водных экстрактов мате сопровождалось увеличением антиоксидантного потенциала плазмы/сыворотки крови и уменьшением показателей оксидативного стресса, характеризующих степень выраженности окислительной модификации биомолекул [22, 23]. Результаты этих и других [24] исследований показывают, что на основе водных экстрактов мате могут быть разработаны новые лекарственные средства для профилактики и лечения заболеваний, протекающих с участием оксидативного стресса.

В то же время следует отметить, что антиоксидантные (в частности, антирадикальные) свойства водных извлечений из мате, а также обнаруженных в их составе полифенольных соединений исследованы в основном с использованием стабильного радикала 1,1-дифенил-2-пикрилгидразила [5, 6, 11–13, 25] и в меньшей степени — с применением других методических подходов [25, 26].

Между тем дальнейшее изучение этих свойств в различных модельных системах позволит сделать более обоснованные предположения о механизмах антиоксидантного действия водных экстрактов мате *in vivo*.

Цель исследования — изучить антиоксидантную способность (АОС) водных извлечений из мате и некоторых индивидуальных полифенольных компонентов мате *in vitro*, а также изменение АОС плазмы крови добровольцев после однократного употребления чая мате.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе применяли реактивы: 2,2'-азобис(2-амидинопропан)дигидрохлорид (АБАП), диаммониевую соль 2,2'-азинобис(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты) (АБТС), кверцетин, кофеиновую кислоту, хлорогеновую кислоту, динатриевую соль ЭДТА, тролокс (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновую кислоту), диметилсульфоксид, неорганические соли (все — производства Sigma-Aldrich, США), люминол (Fluka, Швейцария), рутин (Acros Organics, США).

В качестве объекта исследования использовали мате торговой марки Amanda категории Desplada (La Cachuela S.A., Аргентина). Для приготовления водного извлечения к навеске сырья добавляли бидистиллированную воду (из расчета 1 мг/мл), образец перемешивали и инкубировали в течение 30 мин на кипящей водяной бане. Затем образец выдерживали при комнатной температуре в течение 10 мин, охлаждали в холодной воде, восстанавливали общий объем бидистиллированной водой и фильтровали через бумажный фильтр. Приготовленное водное извлечение из мате хранили при 4°C в течение эксперимента.

Для получения сухого экстракта мате на первом этапе готовили водное извлечение согласно описанной выше процедуре. При этом соотношение количества сырья и воды составляло 1 : 10, т.е. из одной массовой части сырья получали 10 объемных частей водного извлечения. На следующем этапе водное извлечение упаривали до содержания влаги 40% на ротаторном испарителе BUCHI (Германия) при разряжении 70–74 мбар и температуре холодильника 10–12°C. Далее его замораживали при температуре –23...–25°C и высушивали в сублимационной сушилке Heto Dry Winner (Дания) при остаточном давлении 0.07–0.13 мбар и комнатной температуре в течение 22–24 ч. Полученный лиофилизат водного извлечения из мате использовали для дальнейшего исследования.

АОС водного извлечения из мате и сухого экстракта мате, а также антиоксидантов (кверцетина, рутина, хлорогеновой и кофеиновой кислот) изучали с помощью двух модельных систем: 1) по восстановлению ими катион-радикалов АБТС

(АБТС^{•+}), образующихся при ее окислении в присутствии персульфата калия; 2) по торможению окисления люминола, индуцированного АБАП (система «АБАП—люминол»).

Способность БАВ восстанавливать АБТС^{•+} исследовали по методу [27] с небольшими модификациями. Основной раствор АБТС^{•+} готовили путем смешивания растворов АБТС и персульфата калия в фосфатном буфере (136.7 мМ NaCl, 2.7 мМ KCl, 8.1 мМ Na₂HPO₄, 1.5 мМ KH₂PO₄, pH 7.4). Конечные концентрации АБТС и персульфата калия составляли 7 мМ и 2.45 мМ соответственно. Полученную смесь выдерживали в темноте при комнатной температуре в течение 12–16 ч. Рабочий раствор АБТС^{•+} получали разведением основного раствора в пять раз фосфатным буфером. При приготовлении контрольной пробы (общий объем — 1.0 мл, среда — фосфатный буфер) в нее добавляли такое количество рабочего раствора АБТС^{•+}, чтобы после инкубации пробы в темноте в течение 4 мин при 30°C оптическая плотность, измеренная при длине волны 734 нм (D_{734}), находилась в интервале значений 0.700 ± 0.020 . Согласно нашим исследованиям, указанное время инкубации необходимо для стабилизации оптической плотности. В течение следующих 4 мин инкубации при тех же условиях значения D_{734} оставались в пределах обозначенного диапазона. Измерение D_{734} проводили на спектрофотометре Cary 60 (Agilent Technologies, США) против фосфатного буфера в кюветах с длиной оптического пути 1.0 см. При определении АОС БАВ их добавляли в разных концентрациях в опытную пробу через 4 мин после введения в нее АБТС^{•+} (общий объем пробы — также 1.0 мл). Объем добавки составлял не более 50 мкл, для этанолсодержащих образцов — не более 20 мкл. Измерение D_{734} в опытной пробе осуществляли против буферного раствора спустя 4 мин инкубации при описанных выше условиях. Далее оценивали процентное уменьшение D_{734} в опытных пробах по отношению к ее значению в контрольной пробе через 8 мин инкубации. В случае, если растворы БАВ готовили в этиловом спирте, вклад последнего в уменьшение D_{734} определяли, добавляя к раствору АБТС^{•+} соответствующее количество разбавленного буферным раствором этанола. Результаты по ингибирующему эффекту БАВ приведены с учетом этого вклада, который составлял не более 1–2%.

