



Статья

Гидролат бузины: изучение химического профиля, антиоксидант Эффективность и антигенотоксичность для косметического применения

Сара Гонсалвес 1,2,3,* , Франсиско Пейшото 4 , Катя Шосс 5 , Нина Кочевар Главац 5 и Изабель Гайван 2,3

- ¹ Академический клинический центр Трас-уш-Монтес и Альто-Дору (CACTMAD), Университет Трас-уш-Монтес и Альто-Дору, 5000-801 Вила-Реал,
 - ² Португалия Центр зоотехники и ветеринарных исследований (CECAV), факультет генетики и биотехнологии, Школа естественных наук и наук об окружающей среде, Университет Трас-уш-Монтес и Альто-Дору, 5000-801 Вила-Реал, Португалия;
 - ³ igaivao@utad.pt Ассоциированная лаборатория зоотехники и ветеринарных наук (AL4AnimalS), Университет Трас-уш-Монтес и Альто-Дору, 5000-801
 - ⁴ Вила-Реал, Португалия Центро-де-Кимика-де-Вила-Реал (CQVR), факультет биологии и окружающей среды, университет Трас-уш-Монтес и Альто-Дору, 5000-801 Вила-Реал,
 - ⁵ Португалия; freixoto@utad.pt Кафедра фармацевтической биологии, Фармацевтический факультет Люблянского университета, Ашкерцева 7, 1000 Любляна, Словения; katja.schoss@ffa.uni-lj.si (KC); nina.kocevar.glavac@ffa.un
- * Переписка: sgoncalves@utad.pt.

Аннотация: Гидролат бузины (*Sambucus nigra* L.), полученный методом бытовой паровой дистилляции, перспективен в качестве многофункционального ингредиента для ухода за кожей и косметических средств. В настоящей работе изучен химический состав и биологическая активность гидролата бузины, полученного методом паровой дистилляции. Несмотря на растущий интерес к гидролату бузины, всесторонних исследований, выясняющих его химический состав и потенциальные биологически активные компоненты, недостаточно. Чтобы устранить этот пробел, мы провели подробный анализ состава гидролата бузины, антиоксидантной активности и антигенотоксичности. Для оценки его биологических свойств были проведены генотоксическая оценка и антиоксидантные анализы (ABTS, DPPH). Мы получили гидролат бузины с заметным переносом ароматических соединений в процессе паровой дистилляции, что подчеркивает его эффективность и устойчивость. Химическая характеристика выявила жизненно важные соединения, в том числе фенилацетальдегид, 2-ацетилпиррол и неидентифицированный основной компонент, которые в совокупности способствуют ароматическим и биологическим свойствам гидролата. Оценка генотоксичности с использованием анализа Comet продемонстрировала защитное действие гидролата против повреждений ДНК, вызванных перекисью водорода и стрептомицином.

Оптимальная защита ДНК наблюдалась при 10% (мас./об.), что объясняется антиоксидантной активностью идентифицированных соединений. Гидролат продемонстрировал значительный антиоксидантный потенциал, демонстрируя реакции, зависящие от концентрации, и коррелируя более высокие концентрации с повышенной антиоксидантной активностью. Эти результаты подчеркивают многогранные свойства гидролата бузины, позиционируя его как многообещающий натуральный ингредиент для ухода за кожей. Это исследование подтверждает, что гидролат бузины является ценным природным и устойчивым ресурсом для разработки продуктов.

Ключевые слова: гидролат бузины; паровая дистилляция; антиоксиданты; косметика; химическая характеристика



Цитирование: Гонсалвес, С.; Пейшото, Ф.; Шосс, К.; Главац, Северная Каролина; Гаивао, И.
Гидролат бузины: изучение химического
профиля, антиоксидантной активности и
антигенотоксичности для косметического
применения. Прил. наук. 2024, 14, 6338. <https://doi.org/10.3390/app14146338>.

Академические редакторы: Энтони С.
Калокеринос, Харалампос Преостос,
Мустафа Бенер и Василия Дж.
Синаноглу

Поступила: 18 июня 2024 г.
Пересмотрено: 13 июля 2024 г.
Принято: 19 июля 2024 г.
Опубликовано: 20 июля 2024 г.



Копирайт: © 2024 авторов.
Лицензиат MDPI, Базель, Швейцария.
Эта статья находится в открытом доступе.
распространяется на условиях и
условия Creative Commons
Лицензия с указанием авторства (CC BY)
(<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Введение

В связи с повышением экологической осведомленности растет интерес к натуральным ингредиентам для использования в косметических продуктах. Чтобы сделать натуральные ингредиенты интересным и экономически устойчивым источником биологически активных соединений, необходим выбор и оптимизация подходящих экологически чистых технологий экстракции, которые обеспечивают извлечение и устойчивость целевых анализов.

