

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ
АЗЕРБАЙДЖАНСКОЙ РЕСПУБЛИКИ
БАКИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

На правах рукописи

САМИРА РАМЗИ ГЫЗЫ ЧЫРАГОВА

**ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ТУШЕНИЯ
СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ
И АНТИОКИСЛИТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ
НАТУРАЛЬНЫМИ ПРОДУКТАМИ**

Специальность: 2406.01– Биофизика

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
доктора философии по биологии**

БАКУ-2018

Работа выполнена на кафедре Биофизики и молекулярной биологии Бакинского Государственного Университета.

- Научный руководитель:** доктор биологических наук,
профессор Х.Д. Абдуллаев
- Официальные оппоненты:** доктор физико-математических наук, профессор Э.А. Масимов
доктор биологических наук,
профессор Т.М. Гусейнов
- Ведущая организация:** Институт Радиационных проблем Национальной Академии Наук Азербайджана

Защита диссертации состоится " _____ " _____ 2018 года в " _____ " часов на заседании Диссертационного Совета FD 02.194 при Бакинском Государственном Университете по адресу AZ 1148, Баку, ул.З. Халилова 23.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке Бакинского Государственного Университета

Автореферат разослан " _____ " _____ 2018 года.

**Ученый секретарь
Диссертационного
Совета F02.194, д.б.н., доцент**

С.Г.Гюльяхмедов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Лекарственные растения [Yadav et al, 2015], различные специи [Kim et al, 2011], пища растительного происхождения [Willix et al, 1992], и продукты их переработки человеком [Schrammetal, 2003], а также натуральные продукты (в частности, мед и медопродукты) [Bogdanov et al, 2008] являются важными источниками новых химических субстанций с потенциальным терапевтическим эффектом. Еще в средневековой литературе существовали целые разделы, посвященные натуральным источникам сырья для медицинских целей [Kahrizietal, 2012]. На территории современного Ирака медицинские исследования соотносятся с тумерским периодом (3000-1970 до нашей эры) [Nadheerah et al, 2012] и затем с Вавилонским и Ассирийским периодом (1970-539г. нашей эры). Далее арабские медики внесли свой вклад в период правления Аббасидов (500-1038 гг.). Сегодня фармакологическая наука достаточно полно представляет себе биохимический состав ботанических источников, что очень важно, так как только эксперты могут знать активные ингредиенты, содержащиеся в том или ином растительном объекте, те части, которые могут быть использованы, когда должен осуществляться сбор, а также условия хранения растительного материала. С другой стороны, природные преобразователи растительного сырья в меде и в медопродуктах – пчелы – создают материалы, которые также богаты биоактивными компонентами, присущими растениям, а также усиливают материалы своего производства за счет собственного метаболизма.

В последнее время резко возрос интерес к антиокислительным и антирадикальным свойствам и потенциальной антиокислительной мощности растительной пищи и продуктов их природной и технологической переработки. Эти свойства растений и их продуктов играют важную роль в поддержании здоровья, в качестве фактора защиты от негативных воздействий. Эти качества включены во многие технологические процессы получения биологически активных добавок, а также как добавки в процессе приготовления пищи с целью увеличения времени ее сохранности и повышения качества [Blasaetal, 2007]. В растительном материале (лекарственные растения, овощи и фрукты) эти свойства соотносят с присутствием фенольных соединений, в основном флавоноидов. Принимается тот факт, что антиокислительная активность флавоноидов заключается в комбинации железохелатирующих свойств и в захвате свободных радикалов [Bertoncel et al, 2007],

а фенольные кислоты выступают как антиоксиданты, используя механизмы тушения свободных радикалов [Asmaa et al, 2009]. Безусловно, существенную роль в защите от свободно-радикальных окислений играют ферментные системы (митоксигеназы, циклоксигеназы, миелопероксидазы и ксантинооксидазы), которые убирают *in vivo* образующиеся активные формы кислорода (АФК) и гидропероксидазы [Baltrusaityte et al, 2007]. Как растительные объекты, так и продукты пчеловодства, богаты этими биоактивными компонентами [Meda et al, 2005]. Окислительный стресс (ОС) в биологической системе может быть понижен путем использования веществ антиоксидантной природы различного происхождения. Антиоксиданты (АО) способны эффективно предотвращать дегенеративные заболевания, такие как сердечно - сосудистые, неврологические, опухолевые, а также дисфункции, вызванные окислительным стрессом.

Пища и продукты растительного происхождения и их производные (дошаб, бекмез и др.) не только обеспечивают биологические системы антиоксидантными витаминами (витамин С, витамин Е или провитамин А), но также и комплексом других натуральных соединений с антиоксидантной природой. Как уже указывалось, окислительный стресс сопровождается образованием свободно-радикальных состояний различных промежуточных продуктов и кислородных радикалов АФК.

Цель и задачи работы. Целью данной работы является определение антиоксидантных и антирадикальных свойств некоторых лекарственных растений, пряностей, используемых в национальной кулинарии и разновидностей медов из различных регионов страны, выявление специфичности мёда по отношению к различным патогенным микроорганизмам. Для достижения поставленной цели были решены следующие конкретные задачи:

1. Выявить антиокислительные и антирадикальные свойства ряда пищевых растительных продуктов - пряностей, лекарственных растений и разновидностей медов из различных географических регионов страны.
2. Выявить связь между антиоксидантным и антирадикальным и биохимическим составом метаболических и запасующих соединений исследуемых объектов.
3. Установить связь между антиоксидантным и антирадикальным свойствами медов и растениями медоносами.
4. Выявить бактерицидные свойства медов из различных регионов страны.