При изучении АОС БАВ с использованием АБТС^{•+} раствор тролокса (1 мМ) готовили на фосфатном буфере. Растворы хлорогеновой и кофейновой кислот (0.04 М), а также кверцетина (0.01 М) готовили в этаноле. Полученные раство-

ры разводили в 50 раз фосфатным буфером. Рутин (0.1 мМ) растворяли непосредственно в буфере, который перемешивали и слегка подогревали на магнитной мешалке. Растворы сухого экстракта мате готовили с использованием фосфатного буфера.

АОС исследуемых объектов определяли также с использованием модифицированного хемилюминесцентного метода на основе системы «АБАП—люминол» [28]. Измерения проводили на 12-канальном хемилюминометре Lum-1200 (ООО «ДиСофт», Россия) с оригинальным программным обеспечением PowerGraph 3.3 Professional (www.powergraph.ru). Реакционная среда имела следующий состав: 10 мкМ люминола и 1 мМ ЭДТА в 50 мМ трис-HCl-буфере, содержащем 0.14 М NaCl, pH 8.0. Исследуемые пробы предварительно инкубировали в измерительной ячейке хемилюминометра в темноте в течение 5 мин для достижения температуры 37°C. Затем индуцировали окисление люминола добавлением АБАП в конечной концентрации 1 мМ. Водные извлечения из мате и антиоксиданты добавляли в реакционную среду после выхода кинетики свечения модельной системы на стационарный уровень (через 10–15 мин с момента инициирования окисления люминола) и регистрировали латентный период хемилюминесценции. Основной раствор тролокса (2 мМ) готовили с использованием 5% (по объему) раствора диметилсульфоксида в 50 мМ трис-HCl-буфере, содержащем 0.14 М NaCl, pH 8.0. Перед определением АОС основной раствор тролокса разводили буферным раствором до концентрации 25 мкМ. Исходные растворы кверцетина, хлорогеновой и кофейновой кислот готовили в этаноле в концентрации 0.01 М. Рабочие растворы антиоксидантов (10 мкМ) получали разведением исходных растворов буфером. При постановке контролей на диметилсульфоксид и этанол появления латентного периода хемилюминесценции не наблюдалось. Растворы рутина (0.1 мМ) и сухого экстракта мате готовили с использованием упомянутого выше буферного раствора.

Влияние чая мате на АОС плазмы крови было исследовано с участием восьми практически здоровых добровольцев мужского пола в возрасте 34–50 лет. За три дня до употребления напитка добровольцам было предложено перейти на диету, обедненную полифенольными соединениями, витамином С и другими природными антиоксидантами: не употреблять чайных напитков, приготовленных на основе растительного сырья, исключить кофе, красное вино, фрукты, фруктовые соки, овощи (кроме бананов и картофеля), цельнозерновые продукты (кроме белого хлеба), а также ограничить потребление бобовых, оливкового масла и сухофруктов [29]. Добровольцы были разделены на две группы по четыре человека

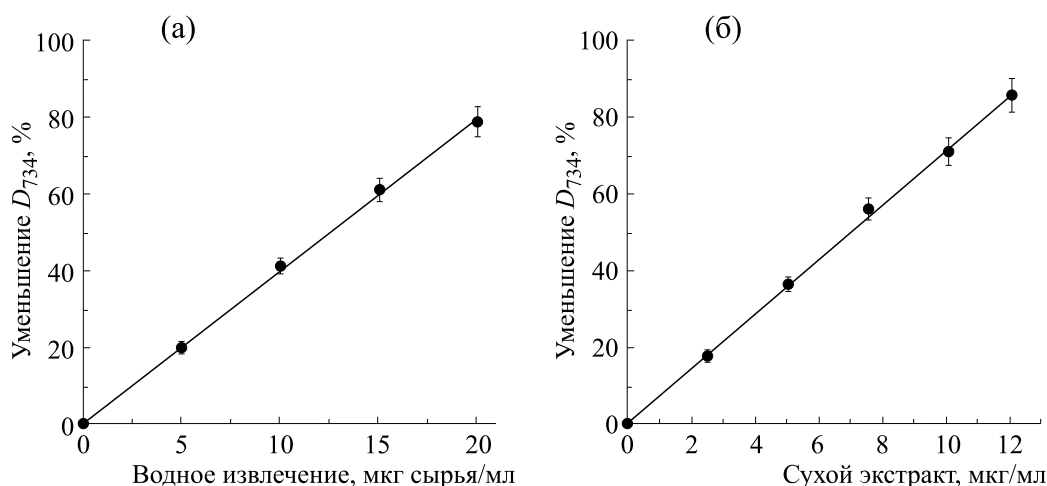


Рис. 1. Восстановление АБТС $\cdot^{+}$ в присутствии водных извлечений из мате. (а) – Водное извлечение. Уравнение прямой: $y = 4.002x + 0.440$, $r^2 = 0.999$. (б) – Сухой экстракт. Уравнение прямой: $y = 7.188x + 0.347$, $r^2 = 0.999$.