Бузина (*Sambucus nigra* L.) получила широкое признание благодаря своему историческому и современному применению в традиционной медицине, кулинарии и функциональных продуктах питания благодаря своему богатому фитохимическому содержанию [1]. Среди разнообразия продуктов, полученных из

Гидролаты ягод бузины привлекают все большее внимание благодаря своей потенциальной пользе для здоровья и многофункциональным свойствам [2]. Гидролаты, также известные как гидрозоли, цветочные воды или дистилляты, представляют собой водные побочные продукты, получаемые при экстракции эфирного масла [3]. Эти побочные продукты ценятся за их ароматический профиль и наличие спектра биоактивных соединений, отличных от тех, которые содержатся в соответствующих эфирных маслах [4]. В частности, гидролат бузины перспективен как ценный ресурс для различных применений, включая косметику и ароматерапию [5,6].

Несмотря на растущий интерес к гидролату бузины, все еще недостаточно комплексных исследований, выясняющих его химический состав и потенциальные биологически активные компоненты. Такие исследования необходимы для полного понимания потенциальных преимуществ и применения гидролата. Исследования показывают, что бузина обладает значительными антиоксидантными и антигенотоксическими свойствами, однако необходимы детальные исследования, чтобы полностью понять ее потенциальную пользу и применение [7,8]. Чтобы устранить этот пробел, в нашем исследовании проводится углубленный анализ химического профиля и биологической активности гидролата бузины, полученного методом паровой дистилляции.

Мы используем ряд методологий, включая газовую хроматографию-масс-спектрометрию (ГХ-МС) для химической характеристики, антиоксидантные анализы (ABTS, DPPH) и оценки генотоксичности с использованием анализа Comet для оценки его биологических свойств. Выясняя антиоксидантную активность и антигенотоксичность гидролата бузины, мы стремимся предоставить ценную информацию о его потенциальном применении, особенно в косметической промышленности. Наши результаты вносят вклад в более широкий контекст исследований и разработок натуральных продуктов, подчеркивая гидролат бузины как многообещающий, устойчивый и многофункциональный ингредиент для рецептур по уходу за кожей. Это всестороннее исследование направлено на то, чтобы пролить свет на универсальный биоресурс, который предлагает гидролат бузины, подчеркивая его значение как устойчивого и ценного актива для будущей разработки.

2. Материалы и методы

2.1. Клетки

Образцы периферической крови были взяты у здоровой 35-летней женщины-добровольца. Она не курила, не употребляла алкоголь, не имела проблем со здоровьем и не принимала никаких лекарств в течение шести месяцев до исследования. Это исследование было проведено с одобрения этического комитета Университета Трас-ус-Монтес и Альто-Дору (Doc4-CE-UTAD-2023) и в соответствии с Хельсинкской декларацией.

2.2. Химикаты

Стрептонигрин (CAS 3930-19-6) был приобретен у компании Santa Cruz Biotechnology Inc., Санта-Круз, Техас, США. Fpg (формамидо-пиринидин[faru]-ДНК-гликозилаза) была приобретена в New England BioLabs (Ипсвич, Массачусетс, США). Этилацетат ACS (Reag. Ph. Eur./USP) и NaCl были приобретены у Carlo Erba Reagents (Валь-де-Рей, Франция). Дистиллированную воду закупили в компании MedicalShop (Понте-де-Лима, Португалия). Дистилляционный аппарат приобретен в компании Agrosprof (Брага, Португалия). ГХ-МС с н-гексаном (SupraSolv), фенилацетальдегид и все остальные химикаты были приобретены у компании Merck (Дармштадт, Германия).

2.3. Лизисный

раствор. Лизисный раствор готовили путем объединения 2,5 М NaCl, 0,1 М динатриевой ЭДТА и 0,01 М трис-основания и доведения pH до 10. Первоначально смесь, исключая Тритон X-100, растворяли в дистиллированной воде до уровня чуть ниже окончательный объем с точным количеством каждого соединения. Затем pH доводили до 10 с использованием 10 М раствора NaOH в течение 1 часа при 4 °C. Наконец, перед использованием к лизирующему раствору добавляли 1% Тритон X-100.

2.4. Фосфатно-солевой буферный раствор (PBS)

Раствор PBS готовили путем растворения точных количеств 2 мМ KH₂PO₄, 10 мМ Na₂HPO₄, 2,7 мМ KCl и 137 мМ NaCl в дистиллированной воде, чуть ниже конечного необходимого количества.

объем. Затем pH доводили до 7,4, используя 1 М раствор HCl. Наконец, добавляли оставшуюся воду для достижения желаемого конечного объема раствора PBS.

2.5. Буфер ферментативной реакции для

Frg. Буфер ферментативной реакции, содержащий 0,04 М HEPES, 0,10 М KCl, 0,0005 М ЭДТА и 0,2 мг/мл BSA, был приготовлен в H2O. pH буферного раствора доводили до 8,0 осторожным добавлением 6 М раствора KOH.

2.6. Раствор для электрофореза.

Раствор для электрофореза готовили путем объединения 0,3 М NaOH и 1 мМ раствора. ЭДТА в колбе, затем добавляя дистиллированную воду до тех пор, пока pH не станет ниже 13.

2.7. Препарат фермента

Коммерчески доступный специфичный для поражения кометного анализа фермент Frg был получен из бактерий и хранился при -80 °C в аликвотах после первоначального получения с помощью плазмидной инженерии. Размороженный Frg разводили в соответствии с инструкциями поставщика буфером Frg и хранили на льду до тех пор, пока не добавляли его в гели во время экспериментов, обеспечивая надлежащую функциональность фермента.