Научная новизна работы

Получены результаты, доказывающие антиоксидантные и антирадикальные активности ряда лекарственных растений, различных пряностей, используемых в национальной кулинарии. Согласно заключениям установлено, что среди исследуемых лекарственных растений - экстракты верблюжьей колючки и экстракт корня солодки, экстракты пряностей - гвоздики и тычинок шафрана обладают наивысшей антиоксидантной активностью.

Впервые исследованы меда из различных регионов Азербайджанской Республики на предмет их антирадикальной и антибактериальной активностей. Выявлена высокая АР активность горных сортов меда.

Установлено, что меда обладают географической специфичностью по отношению к патогенным микроорганизмам. Как правило, меда из горных и лесных регионов по своим бактерицидным свойствам отличаются от медов равнинных регионов большей способностью подавлять рост патогенных бактерий. Более того, меда из высокогорных районов при пятикратном разведении (20%-й водный раствор мёда) обладают высокой бактерицидной активностью, преобладающей даже активностью антибиотика широкого спектра действия (Ceftazidime).

Выявлены минимальные ингибирующие концентрации (МИК) медов с высокой активностью - балакенский (каштановый), закатальский (горный), кедабекский и дашкесанский.

Практическая значимость. Полученные результаты имеют важное практическое значение. Исследованные растения и продукты могут быть использованы в качестве источника для получения биологически активных соединений, обладающих высокими антиоксидантными и антирадикальными свойствами. Была доказана высокая антиоксидантная и антирадикальная активность пряностей, используемых в национальной кулинарии. Их использование представляет альтернативу синтетическим антиоксидантам, которые потенциально опасны для здоровья человека.

Полагаем, что выявление и знание уровня антиоксидантной и антибактериальной активностей мёда различных регионов страны позволит и будет способствовать объективной сертификации продуктов питания, и в частности мёда, на предмет их пищевой, профилактической и лечебной целесообразности, и, в целом, экологической безопасности.

Апробация работы. Результаты исследований доложены и об-

суждены на Республиканской Научной Конференции «Научные достижения в биологии», посвященной 90-летию БГУ (Баку, 2009), Республиканской Научной Конференции «Актуальные проблемы биологии в XXI веке», посвященной 100 летнему юбилею академика А. Караева, Международной научной конференции «Инновационные проблемы Современной биологии», посвященной 110 летнему юбилею профессора М. Ахундова (Баку, 2012), II, III Международной научной конференции «Экология: проблемы природы и общества», посвященной 105 летнему юбилею академика Г. Алиева (Баку, 2012, 2017), III Международной научной конференции «Инновационные Проблемы Современной биологии», посвященной 90 летнему юбилею академика З.А.Алиевой (Баку, 2013), Международной научной конференции «Пути развития биотехнологии в Туркменистане» (Туркменистан, Ашхабад, 2013), X, XI, XII, XIII Международном симпозиуме ««Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования» (Россия, Пушино, 2013, 2015, Ялта 2016, Сочи 2018), Международной научной конференции молодых исследователей (Баку, 2014, 2016, 2017), Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы современной биологии и химии» (Гянджа, 2014), IV международной научной конференции «Инновационные проблемы Современной биологии», посвященной 91-летию национального лидера Гейдара Алиева (Баку, 2014), XI международной научно-методической конференции «Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия культурных растений» (Россия, Махачкала, 2014), IX Международной конференции «Биоантиоксидант» (Россия, Москва, 2015), Европейском Биотехнологическом конгрессе в Риге (Латвия, Рига, 2016), XI международной научно-технической конференции «Актуальные вопросы биологической физики и химии БФФХ-2016» (Украина, Севастополь, 2016, 2018), "Интродукция растений: достижения и перспективы" (Узбекистан, Ташкент 2018).

Публикации: По материалам диссертации опубликовано 26 работ: 5 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, 8 статей и 13 тезисов докладов в сборниках Международных и Республиканских научных конференций.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 140 страницах, состоит из введения, 4 глав и основных выводов, списка использованной научной литературы, включающего 264 наименований. Результаты исследований проиллюстрированы в 16 таблицах и 46 рисунках.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Обоснованность доказательств АО и AP активностей ряда лекарственных растений, пряностей, широко используемых в национальной кулинарии.
2. Обладание медами АО и AP свойств связано с метаболитами и запасующими соединениями пищевых источников пчел.
3. Возможность дискриминации действия компонентов экстрактов и медов по отношению к короткоживущему гидроксильному и стабильному органическому радикалам.
4. Мед различных регионов страны обладает бактерицидными свойствами, зависящими от растений медоносов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Литературный обзор. Представлен обзор литературы, включающий анализ литературных данных по проблемам окислительного стресса и прочих вопросов, связанных с темой диссертационной работы. Обоснована актуальность выбранного направления научных исследований, сформулированы цель и научные задачи исследований, их новизна, практические результаты, выделены основные положения, выносимые на защиту.