в каждой. Первая группа натошак принимала чайный напиток, приготовленный из 4 г мате, вторая – из 8 г мате. Для приготовления чайного напитка соответствующее количество сырья заливали 330 мл кипятка, накрывали крышкой и помещали в водяную баню с температурой 80°C на 30 мин. Затем напиток охлаждали при комнатной температуре в течение 15 мин. Приготовленный напиток испытуемые выпивали в течение 10 мин. Взятие крови (0.4 мл) проводили из пальца до приема чайного напитка, а также через 1 и 2 ч после его употребления. В качестве антикоагулянта применяли ЭДТА из расчета 1.5 мг/мл крови. Плазму крови получали центрифугированием в течение 10 мин при 2000 g и 4°C. Для анализа АОС использовали 10 мкл плазмы крови. Подробное описание методики определения АОС плазмы крови с использованием системы «АБАП–люминол» представлено в работе [28].

Результаты исследований были обработаны с применением стандартных методов вариационной статистики и представлены в форме средней величины и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$), рассчитанных по данным трех и более отдельных экспериментов. Оценку достоверности различий между сравниваемыми показателями проводили с помощью t -критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе исследования была изучена АОС водных извлечений из мате с использованием АБТС $\cdot^{+}$. Указанный радикал в течение длительного времени остается стабильным в водных растворах, в некоторых органических раствори-

телях (например, в этаноле) и хорошо поглощает в длинноволновой области спектра (более 600 нм) [27], в которой не поглощают большинство БАВ. Восстановление АБТС $\cdot^{+}$ антиоксидантами приводит к снижению оптической плотности исследуемого раствора. На рис. 1 видно, что степень восстановления АБТС $\cdot^{+}$, представленная как процентное уменьшение D_{734} , увеличивалась прямо пропорционально количеству добавляемого в модельную систему водного извлечения из мате или сухого экстракта мате. Полученные результаты, по-видимому, обусловлены присутствием в водных извлечениях из мате БАВ полифенольной природы, обладающих антирадикальными свойствами [5, 6, 12, 25]. Нами была исследована в тех же условиях АОС некоторых БАВ: кверцетина, рутина, хлорогеновой и кофейновой кислот, которые обнаружены в водных извлечениях из мате [14]. В качестве стандартного антиоксиданта использовали тролокс. Добавление в модельную систему тролокса и индивидуальных антиоксидантов вызывало дозозависимое восстановление АБТС $\cdot^{+}$ (рис. 2).

АОС БАВ можно определить, используя уравнения линейной регрессии ($y = ax + b$), описывающие зависимость процентного уменьшения D_{734} раствора АБТС $\cdot^{+}$ от концентрации исследуемого вещества и тролокса. Если при концентрации вещества C_B и концентрации тролокса $C_{\text{трол}}$ ингибирующие эффекты равны, а коэффициенты b в этих уравнениях достаточно малы, справедливо следующее уравнение:

$$a_B/a_{\text{трол}} = C_{\text{трол}}/C_B,$$

где a_B и $a_{\text{трол}}$ – коэффициенты a в уравнениях линейной регрессии для вещества и тролокса соот-

ветственно. Это позволяет рассчитать концентрацию тролокса в мМ (тролокс-эквивалент), которая проявляет такую же антирадикальную активность, как изучаемое вещество в концентрации 1 мМ [30], по формуле:

$$АОС \text{ (мМ)} = (a_{\text{в}}/a_{\text{трол}})C_{\text{в}}.$$

В литературе этот показатель антирадикальной активности БАВ, основанный на определении степени обесцвечивания ими АБТС^{•+}, обозначается термином «ТЕАС» (Trolox equivalent antioxidant capacity) [27]. Данный подход хорошо зарекомендовал себя при оценке АОС экстрактов растительного сырья [30]. Полученные значения АОС водного извлечения из мате и сухого экстракта мате, а также индивидуальных антиоксидантов указаны в таблице. Поскольку концентрации БАВ в водном извлечении и сухом экстракте неизвестны, их АОС представляли в миллимолях тролокса на 1 г сухого растительного сырья или на 1 г сухого экстракта соответственно. Среди исследованных БАВ наибольшую способность к восстановлению АБТС^{•+} проявили кверцетин и рутин. Значения АОС у этих флавоноидов практически не различались и были в 3.0–4.5 раза выше, чем у хлорогеновой и кофеиновой кислот ($p < 0.05$). Указанные пары антиоксидантов обладают сходной молекулярной структурой. Рутин — это гликозид кверцетина с замещенной 3-гидроксигруппой (кверцетин-3-*O*-рутинозид), тогда как хлорогеновая кислота (5-кофеилхинная кислота) является сложным эфиром кофеиновой и хинной кислот. Согласно работе [13], существенный вклад в антиоксидантную активность водных экстрактов мате вносит хлорогеновая кислота. Показано, что последняя обладала большей спо-