2.8. Сбор и подготовка бузины

В августе 2022 года ягоды бузины были приобретены в компании INOVTERRA (Вила Поука де Салзедес, Португалия). Высушенные ягоды бузины хранили в герметично закрытой стеклянной посуде до дальнейшего анализа [9]. Для каждого эксперимента ягоды бузины измельчали в порошок с помощью кофемолки .

2.9. Паровая дистилляция бузины

Соответствующее соотношение растительного материала и воды для паровой дистилляции может варьироваться в зависимости от таких факторов, как тип и количество используемого растительного материала и желаемый результат экстракции. Однако в литературе стандартно рекомендуется использовать соотношение 1:3 (1 часть растительного материала на 3 части воды) для извлечения эфирных масел из растительного сырья (Таблица 1). Следует отметить, что оптимальное соотношение для перегонки с водяным паром также может меняться в зависимости от используемого перегонного аппарата. В наших экспериментах использовался медный перегонный куб (перегонный куб). Процедура описана в таблице 1 [10].

Таблица 1. Рецепт и процедура паровой дистилляции бузины.

Ингредиент	г
Дистиллированная вода	4050
Бузина	1350
Процедура	
1. Сушеные ягоды бузины помещали в перегонный аппарат вместе с дистиллированной водой.	
2. Затем аппарат подключали к конденсатору с водяным охлаждением и нагревали с помощью колбонагревателя.	
3. Как только вода в колбе достигла точки кипения, образовавшийся пар прошел через ягоды бузины, извлекающие компоненты эфирного масла.	
4. Затем пар конденсировался на стенках конденсатора и капал в сборный сосуд за 1 час.	
5. Собранная жидкость представляла собой смесь эфирного масла и воды, разделенную с помощью воронки.	
6. Гидролат хранили в герметичном, светостойком контейнере, защищенном от прямого воздействия. Избегали солнечного света и чрезмерного нагрева.	

2.10. Расчет соотношения сушеных трав и гидролата

В нашем исследовании соотношение высушенной травы и гидролата рассчитывали как отношение массы высушенной травы (ягод бузины) к полученному объему гидролата, выраженное в процентах:

$$\text{Соотношение сушеной травы и гидролата (\%)} = \frac{\text{Вес ингредиента (г)}}{\text{Объем гидролата (мл)}} \times 100$$

Этот показатель количественно показывает, какое количество летучих компонентов бузины будет успешно переведено в гидролат.

2.11. Приготовление гидролатных

экстрактов. Экстракцию гидролата проводили в стеклянных емкостях в трех повторах с использованием гексана и этилацетата в качестве органических растворителей. Соотношение гидролат/гексан составляло 9:1 (об./об.), с 9 мл гидролата и 1 мл органического растворителя, а соотношение гидролат/этилацетат составляло 8:2 (об./об.), с 8 мл гидролата и 2 мл органического растворителя. Смеси встряхивали в течение ночи при комнатной температуре. Затем 0,5 мл верхней фракции (органический растворитель) отбирали для анализа ГХ-МС (раздел 2.12). После анализа рассчитывали относительные стандартные отклонения и результаты усредняли.

2.12. Профиль летучих веществ, определенный методом газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией (ГХ-МС)

Необработанные образцы гидролатов и экстракты гидролатов анализировали с использованием системы Shimadzu GC-MS (GCMS-QP2010 Ultra, Сан-Паулу, Бразилия), оснащенной МС- детектором и капиллярной колонкой Rxi-5Sil MS (Restek, Пенсильвания, США; 30 м × 0,25 мм, толщина пленки 0,25 мкм). Температуры инжектора и источника ионов были установлены на 250 °C и 200 °C соответственно. Температуру колонки программировали на повышение от 40 °C до 220 °C со скоростью 3 °C/мин, поддерживая начальную и конечную температуру по 15 мин каждая. В качестве газа-носителя использовали гелий (99,99%) при скорости потока 1 мл/мин. Образцы гидролата объемом 0,5 мкл и 1,0 мкл и образцы экстракта объемом 1,0 мкл вводились с использованием автосамплера в режиме разделения с соотношением разделения 1:5 и 1:10 для образцов гидролата и 1:5 для образцов экстракта. МС-детектирование осуществлялось в режиме электронной ионизации с энергией ионизации 70 эВ, температура линии передачи МС была установлена равной 250 °C. Диапазон отношения массы к заряду (m/z) составлял от 40 до 400, частота сканирования 5 Гц.

Идентификация соединений была основана на сравнении их масс-спектров и индексов удерживания с таковыми синтетических соединений в спектральных библиотеках Национального института стандартов и технологий (NIST11) и ароматизаторов и ароматизаторов натуральных и синтетических соединений (FFNSC2). Пик фенилацетальдегида подтверждали с использованием эталонного стандарта. Индексы линейного удерживания определяли относительно гомологического ряда n-алканов (C6-C24). Относительные концентрации компонентов рассчитывали по пикам ГХ без учета поправочных коэффициентов.