Объекты и методы исследования. В соответствии с целью и задачами работы, объектами исследования служат экстракты лекарственных растений: из соцветий верблюжьей колючки обыкновенной (*Alhagi Pseudalhagi L.*), листьев, плодов и корней солодки (*Glycyrrhiza glabra L.*), корня одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale Webb*) и тысячелистника мелкоцветкового (*Achillea micrantha Willd*), которые были собраны из различных районов Азербайджана [Дамиров И.А. 1998]; широко, используемые в национальной кулинарии пряности: гвоздика ((*михек*)) (*Syzygium aromaticum L.*), тмин ((гарачерекоту) (*Nigella sativa L.*)), зира (*Cuminum cyminum L.*) и шафран ((*зафаран*)) (*Crocus sativus L.*); образцы меда, полученные непосредственно от производителей из 7 регионов Азербайджана: (лесной), (горный), (каштановый мёд), Закаталы (горный), Закатала (низменный), Исмаиллы, Самух, Кедабек, Дашкесан, Ленкорань. В работе впервые в Республике был использован метод тушения стандартных стабильных радикалов ((2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (C₁₈H₁₂N₅O₆, M = 394,33)) на основании спектральных измерений (DPPH) [Brand-Williams W., et al, 1995] и метод хемилюминесценции [Chapple L., et al, 1997] с участием пероксида водорода с пероксидазой из корней хрена. Обработка

кривых при определении антирадикальных свойств осуществлялась с помощью программных средств Microcal Origin. Значения параметров выражены через значения параметров в сравнении с IC₅₀ для тролокса-((6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота-аналог токоферола (витамин E) – в настоящее время принят за стандарт для оценки АО активности и его активность условно принимается за единицу, а АО активность исследуемого вещества выражается в эквивалентных молях тролокса на массу образца (мкмоль/мг) [Georgetti S.R., et al, 2003], широко используемого в пищевой и фармакологической промышленности. Раствор тролокса готовили растворением навески в метаноле, который сохранял свою активность длительное время [Алексеев А.В., и др., 2013]. Обработка кривых при определении антиокислительных свойств проводили стандартными методами с применением программ «Excel 7.0».

Для определения кислотности меда был использован метод рН-метрии [Заикина В.И., 2012], а при вычислении диастазного числа - метод Готе [Заикина В.И., 2012]. Цветность меда определяли, разбавляя образцы меда дисциллированной водой, с последующим определением спектрофотометрически. Класс цветности был определен с использованием шкалы Пфунда [PontisJ., et al, 2014].

При проведении работы на изучение антибактериальных свойств меда в качестве тест-культуры были использованы культуры следующих патогенных бактерий: *Escherichia coli* [KhalilA., et al, 2013], *Pseudomonas aureginosa* [Сидоренко С.В., и др. 1999], *Staphylococcus aureus* [Baltrusaityte V., et al, 2007], хранившихся в коллекции культур кафедры Микробиологии Бакинского Государственного Университета. Бактерицидные свойства меда определяли микробиологическим методом лунок [Logano-Chiu M, et al, 1999]. Для определения чувствительности бактерий к антибиотику мы воспользовались методом дисков [Mayrhofer S., et al, 2008].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Представлены результаты исследования АО и AP свойств природных композиций лекарственных растений и традиционных пряностей, а также некоторых разновидностей медов Азербайджана методами DPPH и хемилюминесценции. Были исследованы физико-химические свойства и стандартные характеристики этих медов, а также исследованы антимикробные свойства меда, определена минимальная

ингибирующая концентрация (МИК) меда по отношению к бактериям и проведены сравнения бактерицидных свойств меда с действием антибиотика.

Как известно, активные формы кислорода (АФК) могут вызывать окисление различных компонентов клетки, нарушая нормально протекающие метаболические реакции и вызывающие ряд заболеваний, ассоциирующихся с наличием свободных радикалов. Существуют специальные ферментативные системы в клетках, предотвращающие токсическую деятельность АФК. Вместе с тем важное место занимают соединения, получаемые извне и обладающие АО и АР способностью [Wu. F., et al, 2005]. В этой связи возникает необходимость поиска и исследования новых природных источников веществ, обладающих АР и АО активностями.

Исследование антиоксидантных антирадикальных свойств лекарственных растений. В работе приведены результаты наших исследований по изучению АР свойств водно-спиртовых экстрактов из соцветий верблюжьей колючки, из корней, плодов и листьев солодки голой, корней одуванчика и тысячелистника (рис.1 и 2).

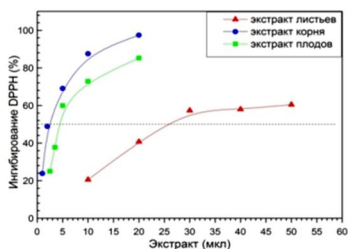


Рис.1 Блокирующая свободные радикалы эффективность экстрактов из различных частей растений солодки голой

Примечание: пунктирная линия на Графиках соответствует IC_{50} тролокс= 6nmol

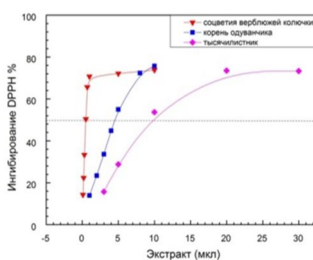


Рис.2 Блокирующая свободные радикалы эффективность метанольных экстрактов из ряда растений.

Как следует из рисунка 1 эффективным тушителем радикала DPPH является экстракт корня солодки. Следует обратить внимание на тот факт, что наблюдаемая АР активность надземных частей (плодов) растения в 2 раза уступает корням.

Из рисунка 2 видно, что наиболее высокой АР активностью обладает экстракт из соцветий верблюжьей колючки.

Активность тушения стабильного радикала DPPH, проявляемая экстрактом из соцветий верблюжьей колючки (рис.2) сравнима с экстрактом из корней солодки голой.

Таким образом, мы приходим к выводу о том, что такие растения, как верблюжья колючка и плоды солодки голой могут быть использованы в качестве исходного материала для получения биологически активных соединений, обладающих высокими АР свойствами.