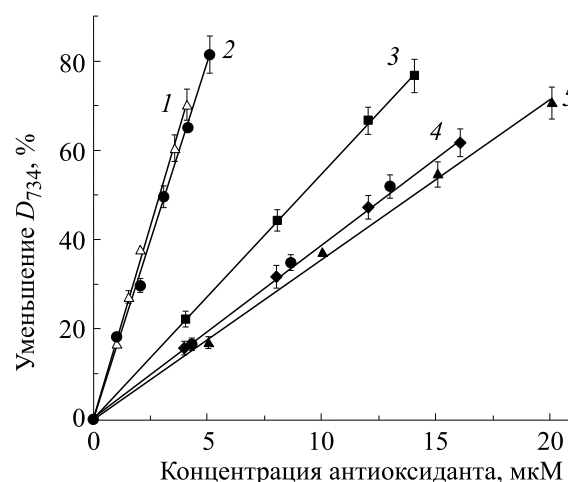


Рис. 2. Восстановление АБТС^{•+} в присутствии антиоксидантов: 1 — кверцетин, уравнение прямой: $y = 17.522x + 0.285$, $r^2 = 0.998$; 2 — рутин, уравнение прямой: $y = 16.275x + 0.031$, $r^2 = 0.997$; 3 — хлорогеновая кислота, уравнение прямой: $y = 5.524x + 0.145$, $r^2 = 0.999$; 4 — кофеиновая кислота, уравнение прямой: $y = 3.898x + 0.273$, $r^2 = 0.999$; 5 — тролокс, уравнение прямой: $y = 3.605x + 0.031$, $r^2 = 0.999$.

собностью к ингибированию пероксидации линолевой кислоты и обесцвечиванию раствора 1,1-дифенил-2-пикрилгидразила по сравнению с кофеиновой кислотой и рутином в концентрациях, соответствующих их концентрациям в водных экстрактах мате.

Введение водного извлечения из мате и сухого экстракта мате в модельную систему «АБАП—люминол» приводило к ингибированию свечения и

Значения АОС БАВ и водных извлечений из мате в тролокс-эквивалентах, полученные с использованием АБТС^{•+} и системы «АБАП—люминол»

Объект исследования	АОС (АБТС ^{•+})	АОС (АБАП—люминол)
Кверцетин	4.86 ± 0.27	4.52 ± 0.20
Рутин	4.52 ± 0.25	4.25 ± 0.22
Хлорогеновая кислота	1.53 ± 0.08	$3.81 \pm 0.15^*$
Кофеиновая кислота	1.08 ± 0.5	$3.61 \pm 0.15^*$
Водное извлечение из мате	1.11 ± 0.07	1.31 ± 0.08
Сухой экстракт мате	1.99 ± 0.09	2.28 ± 0.11

Примечание. Значения АОС БАВ представлены в виде концентраций тролокса (мМ), АОС водного извлечения из мате — в миллимолях тролокса на 1 г сухого растительного сырья, АОС сухого экстракта мате — в миллимолях тролокса на 1 г сухого экстракта; * — $p < 0.05$ по отношению к соответствующему значению АОС (АБТС^{•+}).

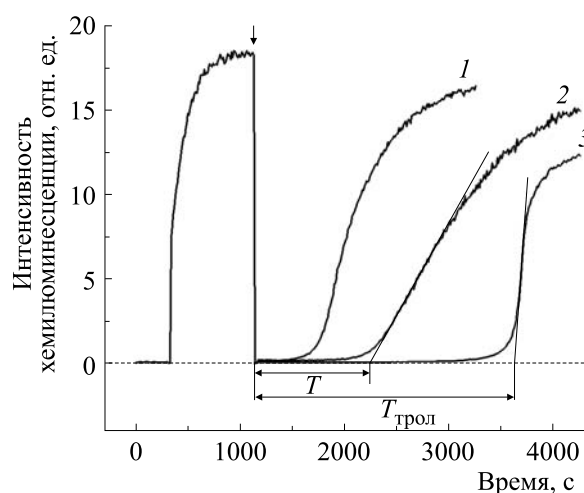


Рис. 3. Влияние тролокса и водных извлечений из мате на хемилюминесценцию системы «АБАП—люминол»: 1 — водное извлечение (0.33 мкг сухого растительного сырья/мл); 2 — сухой экстракт (0.4 мкг/мл); 3 — тролокс (2 мкМ). T и $T_{\text{трoл}}$ — латентные периоды хемилюминесценции в присутствии исследуемого образца и тролокса соответственно. Стрелкой отмечен момент введения образца или тролокса.

возникновению латентного периода (рис. 3). Появление латентного периода хемилюминесценции, вероятно, обусловлено тем, что антиоксиданты, присутствующие в исследуемых образцах, перехватывают образующиеся в системе водорастворимые радикалы-инициаторы окисления люминола, в качестве которых выступают пероксильные радикалы [31]. Добавление в систему «АБАП—люминол» тролокса также индуцировало появление латентного периода. Наблюдаемый латентный период увеличивался прямо пропор-

ционально количеству вводимого водного извлечения из мате или сухого экстракта (рис. 4). Сходные зависимости были получены при изучении АОС БАВ (рис. 5). Для сравнения на рис. 5 показано изменение латентного периода свечения модельной системы в присутствии тролокса.