2.13. Обработка гидролатом бузины

Для анализа Comet на основе предыдущих результатов были выбраны четыре концентрации бузины : 1%, 5%, 10% и 15% (мас./об.) [8]. Были приготовлены две обработки: одна H₂O₂ , другая стрептонигрином (CH). Для каждого условия было проведено два независимых эксперимента с интервалом в 10 дней .

Чтобы применить обработку H₂O₂ , 50 мкл H₂O₂ смешивали с 0,5 л PBS. В эксперименте было установлено десять банок Коплина: в первой содержался только PBS, со второй по пятую содержались различные концентрации бузины в сочетании с PBS, в шестой содержался раствор, обработанный H₂O₂, а оставшиеся четыре содержали различные концентрации бузины в сочетании с раствором. Лечение H₂O₂ . Для каждого условия готовили два слайда. Один слайд в каждом наборе соответствовал стандартному протоколу, а второй перед продолжением подвергался ферментативной инкубации. На рисунке 1 представлен схематический обзор этих шагов, изображающий последовательные этапы процедуры.

содержал разные концентрации бузины в сочетании с PBS, шестой содержал H2O2-обработанный раствор, а остальные четыре содержали обработанный раствор бузины в сочетании с различными концентрациями, а оставшиеся четыре содержали различные концентрации бузины в сочетании с обработкой H2O2. Для каждого условия готовили два слайда. Один слайд в каждом наборе соответствовал стандартному протоколу, второй предмет в каждом наборе подвергался ферментативной инкубации в соответствии со стандартным протоколом, а второй перед продолжением подвергался ферментативной инкубации. На рисунке 1 представлен схематический обзор этих этапов: деинкубация перед продолжением. На рисунке 1 представлен схематический обзор этих шагов, изображающий последовательные этапы процедуры.

Прил. наук. 2024, 14, 6338

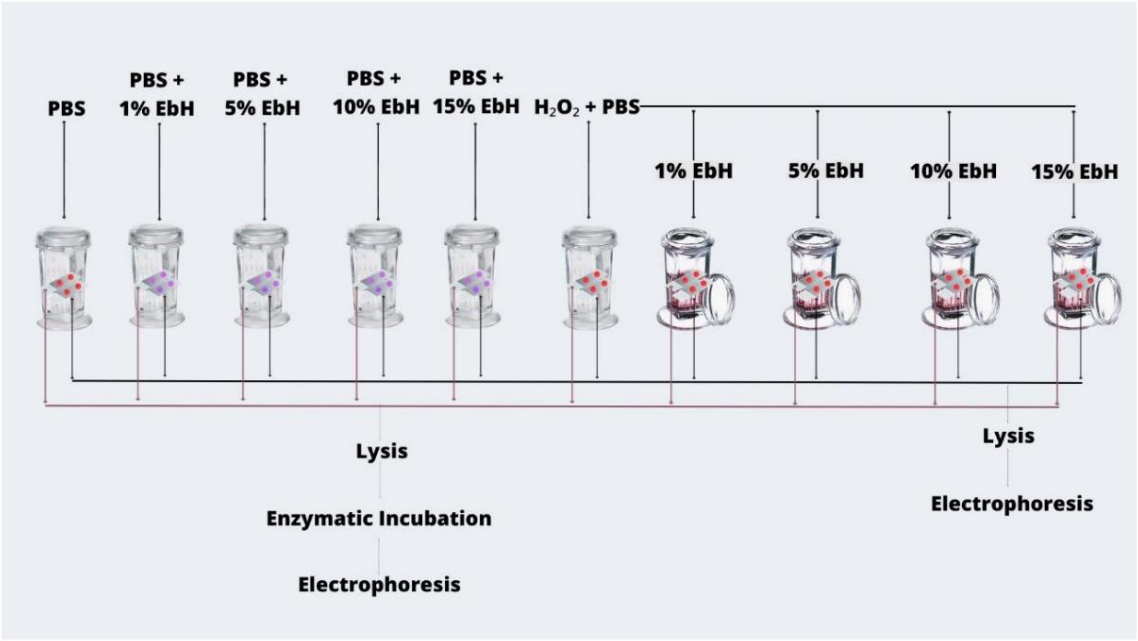


Рисунок 1. Схематическая иллюстрация экспериментального процесса.

Обработка SN включала растворение SN в PBS для достижения конечной концентрации 20 мкМ в объеме 5 мл в соответствии с установленными методиками [11]. Метод двойного слайда 20 мкМ в объеме 5 мл, следуя установленным методикам [11]. Для каждого условия применялся метод двойного слайда с соблюдением этих параметров. Для каждого условия использовали один слайд в каждом наборе метода с применением для каждого условия с соблюдением этих параметров. Один слайд в каждом наборе следовал традиционному пути, включающему стандартные протокольные этапы лизиса и электрофореза. Одновременно соответствующее предметное стекло подвергалось первоначальному ферментативному анализу. Одновременно соответствующее предметное стекло подвергалось начальной стадии ферментативной инкубации перед переходом к последующим этапам лизиса и электрофореза. Подробная стадия инкубации перед переходом к последующим этапам лизиса и электрофореза. Подробный рабочий процесс визуально представлен на рисунке 2.