Исследование антиоксидантных и антирадикальных свойств традиционных пряностей. В представленном разделе приведены оригинальные данные об АО и АР свойствах ряда пряностей, широко используемых в Азербайджанской кухне. С этой целью были исследованы водно-спиртовые настойки гвоздики (*Syzigium aromaticum*), тмина (*Nigella sativa*), зиры (*Cuminum cymin*), приготовленные на спирту и на воде. Из рисунка 3 видно, что самой высокой антирадикальной активностью обладает экстракт из гвоздики. Сравнительный анализ эффективности экстрактов гвоздики, тмина и зиры позволяет сделать вывод о достаточно высоких АО и АР активностях исследуемых пряностей, как по результатам хемилюминесцентной реакции, так и на основании тушения стабильного радикала DPPH (рис.3 и рис.4).

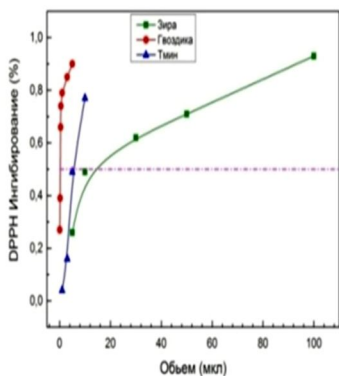


Рис.3 Эффективность тушения свободных радикалов водно-спиртовым экстрактом различных пряностей.

Пунктирная линия – IC_{50} для тролокса.

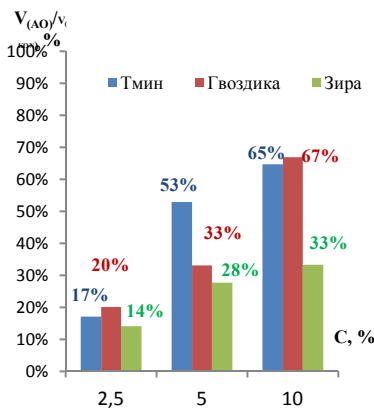


Рис.4 Влияние водно-спиртовых экстрактов пряностей на начальную скорость пероксидазной реакции

Антиоксидантная активность водно-спиртовых экстрактов, тычинок шафрана (*Crocus sativus*) на основании тушения гидроксильных радикалов в хемилюминесцентной модели многократно превышает активность лепестков (рис.5).

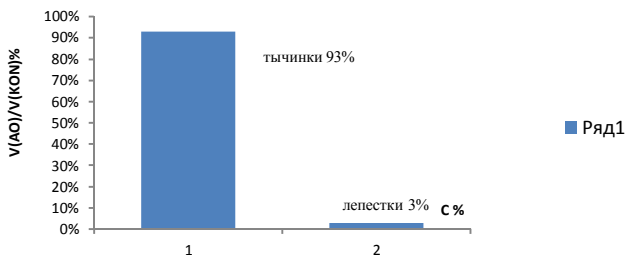


Рис.5 Изменение начальной скорости хемилюминесцентной реакции ($E+S+H_2O_2+AO$) под влиянием 2,5% концентрации водно-спиртового экстракта из тычинок и лепестков шафрана

Исследование антиоксидантных и антирадикальных свойств меда. Исследованы образцы мёдов из различных регионов страны. На рисунке 6 приведены данные, указывающие на концентрацию веществ-тушителей радикала в составе меда, способных тушить на 50% стабильный DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил) радикал.

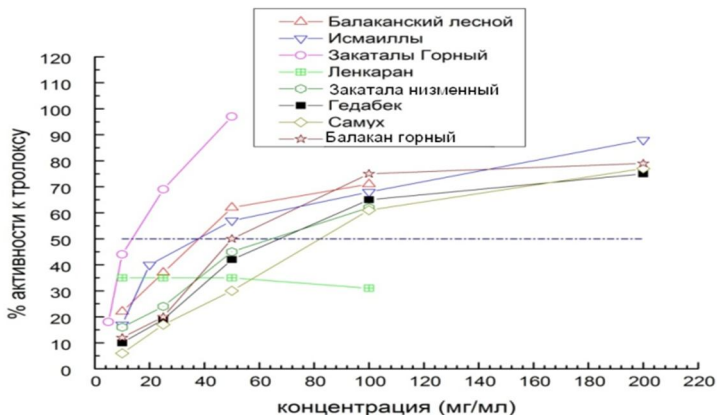


Рис.6 График, характеризующий степень тушения стабильного радикала образцами меда по отношению к стандартному антирадикальному соединению- производному витамина Е - тролоксу. Пунктирная линия – IC_{50} для тролокса.

Как следует из наших исследований, образцы мёдов, производимых в различных регионах нашей страны, обладают высокой способностью тушения свободных радикалов DPPH в следующей последовательности по убыванию: **Закатала (горный) > Белокан (лесной) > Исмаиллы > Белокан (горный) > Закатала (низменный) > Гедабек > Самух > Ленкорань**. Установлено, что мёда высокогорного происхождения и мономед (каштановый) имеют повышенную антирадикальную активность. Можно полагать, что более высокогорные сорта мёда, имеющие более повышенную активность нейтрализации свободных радикалов, вероятно, содержат больше компонентов способных осуществлять AP активность. Следует отметить, что высокогорная растительность наиболее богата растениями – мёдоносими. Однако многие из этих мёдоносов отсутствуют в низменных южных районах Азербайджана, таких как Ленкорань и Самух [Кулиев А.М., 2014].

Исследование антимикробных свойств мёдов.