Значения АОС исследуемых веществ, водного извлечения из мате и сухого экстракта мате в системе «АБАП—люминол» были представлены в виде тролокс-эквивалентов (таблица), рассчитанных с использованием подхода, описанного для системы с АБТС^{•+}. Вычисляли концентрацию тролокса в мМ, которая вызывает латентный период хемилюминесценции той же длительности, что и изучаемое вещество в концентрации 1 мМ. АОС кверцетина и рутина не различалась. Также не различалась АОС хлорогеновой и кофейновой кислот. При этом АОС кверцетина была в 1.2–1.3 раза выше по сравнению с хлорогеновой и кофейновой кислотами ($p < 0.05$).

Представление АОС БАВ в виде тролокс-эквивалентов позволяет провести сравнение данного показателя не только в пределах одной модельной системы, но и в разных системах. Изученные вещества в порядке уменьшения АОС в обеих модельных системах (АБТС^{•+} и АБАП—люминол) образуют следующий ряд: кверцетин, рутин, хлорогеновая кислота, кофейновая кислота. Конечно, неправильно ожидать полного совпадения значений АОС исследованных объектов, полученных с помощью этих двух методов. В настоящее время существующие методы определения АОС БАВ разделяют на две группы: 1) основанные на переносе атома водорода от изучаемого ингибитора на радикал (например, метод TRAP — Total radical-trapping antioxidant parameter); 2) ос-

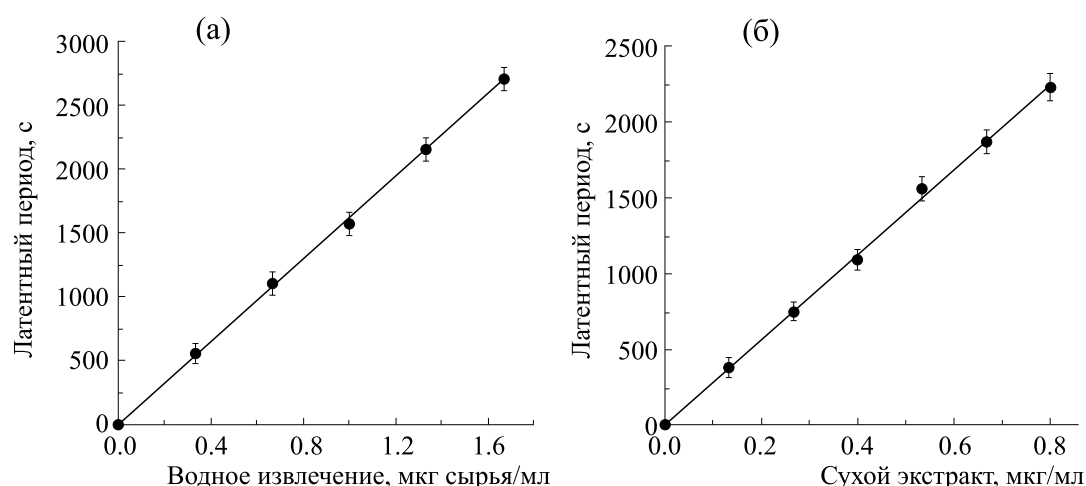


Рис. 4. Изменение латентного периода хемилюминесценции системы «АБАП—люминол» при добавлении в нее водных извлечений из мате. (а) — Водное извлечение. Уравнение прямой: $y = 1612.53x + 8.72$, $r^2 = 0.999$. (б) — Сухой экстракт. Уравнение прямой: $y = 2806.59x + 3.08$, $r^2 = 0.999$.

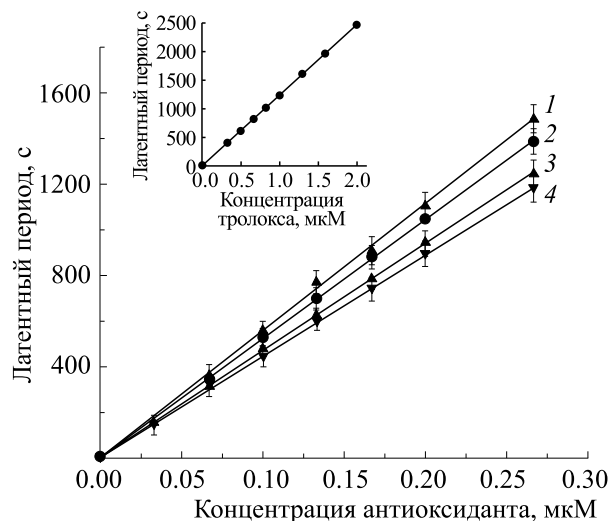


Рис. 5. Влияние антиоксидантов на латентный период хемилюминесценции системы «АБАП–люминол»: 1 – кверцетин, уравнение прямой: $y = 5552.83x + 2.67$, $r^2 = 0.999$; 2 – рутин, уравнение прямой: $y = 5224.75x + 2.15$, $r^2 = 0.999$; 3 – хлорогеновая кислота, уравнение прямой: $y = 4676.75x + 4.70$, $r^2 = 0.999$; 4 – кофеиновая кислота, уравнение прямой: $y = 4428.95x + 2.15$, $r^2 = 0.999$. На врезке – тролокс, уравнение прямой: $y = 1228.55x + 5.62$, $r^2 = 0.999$.