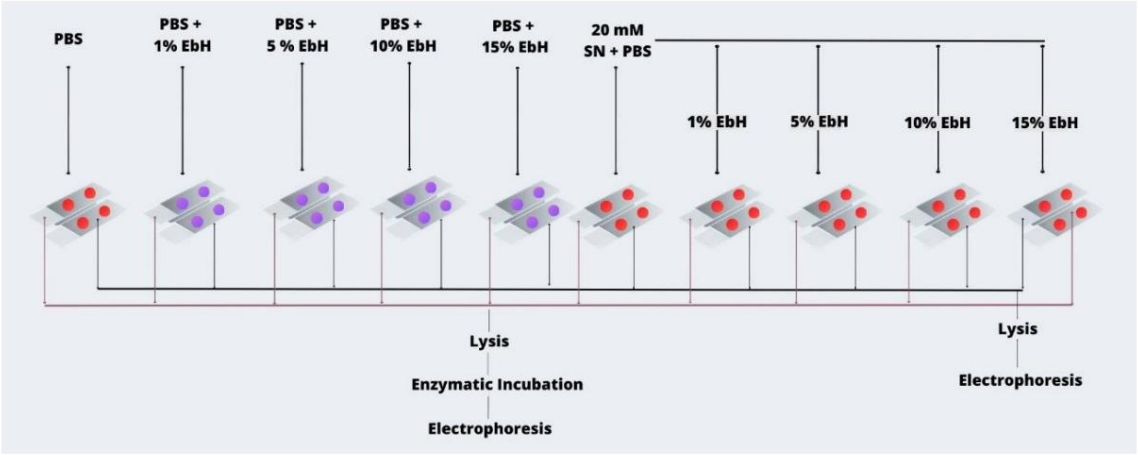


Рисунок 2. Иллюстрация процесса лечения SN.

2.14. Генотоксичная оценка

Генотоксические и антигенотоксические эффекты бузины оценивали in vivo с использованием Анализ Comet на мононуклеарных клетках периферической крови человека (PBMC).

2.14.1. Анализ комет в человеческих PBMC с использованием H2O2

Эксперименты проводились по методике, изложенной в [11]. Все решения и заранее были приготовлены предварительно покрытые предметные стекла, содержащие 1% агарозы с нормальной температурой плавления. Образцы крови получали путем прокола пальца, и 25 мкл каждого образца смешивали.

с 0,8% агарозы с низкой температурой плавления в PBS. Затем две капли этой смеси по 70 мкл помещали на предварительно покрытые предметные стекла, каждую из которых накрывали покровным стеклом для равномерного диспергирования раствора. Этот процесс повторяли для каждой исследуемой концентрации. Затем предметные стекла охлаждали при температуре 4 °C в течение 5 минут, чтобы агароза затвердела, прежде чем покровные стекла удаляли. Далее предметные стекла подвергали различным обработкам в банках Коплина при 37 °C в течение 1 часа. После обработки предметные стекла помещали в холодный свежий лизирующий раствор. Предметы располагали без зазоров в камере электрофореза и погружали в холодный денатурирующий и электрофорезный буфер на 20 мин. Электрофорез проводили в темноте при температуре 4 °C с током 300 мА и напряжением 25 В (что эквивалентно 0,8 В/см) в течение 20 мин. После электрофореза предметные стекла последовательно промывали PBS (10 мин при 4 °C) и дистиллированной воде (10 мин при 4 °C) перед сушкой на воздухе. Каждый гель окрашивали 40 мкл DAPI (4',6-диамидино-2-фенилиндол) (1 мкг/мл в dH₂O) и накрывали покровным стеклом для исследования под флуоресцентным микроскопом (Leica DMLS, Массачусетс, США) при 400°C. × увеличение. Наблюдала пятьдесят клеток на гель, а интенсивность хвоста каждой клетки оценивалась от 0 (нет хвоста) до 4 (почти вся ДНК в хвосте) [12]. Окончательный балл, выраженный в произвольных единицах от 0 до 400, рассчитывался с использованием формулы индикатора генетического повреждения (GDI).

Индикатор генетического

повреждения (GDI) = [(% класса нуклеоида 0) × 0] + [(% класса нуклеоида 1) × 1] + [(% класса нуклеоида 2) × 2] + [(% класса нуклеоида 3) × 3] + [(% нуклеоида класса 4) × 4]

Кроме того, еще один препарат для каждого условия подвергался ферментативной инкубации. После промывки буфером В при 4 °C на каждый гель наносили разбавленный фермент Fpg (50 мкл) и инкубировали во влажном боксе при 37 °C в течение 30 мин. Электрофорез и последующие этапы проводили согласно протоколу. Использование агарозного геля для внедрения клеток в анализе Comet служит для иммобилизации клеток и защиты их структурной целостности на последующих этапах анализа. Эта методология обычно используется при анализе прикрепившихся или растущих монослоем клеток, что облегчает манипулирование ими и обращение с ними [13]. Агарозный гель обеспечивает поддерживающую матрицу, которая инкапсулирует клетки, предотвращая смещение или разрушение во время последующих этапов анализа, таких как лизис клеток и электрофорез. Встраивание клеток в агарозу обеспечивает их равномерное распределение на предметных стеклах, обеспечивая равномерный анализ [14].