Исследование бактерицидных свойств мёдов показало, что наибольшей антибактериальной активностью обладают мёда, производимые в горных районах различных регионов страны. Среди горных районов наибольшую антибактериальную активность проявили мёда собранные в Кедабекском (светлый) и Балакенском – каштановый (тёмный), горный (светлый), Закатальском районах. Выявлена специфичность мёда по отношению к различным патогенным микроорганизмам. Наибольшая антибактериальная активность исследуемых мёдов была показана по отношению к *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*. Бактерии *Escherichia coli* отличались достаточно высокой устойчивостью.

Определены минимальные ингибирующие бактерии концентрации (МИК <10%) ряда мёдов (балакенский горный и каштановый, дашкесанский, закатальский и кедабекский). На основании сравнения антибактериального действия этих образцов мёда с антибиотиком широкого спектра действия (Ceftazidime), установлено, что даже 20%-ный водный раствор мёда проявляет идентичную, и в ряде случаев превалирующую по сравнению с действием антибиотика антибактериальную активность (см. табл.4).

Таблица 4

Сравнительная бактерицидная характеристика мёда из горных регионов с антибиотиком широкого спектра действия.

Виды микроорганизмов	Вид мёда (20%)			Антибиотик (цефтазидим)
	Закатальский	Кедабекский	Дашкесанский	
	диаметр зоны ингибирования в миллиметрах			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	*28±0.76	36.7±1.85	29±1.89	53±0.45
<i>Staphylococcus aureus</i>	26±0.76**	23±1.15	39.7±1.45	42±0.26
<i>Escherichia coli</i>	20.76±0.88	23±1.32	28.7±0.28	23±0.33

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Характер проявления антиокислительной и антирадикальной активности измеряют посредством DPPH- метода и метода хемилюминесценции. Необходимо учитывать, что используемые нами методы хемилюминесценции и DPPH, позволяют нам разграничить биофизический механизм действия веществ, заключенных в растительных экстрактах, в специях и в составе мёдов. Как хорошо известно, например, экстракт зеленого чая содержит до 30-40% водорастворимых полифенолов, а в черном их содержание после ферментации до 10%. Большинство флавоноидов, которые обладают Р-витаминной активностью и рядом других свойств, также водорастворимы. Полифенолы в большинстве, особенно класс флавоноидов жирорастворимые соединения. К жирорастворимым соединениям, обладающие антиоксидантными и антирадикальными свойствами относятся каротиноиды и аллиловые сульфиды, содержащиеся, например, в луке и чесноке. Классическим примером флавоноидов в растительной и животной клетке являются убихиноны, играющие важную роль в энергетическом метаболизме в хлоропластах и митохондриях. Таким образом, полифенолы, к которым согласно имеющимся антиокислительным исследованиям [238] отводится роль экзогенных антиокислителей и тушителей радикальных состояний, являются соединениями, ряд из которых водорастворимы, а другая группа полифенолов хорошо растворимы в жирорастворителях. Это свойство полифенолов предопределяет их партнерские предпочтения со свободными радикалами, которые, также характеризуются своим отношением к воде. Так метод, основанный на определении свободных радикалов хемилюминесцентной реакции с

участием перекиси водорода и пероксидазы, как правило протекает с образованием гидроксильных радикалов- классических реактивных форм кислорода (РФК).

Современные представления об гидроксильных радикалах указывают на то, что скорость их образования в водной среде (достижение максимума) составляет 100 нс. Вместе с тем время жизни таких радикалов в присутствии H_2O_2 , как показано на основе измерений в плазме Ag, инициированной ультрафиолетовым фотолизом, составляет 2,7 мсек [Pankaj Attri et al, 2015]. Считаю необходимым отметить, что в цитируемой работе приведены времена жизни для всех гидроксильных радикалов. Так время жизни O_2^- 1,31 мсек, NO^- 1,12 мсек, H_2O_2 - 1,41 мсек. Принимая во внимание столь короткое время жизни гидроксильных радикалов и особенно OH^- (следует отметить, что он имеет, как мы уже указывали наибольшее время жизни 2,7 мсек), скорость соударений антирадикалов с гидроксирадикалами должна осуществляться в соизмеримом временном интервале и скорость столкновения должна быть за весьма короткое время. Действительно хемиллюминесцентная реакция протекает за соизмеримое, с выше указанными скоростями, время. Установка, используемая в работе позволяет измерить скорость нарастания хемиллюминесценции за 2,5 сек и как правило время ферментативной реакции (пираголлол+пероксидаза + H_2O_2) не превышает 240 секунд. Таким образом, в хемиллюминесцентной модели мы получаем информацию о наличии в исследуемой системе (экстракты растений, специй, меда и других смешанных растворах), наличия антиокислителей и тушителей свободных радикалов, способных к быстрому взаимодействию с гидроксильным радикалом. Более того, эти соединения должны пространственно соответствовать гидроксильным радикалам для быстрого донирования электрона на гидроксильный радикал. В случае если хемиллюминесцентная модель подвергается испытываемой композицией веществ, резкому подавлению хемиллюминесценции, это говорит о том, что в испытываемом веществе присутствуют водорастворимые полифенолы. Так, наблюдаемое нами сильное падение хемиллюминесценции при окислении реакционной смеси (пираголлол-перекись водорода- пероксидаза) при действии, например, специй (гвоздика) свидетельствует о том, что в экстрактах содержатся преимущественно окислители и тушители свободных гидроксильных радикалов- такие как водорастворимые флавоноиды, катехины, флавоны, флавонолы или гидрофильные фенолы, такие подсемейства, как феноловые кислоты, флавоноиды и пигменты, облада-