нованные на переносе электрона от антиоксиданта на радикал (например, метод FRAP – Ferric reducing antioxidant power). Иногда эти два механизма не могут быть четко дифференцированы. Последнее относится к методу определения антирадикальной активности веществ с использованием АБТС^{•+}, в котором, по мнению некоторых авторов, задействован смешанный механизм [32, 33]. Тем не менее в обеих модельных системах

АОС флавоноидов, водного извлечения из мате и сухого экстракта мате имела близкие значения, в то время как значения АОС хлорогеновой и кофеиновой кислот в системе «АБАП–люминол» были соответственно в 2.5 и 3.3 раза больше ($p < 0.05$), чем в системе с АБТС^{•+}. АОС сухого экстракта мате в системе с АБТС^{•+} и в системе «АБАП–люминол» была в 1.7–1.8 раза выше по

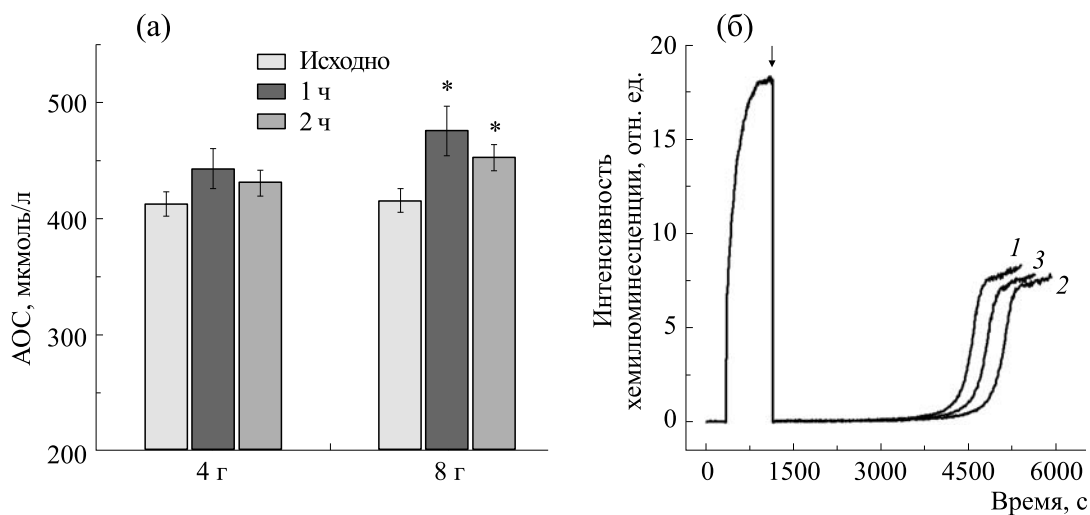


Рис. 6. Влияние однократного употребления чая мате на антиоксидантный потенциал плазмы крови добровольцев. (а) – Изменение АОС плазмы крови через один и два часа после употребления напитка, приготовленного из 4 г ($n = 4$) и 8 г ($n = 4$) мате; * – $p < 0.05$ по отношению к исходному значению. (б) – Изменение кинетики хемилюминесценции системы «АБАП–люминол» при добавлении в нее плазмы крови добровольца, употребившего чай мате (8 г): 1 – исходная кинетика; 2 и 3 – через один и два часа после употребления чая мате. Стрелкой отмечен момент введения плазмы крови.

сравнению со значениями АОС водного извлечения ($p < 0.05$).

Обнаруженная нами и другими авторами [5, 6, 11–13] антирадикальная активность водных извлечений из мате позволяет предположить, что содержащиеся в них вещества будут проявлять эти свойства при поступлении в организм человека. Нами было изучено изменение АОС плазмы крови у здоровых добровольцев после однократного употребления напитка, приготовленного из 4 и 8 г мате (рис. 6а). В первом случае (4 г) через 1 ч наблюдалась тенденция к повышению этого показателя по отношению к исходному значению – прирост АОС составил 7.4%. Во втором случае (8 г) через 1 ч АОС плазмы крови увеличилась на 14.5% ($p < 0.05$), через 2 ч увеличение составило 8.9% ($p < 0.05$). На рис. 6б показаны кинетики хемилюминесценции системы «АБАП–люминол» в присутствии плазмы крови добровольца до и после однократного употребления чая, приготовленного из 8 г мате. Видно, что добавление в модельную систему плазмы крови, полученной через 1 и 2 ч после употребления напитка, привело к увеличению латентного периода хемилюминесценции. Наблюдаемый во второй группе эффект, вероятно, обусловлен повышением в плазме крови добровольцев содержания полифенольных антиоксидантов, при этом основная роль, по-видимому, принадлежит кофеиновой кислоте и ее метаболитам. В экспериментах на крысах показано [34], что кофеиновая кислота была основным соединением, обнаруживаемым в плазме крови в течение первых двух часов после внутрижелудочного введения животным чая мате. Это может быть связано не только с прямой абсорбцией кофеиновой кислоты в желудке, но и с ее образованием в результате ферментативного расщепления в желудке моно- и дикофеоилхинных кислот. В работе [29] определяли концентрацию полифенольных соединений и их метаболитов в плазме крови здоровых людей после однократного употребления чая мате (4.91 г мате на порцию чая). Среди наиболее ранних метаболитов обнаружены сульфатные конъюгаты кофеиновой и феруловой кислот, максимальная концентрация которых наблюдалась через 1–2 ч после употребления напитка. Следует отметить, что по данным того же исследования на долю моно- и дикофеоилхинных кислот приходится более 80% от всех полифенольных соединений, обнаруженных в водных извлечениях из мате. Полученные нами результаты находятся также в хорошем соответствии с работами [16, 22], авторы которых наблюдали усиление торможения Cu^{2+} -индуцированного процесса пероксидного окисления ли-

пидов липопротеинов низкой плотности в цельной плазме крови добровольцев через 1 ч после приема чая мате.