Более того, пористая природа агарозы облегчает диффузию лизирующего раствора и других реагентов, сохраняя при этом целостность клеток. Это эффективно удаляет клеточные белки и загрязнения во время лизиса, улучшая визуализацию и анализ повреждений ДНК [13,15]. Напротив, клетки в суспензии требуют встраивания в агарозу для анализа Comet. Клетки в суспензии будут рассеиваться во время электрофореза, что затрудняет точную оценку уровня повреждения ДНК. Встраивание этих клеток в агарозу иммобилизует их, обеспечивая последовательный и надежный анализ повреждений ДНК на последующих этапах анализа Comet [16,17].

2.14.2. Анализ комет в РВМС человека с использованием

SN. Протокол оставался таким же, как и предыдущие процедуры, однако лечение менялось. В этом эксперименте четыре концентрации бузины растворяли в смеси SN и PBS. Каплю этого раствора объемом 50 мкл помещали на агарозный гель и образец крови, затем накрывали покровным стеклом. Затем предметные стекла инкубировали при 37 °C в течение 1 часа перед погружением в лизирующий раствор и в соответствии с установленным протоколом.

2.15. Анализ перекиси водорода (H₂O₂)

Способность гидролата способствовать дисмутации H₂O₂ оценивали с использованием модификации ранее описанного метода [18]. Этот метод основан на превращении гомованилиновой кислоты (ГВА) в ее флуоресцентный димер в присутствии H₂O₂ и пероксидазы хрена (HRP). Для оценки возможного дисмутации использовались четыре различные концентрации.

тическая емкость гидролата бузины (1%, 5% и 15% мас./об.). Гидролат бузины инкубировали в фосфатном буфере (50 мМ, pH 7,4) в присутствии 20 мМ H₂O₂, 0,1 мМ HVA и 6,4 мг/мл HRP. Через 5 мин реакцию останавливали 0,5 мл холодного глицинового буфера (pH 12,0). Флуоресценцию раствора измеряли при длине волны возбуждения 312 нм и длине волны излучения 420 нм с помощью спектрофлуориметра Varian Eclipse. Образование пероксида рассчитывали по стандартной кривой H₂O₂, а уровни H₂O₂ выражали в нмоль дисмутации H₂O₂ /мин.

2.16. Антиоксидантная

активность 2.16.1. ABTS активность по удалению радикалов

Анализ удаления радикалов ABTS оценивали по ранее изложенному методу [19] с некоторыми модификациями. Анализ обесцвечивания катион-радикальных радикалов ABTS позволил оценить активность гидролата бузины по улавливанию свободных радикалов. Для инициации образования катион-радикала ABTS^{•+} 7 мМ ABTS смешивали с 2,5 мМ персульфата калия (1:1 по массе) в воде и оставляли инкубироваться в темноте при комнатной температуре в течение 12–16 ч перед использованием. Полученный раствор ABTS^{•+} разбавляли метанолом до достижения оптической плотности 0,700 при 734 нм. После добавления четырех различных концентраций гидролата (1%, 5% и 15%, мас./об.) к разбавленному раствору ABTS^{•+} измеряли поглощение через 30 минут после тщательного перемешивания. Каждый анализ включал соответствующий бланк с растворителем, и все измерения выполнялись в трех экземплярах. Процент ингибирования поглощения при 734 нм рассчитывали по формуле:

$$\text{ABTS}^{•+} \text{ эффект очистки (\%)} = \times 100 \quad (2) \quad \frac{(AB - AA)}{AB}$$

где АВ представляет собой поглощение радикала ABTS, смешанного с метанолом. АА представляет собой поглощение радикала ABTS, смешанного с гидролатом или стандартом бузины.

Эквивалентную антиоксидантную способность Тролокса (TEAC) рассчитывали путем построения стандартной кривой Тролокса для стандартного раствора Тролокса.

2.16.2. Анализ удаления радикалов DPPH

Способность образцов гидролата бузины к улавливанию свободных радикалов ДФПГ оценивалась по ранее изложенному методу [20] с небольшими корректировками с использованием стабильного радикала ДФПГ, который имеет пик поглощения при 515 нм. Раствор радикала ДФПГ готовили растворением 2,4 мг ДФПГ в 100 мл метанола. К 3,995 мл метанольного DPPH добавляли тестируемый раствор (1%, 5% и 15% мас./об.). Смесь энергично встряхивали и оставляли при комнатной температуре в темноте на 30 мин. Затем измеряли поглощение реакционной смеси при 515 нм с использованием спектрофотометра. Дополнительно измеряли поглощение радикала DPPH без какого-либо гидролата (т.е. контрольного образца). Все эксперименты проводились в трех повторностях. Способность улавливать радикал ДФПГ определяли по следующему уравнению:

$$\text{Очищенный DPPH (\%)} = \frac{(AB - AA)}{AB} \times 100$$

где АВ представляет собой поглощение бланка при t = 0 мин, а АА представляет собой поглощение гидролата при t = 30 мин. Эквивалентную антиоксидантную способность Тролокса (TEAC) рассчитывали путем построения стандартной кривой Тролокса для стандартного раствора Тролокса.