ющие также антиокислительными свойствами, тушащими свободные радикалы способностями, или такие как ресвератрол, обнаруженный в винограде. С другой стороны, в реакции тушения антиоксидантами стабильного органического 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил радикала время взаимодействия тушителя с радикалом исчисляется по меньшей мере более 30 минутами. Более того, как следует из структуры радикала DPPH- это липофильное соединение, которое представляет собой стабильный N радикал. Реакция DPPH с антирадикальными антиоксидантами происходит по последовательно-параллельному механизму, поэтому передача электрона молекулой антиоксиданта молекуле DPPH преобладает в растворителях, имеющих высокое сродство к протону [Хасанов В.В и др. 2004]. Это присуще большинству фенольных соединений, имеющих липофильный характер с которыми эта реакция коррелирует. Это в то же время указывает на преобладающую роль последних в суммарной антирадикальной активности исследуемых нами растительных водно-метанольных экстрактов и медов. Таким образом использование двух методов хемилюминесценции и DPPH позволил нам на основе механизма взаимодействия радикал-антирадикал сделать заключение о присутствии в исследуемых нами образцах гидрофильных соединений, обладающих антирадикальной активностью по отношению к корокоживущим гидроксильным радикалам и липофильных фенольных соединений активных по отношению к липофильному стабильному радикалу.

ВЫВОДЫ

1. С целью выявления способности тушить свободные радикалы, антиокислительных и бактерицидных свойств проведены систематические исследования натуральных композиций веществ растительной природы (лекарственные растения, пищевые растения, технические культуры и др.), а также биопродукта растительного происхождения - меда из различных регионов страны. На основе способности тушения гидроксильных радикалов (метод хемилюминесценции), стабильного радикала (DPPH метод) и микробиологических методов установлены степень, специфичность и совокупность соединений, осуществляющих эти функции.
2. Показано, что среди исследованных лекарственных растений высокой способностью тушения стабильного радикала DPPH обладают водно-спиртовые экстракты соцветий верблюжьей колючки и солодки голой по сравнению с экстрактами из корней одуванчи-

ка и тысячелистника. Установлено, что экстракты различных тканей солодки обладают различной степенью тушения свободно-радикальных состояний с существенным преобладанием этого свойства у корней солодки.

3. Выявлены антиокислительные и антирадикальные свойства экстрактов пряностей, широко используемых в национальной кухне. Установлено, что соединениями, обладающими этими свойствами наиболее богаты тычинки шафрана, цветочные бутоны гвоздичного дерева и семена тмина. Лепестки шафрана и семена зиры в меньшей степени проявляют эти свойства.
4. Меда высокогорий и лесных зон республики в сравнении с продуктами равнинных районов юга характеризуются как высокой антиокислительной радикалы тушащей активностью, так и высокими, даже в сравнении с антибиотиком широкого спектра действия Ceftazidim, бактерицидными свойствами. Высокая антирадикальная активность сопутствует высоким бактерицидным свойствам меда, однако, возможные механизмы реализации этих свойств могут отличаться.
5. Анализ сравнения антиокислительной и антирадикальной активности экстрактов лекарственных растений и пищевых продуктов, с содержанием в них фенольных соединений, показал наличие достоверной корреляции между этими показателями. Вместе с тем, корреляционный анализ бактерицидных свойств меда с фенольными соединениями, наблюдаемыми в растениях медоносах, позволяет сделать заключение об иных соединениях и принципиально иных механизмах, обеспечивающих антибактериальную активность, вероятно, связанную с образуемым пероксидом водорода.
6. Основываясь на природе и механизме действия короткоживущих гидроксильных и стабильных органических свободных радикалов, используемых в исследованиях, впервые сделан вывод о том, что в суммарных смесях веществ различного происхождения, в том числе натуральной природы, содержащих антиоксиданты, тушители свободных радикалов - гидрофильные фенолы, флавоноиды и водорастворимые витамины - тушат гидроксильные радикалы, а липофильные фенольные молекулы и жирорастворимые витамины играют решающую роль в тушении стабильных органических соединений.

Материалы диссертации опубликованы в следующих работах:

1. Чырагова С.Р., Абдуллаев Х.Д. Исследование антиоксидантных и антирадикальных свойств ряда веществ методом хемилюминесценции / «Научные достижения в биологии». Материалы Республиканской Научной Конференции, Баку, 2009, с. 55-56 (на азербайджанском языке).
2. Чырагова С.Р., Гусейнли И., Абдуллаев Х.Д. Экстракт крушины как источник антиоксидантов / «Актуальные проблемы биологии в XXI веке», Материалы Республиканской Научной Конференции, Баку, 2010, с.388-389 (на азербайджанском языке).
3. Чырагова С.Р., Хабибова Р.А. Исследование антиоксидантных и антирадикальных свойств растительных экстрактов методом хемилюминесценции / «Инновационные проблемы современной биологии», Материалы Международной научной конференции, Баку, 2012, стр. 16-17 (на азербайджанском языке).
4. Чырагова С.Р., Исследование антиоксидантных и антирадикальных свойств растительных экстрактов / «Экология: проблемы природы и общества», Материалы II Международной научной конференции, Баку, 2012, с.330-331 (на азербайджанском языке).
5. Чырагова С.Р., Халилов Н.Г., Антиокислительная активность некоторых веществ растительного происхождения / «Инновационные проблемы современной биологии», Материалы Международной научной конференции, Баку 2013, стр. 86-88.
6. Абдуллаев Х.Д., Чырагова С.Р., Алекберли С. А. Биологическая активность некоторых веществ растительного происхождения / «Пути развития биотехнологии в Туркменистане». Материалы международной научной конференции, Ашхабад 2013, стр. 328-329.
7. Чырагова С.Р., Халилов Н.Г., Гасанова Д.А., Абдуллаев Х.Д. Исследование антиокислительной и антирадикальной активности ряда композиций веществ растительного происхождения / «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования». Материалы X международного симпозиума, Пушкино 2013, стр.155-158.
8. Абдуллаев Х.Д., Чырагова С.Р., Агаларов Р.И., Сафаров Н.С., Гасанов Р.А. *Glycyrrhiza glabra l.* - отАбуАли ибн Сина до современных технологий / Journal of Qafqaz university- chemistry and biology, Баку 2013. V 1, N 2, p. 175-178
9. Алекберли С.А., Чырагова С.Р., Исследование антиоксидантных свойств растительных веществ / II Международная научная конференция молодых исследователей, Баку, 2014, с. 158-159 (на

азербайджанском языке).