Следует отметить, что в исследованиях, посвященных изучению влияния чая мате на АОС плазмы/сыворотки крови человека, увеличение этого показателя было зарегистрировано только при длительном употреблении чая [22, 24], тогда как после однократного употребления напитка достоверных изменений АОС установлено не было [22, 35]. В работе [22] показано, что после 7-дневного употребления здоровыми женщинами чая мате происходило повышение АОС плазмы крови (определяли методом ТЕАС), уменьшение содержания в плазме крови ТБК-РП, увеличение экспрессии генов антиоксидантных ферментов – глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы и каталазы. Увеличение АОС сыворотки крови (определяли методом FRAP), а также уровня восстановленного глутатиона в крови выявлено у лиц с дислипотеинемией, употреблявших чай мате в течение 90 дней [24]. При этом для приготовления одной порции чая брали близкое к используемому нами количество мате – 5.0–6.6 г. В отличие от перечисленных выше исследований мы обнаружили увеличение АОС плазмы крови добровольцев после однократного употребления чая мате. Возможно, это связано с тем, что определение АОС плазмы крови проводилось другим методом – регистрацией хемилюминесценции люминола, индуцированной АБАП.

В настоящее время применение сухих экстрактов мате в качестве биологически активной добавки к пище рассматривается в качестве альтернативы употреблению чайного напитка [23, 36]. Такая биологически активная добавка, содержащая комплекс природных полифенольных соединений, может быть полезной для профилактики заболеваний сердечно-сосудистой системы [24, 37]. Кроме того, использование сухих экстрактов мате имеет ряд преимуществ перед чайным напитком. К ним относится возможность хранения, а также дозированного применения выделенных БАВ. В работе [23] было исследовано влияние длительного приема здоровыми добровольцами капсул, содержащих сухой экстракт мате, полученный с помощью распылительной сушилки. Прием капсул добровольцами (2.25 г в день в течение 60 дней), с одной стороны, сопровождался увеличением биомаркеров антиоксидантной защиты – АОС сыворотки крови (определяли методом FRAP), уровня восстановленного глутатиона крови, активности некоторых антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутаза, каталаза, па-

раоксоназы-1), с другой стороны, уменьшением биомаркеров оксидативного стресса — содержания в плазме крови липидных гидропероксидов и ТБК-РП. Важно отметить, что при приеме капсул с экстрактом мате основные клинико-инструментальные (ЭКГ, артериальное давление крови) и лабораторные показатели у испытуемых оставались в пределах нормы в течение всего периода наблюдения.