2.17. Статистический анализ

Анализ данных проводился с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics, версия 20 (Чикаго, Иллинойс, США). Статистическая оценка включала дисперсионный анализ (ANOVA) с последующим апостериорным тестированием по методу Тьюки. Статистическую значимость определяли при значениях p менее 0,05.

3. Результаты

3.1. Паровая дистилляция бузины

В этом исследовании было получено 3330 мл гидролата. Соотношение высушенной травы и гидролата составляло определяется как 40,54%. Этот показатель дает ценную информацию об эффективности процесс паровой перегонки, указывающий на степень обогащения гидролата летучими веществами. соединения. Чем больше масса сушеной травы, тем выше содержание фитонцидов. соединения в гидролате.

pH полученного гидролата измеряли с помощью pH-метра (MP511, Benchtop, Apera Instruments, Колумбус, Огайо, США), и значение pH оказалось равным 3,35.

3.2. Химическая характеристика

Прямой гидролатный анализ, т.е. анализ необработанного гидролата, выявил наличие трех соединений: фенилацетальдегида, 2-ацетилпиррола и неизвестного соединения (табл. 2), составляющее 26,7%, 13,7% и 59,7% от общего состава. в соответствии с их относительными пиковыми интенсивностями соответственно. Фенилацетальдегид тогда был количественно определяют с использованием стандартной калибровочной кривой. Используя объем инъекции 1 мкл, определяли концентрацию 0,063 ± 0,083 мг/мл для разделения 1:5 и концентрацию 0,068 ± 0,047 мг / мл для разделения 1:10. Используя меньший объем инъекции (0,5 мкл), лучше была достигнута повторяемость, особенно при разделении 1:5; концентрация фенилацетальдегида составляла 0,096 ± 0,049 мг/мл.

Таблица 2. Химическая характеристика.

Необработанные образцы	Область %	
	26,7%	Фенилацетальдегид
	13,7%	2-ацетилпиррол
	59,7%	МС: 43 (100) 44 (72) 144 (60)
Количественное определение фенилацетальдегида		
	0,5 мкл, разделение 1:5	0,096 ± 0,049 мг/мл
	0,5 мкл, разделение 1:10	0,160 ± 0,074 мг/мл
	1 мкл, разделение	0,063 ± 0,083 мг/мл
	1:5 1 мкл, разделение 1:10	0,068 ± 0,047 мг/мл
Гексановые экстракты	Область %	
	3,1%	н-гексаналь
	4,5%	Фурфурал
	82,6%	Фенилацетальдегид
	2,2%	(Е)-бета-дамасценон
Количественное определение фенилацетальдегида		
	1 мкл, разделить 1:5	0,025 ± 0,001 мг/мл
Экстракты этилацетата	Количественное определение фенилацетальдегида	
	1 мкл, разделить 1:5	0,069 ± 0,003 мг/мл

В экстрактах гидролатов этилацетатом обнаружен только фенилацетальдегид. средняя концентрация 0,069 ± 0,003 мг/мл, что соответствует концентрации 0,009 мг/мл в гидролате. В гексановых экстрактах обнаружено четыре соединения: н-гексаналь, фурфурол, фенилацетальдегид и (Е)-бета-дамасценон, что составляет 3,1%, 4,5%, 82,6% и 2,2% от общей композиции в зависимости от их относительной пиковой интенсивности соответственно . Все четыре соединения уже были описаны как летучие компоненты ягод бузины [21]. Средняя концентрация фенилацетальдегида составила 0,025 ± 0,001 мг/мл

1 мкл, разделение 1:5 $0,069 \pm 0,003$ мг/мл

что соответствует концентрации 0,003 мг/мл в гидролате. Повторяемость

3.3. Анализ кометы: вызов H2O2

В данном исследовании оценка повреждения ДНК в РВМС проводилась с использованием программы 3.3. Анализ кометы

Кометный анализ для изучения влияния концентрации гидроксида бузины и H₂O₂. В этом исследовании оценка повреждений ДНК в ИВНС проводилась с использованием метода кометного анализа. Результаты кометного анализа показали, что повреждения ДНК в группе «С+». Анализ Comet для (рис. 3) акромегалии, гидроксида бузины и H₂O₂ в результате вызывающего увеличение содержания поврежденной ДНК в популяции и в зависимости от концентрации H₂O₂ и гидроксида бузины генотоксических эффектов (рис. 3).

Возникли изменения и повреждения ДНК, при этом более высокие концентрации отражали тенденции обработки ингидролатами, и возникло повреждение ДНК, при этом более высокие концентрации отображали тенденции обработки ингидролатами. увеличенный ущерб по сравнению с более низкими концентрациями. Кроме того, при воздействии H2O2 наблюдаются тенденции к увеличению ущерба по сравнению с более низкими концентрациями. Кроме того, H2O2 группы, которые прошли лечение гидратом бузины, продемонстрировали заметное снижение

GDI, что выгодно позиционирует их по сравнению с группой «С+». Анализируя данные GDI, можно сделать вывод о снижении GDI, что выгодно позиционирует их по сравнению с группой «С+». Анализируя становится очевидным, что оптимальный результат достигается при лечении 1%, демонстрируя данные GDI, становится очевидным, что оптимальный результат достигается при лечении 1%, самое незначительное повреждение ДНК среди всех протестированных концентраций концентраций.