10. Чырагова С.Р., Алекберли С.А., Магзанова Д.К., Абдуллаев Х.Д., Исследование антиоксидантных и антирадикальных свойств растительных экстрактов / Научная конференция по актуальным проблемам современной биологии и химии. Часть I Гянджа 2014, Гянджа, стр. 137-140 (на азербайджанском языке).
11. Алекберли С.А., Чырагова С.Р., Астафьева О.В. Исследование антиоксидантных свойств растительных экстрактов / «Инновационные проблемы современной биологии» Материалы Международной научной конференции Баку, с. 11-13 (на азербайджанском языке).
12. Чырагова С.Р., Зейналова Н.М., Астафьева О.В., Абдуллаев Х.Д. Исследование антирадикальных свойств водно- спиртовых экстрактов ряда лекарственных растений / Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия культурных растений, Материалы XI международной научно- методической конференции, Махачгала 2014 , стр.184-186
13. Абдуллаев Х.Д., Агаларов Р.И., Чырагова С.Р., Алекберли С.А. Анализ антиоксидантных и антирадикальных свойств образцов меда из различных регионов страны / «Перспективы развития экспериментальной биологии», посвященной 80-летию БГУ», Материалы Республиканской научной конференции, Баку, 2014, с4-5 (на азербайджанском языке).
14. Чырагова С.Р. Исследование антирадикальной активности меда из различных районов Азербайджана / Journal of qafqaz university-chemistry and biology. Baku 2015. Volume 3, Number 21, on p. 76-80
15. Чырагова С.Р. Сравнительный анализ антиокислительной и антирадикальной активности меда из различных районов Азербайджана / Биоантиоксидант. Тезисы докладов IX Международной конференции. Москва 2015, стр. 200.
16. Чырагова С.Р., Абдуллаев Х.Д., Агаларов Р.И. Исследование антирадикальной активности меда из различных регионов Азербайджана / «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования». Материалы XI международного симпозиума, Том I, Пущино стр. 166-169.
17. Абдуллаев Х.Д., Чырагова С.Р., Агаларов Р.И. Антирадикальная активность меда различных регионов Азербайджана / BQU xəbərləri. Təbiət elmləri seriyası, №3, 2015, Bakı, səh. 39-46
18. Чырагова С.Р., Абдуллаева Ф.Г., Ганбаров Х.Г., Абдуллаев Х.Д. Исследование антирадикальной активности (АР) и антимикробных

- (АМ) свойств меда различных регионов Азербайджана / Актуальные вопросы биологической физики и химии БФФХ-2016. Материалы XI международной научно-технической конференции. Том 2. Севастополь, стр. 57-60.
19. Чырагова С.Р., Абдуллаева Ф.Г., Абдуллаев Х.Д. Связь антимикробных (АМ) свойств меда с растениями –медоносами Азербайджана / Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования Материалы XII международной конференции Ялта 2016 стр. 509-511
 20. Chyragova S., Agalarov R., Abdullayev Kh., Ganbarov Kh., Gasanov R. Antioxidant (AO) and free radical quenching (FRQ) activities of traditional medicine substances, honey and vinery products of Azerbaijan Republic //Journal of Biotechnology, Volume 231, Page S61.
 21. Абдуллаева Ф.Г., Чырагова С.Р. Антимикробные и некоторые биохимические свойства мёда, производимого в различных гео-ботанических регионах Азербайджана / IV International Scientific Conference of Young Researchers, Университет Кавказ 2016, стр. 279-280.
 22. Chyragova C.R., Abdullayev F.G., Ganbarov Kh. G. Agalarov R.I., Abdullayev Kh. D. Antibacterial activity of honey from different regions of Azerbaijan against pathogenic bacteria //Journal of Gafqaz university- chemistry and biology. 2016. V 4, No 1, p.22-26.
 23. Чырагова С.Р., Султанлы З.Е. Абдуллаев Х.Д. Исследование антиокислительных свойств некоторых специй / «Экология: проблемы природы и общества», Материалы III Международной научной конференции Баку, 2017, с. 248-249.
 24. Чырагова С.Р. Исследование антиоксидантных и антирадикальных свойств различных специй / Материалы XXI Республиканской научной конференции аспирантов и молодых исследователей, Баку 2017, с.64-66
 25. Абдуллаев Х.Д., Чырагова С.Р. Агаларов Р.И. Антиоксидантные и антирадикальные свойства ряда пряностей из национальной кухни Азербайджана / Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования Материалы XIII международной конференции, Сочи 2016, стр. 158-163
 26. Чырагова С.Р., Абдуллаев Х.Д., Агаларов Р.И. Исследование антиоксидантной и антирадикальной активности ряда пряностей из национальной кухни Азербайджана / "Интродукция растений: достижения и перспективы". Материалы VII Республиканской научно-практической конференции, Ташкент 2018, стр.248-252