Таким образом, водные извлечения из мате, а также некоторые соединения полифенольной природы, содержащиеся в составе этих извлечений, проявляли *in vitro* антирадикальные свойства в отношении АБТС^{•+} и водорастворимых пероксильных радикалов. Методом кинетической хемилюминесценции с применением системы «АБАП—люминол» установлено повышение АОС плазмы крови добровольцев после однократного употребления чая мате. Полученные результаты показывают, что на основе водных извлечений из йерба мате могут быть изготовлены эффективные фитопрепараты для профилактики и лечения заболеваний, ассоциированных с оксидативным стрессом.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствовали этическим стандартам Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям. От всех участников предварительно было получено информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. L. Zuo, E. R. Prather, M. Stetskiy, et al., *Int. J. Mol. Sci.* **20** (18), 4472 (2019).
2. A. Singh, R. Kukreti, L. Saso, and S. Kukreti, *Molecules* **24** (8), 1583 (2019).
3. I. Uchmanowicz, *Adv. Exp. Med. Biol.* **1216**, 65 (2020).
4. A. Chandrasekara and F. Shahidi, *J. Tradit. Complement. Med.* **8** (4), 451 (2018).
5. S. Dudonné, X. Vitrac, P. Coutière, et al., *J. Agric. Food Chem.* **57** (5), 1768 (2009).
6. K. A. Berté, M. R. Beux, P. K. Spada, et al., *J. Agric. Food Chem.* **59** (10), 523 (2011).
7. C. I. Heck and E. G. de Mejia, *J. Food Sci.* **72** (9), R138 (2007).
8. N. Bracesco, A. G. Sanchez, V. Contreras, et al., *J. Ethnopharmacol.* **136** (3), 378 (2011).
9. A. T. Valduga, I. L. Gonçalves, E. Magri, and J. R. Delalibera Finzer, *Food Res. Int.* **120**, 478 (2019).
10. R. Y. Gan, D. Zhang, M. Wang, and H. Corke, *Nutrients* **10** (11), 1682 (2018).
11. D. H. Bastos, L. A. Saldanha, R. R. Catharino, et al., *Molecules* **12** (3), 423 (2007).
12. M. Bixby, L. Spieler, T. Menini, and A. Gugliucci, *Life Sci.* **77** (3), 345 (2005).
13. C. Anesini, S. Turner, L. Cogoi, and R. Filip, *LWT — Food Science and Technology* **45**, 299 (2012).
14. M. Bojić, V. Simon Haas, D. Sarić, and Z. Maleš, *J. Anal. Methods Chem.* **2013**, 658596 (2013).
15. G. R. Schinella, G. Troiani, V. Dávila, et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **269** (2), 357 (2000).
16. A. Gugliucci, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **224** (2), 338 (1996).
17. N. Bracesco, M. Dell, and A. Rocha, *J. Altern. Complement. Med.* **9** (3), 379 (2003).
18. F. Martins, A. J. Suzan, S. M. Cerutti, et al., *Br. J. Nutr.* **101** (4), 527 (2009).
19. L. Bravo, R. Mateos, B. Sarriá, et al., *Fitoterapia* **92**, 219 (2014).
20. L. F. González Arbeláez, J. C. Fantinelli, A. Ciocci Pardo, et al., *Food Funct.* **7** (2), 816 (2016).
21. A. C. Colpo, M. E. de Lima, M. Maya-López, et al., *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* **42** (11), 1172 (2017).
22. R. L. Matsumoto, D. H. Bastos, S. Mendonça, et al., *J. Agric. Food Chem.* **57** (5), 1775 (2009).
23. A. M. Becker, H. P. Cunha, A. C. Lindenberg, et al., *Plant Foods Hum. Nutr.* **74** (4), 495 (2019).
24. B. C. Boaventura, P. F. Di Pietro, A. Stefanuto, et al., *Nutrition* **28** (6), 657 (2012).
25. W. Y. Huang, P. C. Lee, J. C. Hsu, et al., *Sci. World J.* **2014**, 768742 (2014).
26. R. G. Peres, F. G. Tonin, M. F. Tavares, and D. B. Rodriguez-Amaya, *Molecules* **18** (4), 3859 (2013).
27. R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, et al., *Free Radic. Biol. Med.* **26** (9-10), 1231 (1999).
28. Yu. O. Teselkin, I. V. Babenkova, and A. N. Osipov, *Biophysics* **64** (5), 708 (2019).
29. M. Gómez-Juaristi, S. Martínez-López, B. Sarria, et al., *Food Chem.* **240**, 1028 (2018).
30. N. Erkan, G. Ayranci, and E. Ayranci, *Food Chem.* **110** (1), 76 (2008).
31. L. M. Magalhaes, M. A. Segundo, S. Reis, and J. L. Lima, *Anal. Chim. Acta* **613** (1), 1 (2008).
32. R. Apak, M. Özyürek, K. Güçlü, and E. Çapanoğlu, *J. Agric. Food Chem.* **64** (5), 997 (2016).
33. R. Apak, M. Özyürek, K. Güçlü, and E. Çapanoğlu, *J. Agric. Food Chem.* **64** (5), 1028 (2016).
34. D. M. de Oliveira, C. B. Pinto, G. R. Sampaio, et al., *J. Agric. Food Chem.* **61** (25), 6113 (2013).
35. B. C. B. Boaventura, E. L. da Silva, R. H. Liu, et al., *LWT — Food Sci. Technol.* **62**, 948 (2015).
36. S. Y. Kim, M. R. Oh, M. G. Kim, et al., *BMC Complement. Altern. Med.* **15**, 338 (2015).
37. S. Yu, S. W. Yue, Z. Liu, et al., *Exp. Gerontol.* **62**, 14 (2015).

Antioxidant Capacity of Aqueous Extracts from Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*)

**Yu.O. Teselkin, I.V. Babenkova, L.A. Pavlova, A. Lee, A.A. Kochetova,
A.N. Osipov, and Yu.A. Vladimirov**

Pirogov Russian National Research Medical University, ul. Ostrovityanova 1, Moscow, 117997 Russia

The antioxidant capacity of aqueous extracts from yerba mate and some polyphenolic components of mate (quercetin, rutin, chlorogenic and caffeic acids) was studied. Aqueous extracts from the mate in a dose-dependent manner had discolored 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonic acid) radical cations and had caused the appearance of the latent period of luminol chemiluminescence induced by 2,2'-azobis(2-amidinopropane)dihydrochloride. The studied substances, in the order of decreasing of antioxidant capacity, the which was presented as trolox equivalent, in both model systems made up the following sequence: quercetin, rutin, chlorogenic acid, caffeic acid. Quercetin had better antioxidant capacity than chlorogenic and caffeic acids. Using a chemiluminescence-based assay, it was found that the antioxidant capacity of blood plasma in healthy volunteers increased one and two hours after one intake of tea beverage made from 8 g mate. The results show that aqueous extracts from yerba mate can be used to create herbal drugs with antioxidant effects.

Keywords: yerba mate, Ilex paraguariensis, polyphenolic compounds, chlorogenic acid, caffeic acid, antioxidants, antioxidant capacity, blood serum, chemiluminescence, TEAC