S.R.ÇIRAQOVA
BİOMƏNŞƏLİ BİRLƏŞMƏLƏRİN SƏRBƏST RADİKAL
SÖNDÜRÜCÜ VƏ ANTIOKSİDLƏŞDİRİCİ
MEXANİZMLƏRİNİN TƏDQIQI

XÜLASƏ

Bitki mənşəli təbii birləşmələrin və Respublikamızın müxtəlif regionlarından toplanmış bal nümunələrinin antioksidləşdirici, antiradikal və antibakterial xüsusiyyətləri tədqiq edilmişdir. Stabil radikalın (DPPH) metodu, hidrosil radikalın söndürülməsi (xemilüminüsenssiya metodu) və mikrobioloji üsulla istifadə etdiyimiz nümunələrdə antioksidləşdirici, antiradikal və antibakterial xüsusiyyətlərin spesifikliyi və dərəcəsi müqayisəli formada müəyyən edilmişdir.

Aydın olmuşdur ki, təcrübə nümunəsi kimi istifadə etdiyimiz dərman bitkilərindən stabil DPPH radikalın söndürmək xüsusiyyətinə görə dəvətikanı çiçəkləri və şirinbiyan köklərindən hazırlanmış su-spirt ekstraktı zəncirotu kökü və adi boymadərən bitkisindən alınmış su-spirt ekstraktı nümunələrinə nisbətən yüksək aktivliyə malikdirlər.

Aydın olmuşdur ki, Azərbaycanın milli mətbəxində istifadə edilən bir sıra ədviyyatlar antioksidləşdirici və antiradikal xüsusiyyətə malikdirlər. Təcrübədə istifadə etdiyimiz zəfəranın dişiciyindən hazırlanmış nümunələr zəfəranın erkəkciik və ləçək yarpağından hazırlanmış nümunələrə nisbətən daha güclü antioksidləşdirici xüsusiyyətə malikdirlər.

Təcrübələrdə həmçinin Azərbaycanın müxtəlif regionlarından götürülmüş bal nümunələri DPPH sərbəst radikal söndürücüsü xüsusiyyətinə malikdirlər. Bu xüsusiyyəti aşağıdan ardıcılıqla düzmək olar: Zaqatala (dağlıq) > Balakən (meşə) > İsmayılı > Balakən (dağlıq) > Zakatala (aran) > Gədəbəy > Samux > Lənkəran. Aydın olmuşdur ki, yüksək dağlıq zonadan götürülmüş bal nümunələri yüksək antiradikal aktivliyə malikdirlər. Həmin bal nümunələrində yüksək polifenol birləşmələrə və flavonoidlərə təsadüf edilir.

Balın antibakterial xüsusiyyəti ölkənin dağlıq zonasından gətirilmiş bal nümunələrində daha yüksək aktivliklə müşayət olunur.

Dərman bitkilərinin və müxtəlif yeyinti məhsullarının antioksidləşdirici və antiradikal xüsusiyyətlərinin müqayisəli tədqiqi göstərdi ki, həmin nümunələrdə fenol birləşmələrin olması ilə onların təsir xüsusiyyətləri arasında müsbət korelyasiya mövcuddur.

S.R. CHIRAGOVA
INVESTIGATION OF ANTIOXIDATIVE REACTION AND
MECHANISMS OF FREE RADICALS QUENCHING
BY NATURAL PRODUCTS

SUMMARY

Antioxidant, antiradical and antibacterial characteristics of natural compounds of vegetable origin and honey samples taken from different regions of Azerbaijan were examined. The method of stable radical (DPPH), the quenching of hydroxyl radical (chemiluminescence method), the specificities and degrees of antioxidative, antiradical and antibacterial peculiarities in samples used by microbiological method have been determined in comparable way.

It was identified that among the medical plants invitation flowers used as experience sample according to their peculiarities of quenching the stable DPPH radicals and the water – alcohol extract prepared from herbaceous roots, have higher activity in comparison with the water-alcohol extract obtained from the dandelion roots and an ordinary milfoil.

It became obvious that, some of the spices used in Azerbaijan cuisine have antioxidative and antiradical peculiarities. In experiences used samples which were prepared from saffron female have stronger antioxidative peculiarities, than the samples prepared from saffron male and petal leaves. It was determined in experience that honey samples taken from various regions of Azerbaijan have also DPPH free radical quenching features. These peculiarities can be sorted as follows: Zagatala (mountain) >Balakan (forest) >Ismayilly>Balakan (mountain) >Zagatala (lowland) >Gedabey>Lankaran.These honey samples are characterized by high polypherol compound and flavonoids.

Antibacterial characteristics of honey is accompanied by higher activity in honey samples brought from the mountainous region of the country.A comparative study of the antioxidative and antiradical properties of medicinal plants and various foodstuff has shown that there is a positive correlation between phenol compounds in these samples and their influence preuliarities.

Подписано к печати 11.11.2018. Формат бумаги 60x84 1/16. Тираж 100.

*«Издательство Бакинского Университета»,
Баку, АЗ 1148, ул. З.Халилова, 23.*

SAMİRƏ RƏMZİ qızı ÇİRAQOVA

**BİOMƏNŞƏLİ BİRLƏŞMƏLƏRİN SƏRBƏST RADİKAL
SÖNDÜRÜCÜ VƏ ANTIOKSİDLƏŞDİRİCİ
MEXANİZMLƏRİNİN TƏDQIQI**

2406.01 – Biofizika

**Biologiya üzrə fəlsəfə doktoru alimlik dərəcəsi
almaq üçün təqdim edilmiş dissertasiyanın**

A V T O R E F E R A T I

BAKİ-2018