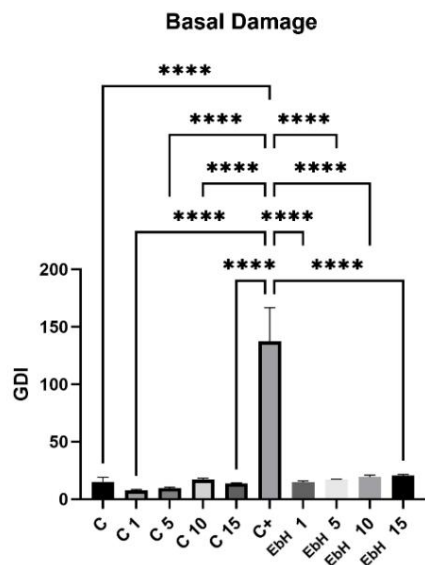


Рисунок 3. Оценка индикатора генетического повреждения (GDI) в PBMC человека. Средние значения
Рисунок 3. Оценка индикатора генетического повреждения (GDI) в PBMC человека. Средние значения повреждений ДНК, количественно выраженные в условных единицах с использованием анализа Comet in vivo, определяли в Повреждения ДНК, количественно выраженные в условных единицах с использованием анализа Comet in vivo, определяли как в незаряженных, так и в обработанных H2O2 группах. Обозначение «<» соответствует элементу управления, как незаряженные группы, так и группы, подвергшиеся воздействию H2O2. Обозначение «<» соответствует контрольной группе, получавшей исключительно PBS. Обозначения «C1», «C5», «C10» и «C15» соответствуют PBS-группа, получающая исключительно PBS. Обозначения «C1», «C5», «C10» и «C15» соответствуют обработке PBS и соответствующей концентрации гидролата бузины (1:1%, 5:5%, 10:10% и 15:15%), а также соответствующей концентрации гидролата бузины (1:1%, 5:5%, 10:10% и 15:15%). «C+» означает группу, подвергнутую исключительно обработке H2O2. Испытуемые группы отличаются «<» означает группу, подвергнутую исключительно обработке H2O2. Испытуемые группы различаются аббревиатурой обозначениями входящий в их состав ингредиент (EBH: гидролат бузины) и соответствующий сокращения, обозначающие составляющий ингредиент (EBH: гидролат бузины) и соответствующую концентрацию гидролата бузины (1:1%, 5:5%, 10:10% и 15:15%). Четверная звездочка стоит Концентрация гидролата бузины (1:1%, 5:5%, 10:10% и 15:15%). Тройная звездочка обозначает значительные различия между контрольным лечением и всеми обработками EBH, а также между существенные различия между контрольной терапией и всеми обработками EBH, а также между контролем без обработки SN. Столбики ошибок представляют собой стандартные ошибки, и весь контроль без лечения SN. Столбики ошибок представляют собой стандартные ошибки.

В категории «Базальное повреждение + окислительное повреждение» группа «ЕвН1» демонстрирует самое низкое среднее повреждение ДНК среди контролей, получавших гидрокарбонат натрия. Контроль самое низкое среднее повреждение ДНК среди различных уровней повреждения ДНК. Контрольные группы, получавшие ионоизирующее излучение, в зависимости от дозы получили повреждения ДНК, близкие к повреждению ДНК, полученному в результате воздействия H_2O_2 (48 мкМ), эффект продемонстрировала значительно более высокое среднее окислительное повреждение ДНК, что указывает на его выраженные генотоксические эффекты (рис. 4, Базальное повреждение + окислительное повреждение).

Влияние различных концентраций гидролата бузины на повреждение ДНК исследовали в условиях базального и базального плюс окислительного стресса (таблица 3). Кроме того, в категории «Окислительное повреждение NET» группа «Ebn1» демонстрирует

В условиях базального повреждения контрольная группа («С») показала GDI 15,00 и % ДНК в самом низкое среднее повреждение ДНК среди групп, получавших гидролат бузины. Похожий на хвост 3,75. В группах, получавших гидролат бузины, наблюдалось увеличение количества ДНК в предыдущих категориях, подвергавшаяся исключительно воздействию H2O2 («С+»), показала заметно более высокий уровень ДНК.

означают повреждение ДНК, подчеркивая его повышенное генотоксическое воздействие. Анализ GDI данных с помощью Frg (рис. 4, окислительное повреждение NET), становится очевидным, что оптимальный результат был получен при лечении 1%, демонстрируя самые незначительные повреждения ДНК среди все протестированные концентрации.

в хвосте 3,75. В группах, получавших гидролат бузины, наблюдалось увеличение количества ДНК. повреждение при более высоких концентрациях. «EbH 1» имел самый низкий GDI — 14,75 и % ДНК в хвост 3,69. В комбинированном состоянии «Базальное повреждение + оксидативное повреждение» контрольный группа показала GDI 44,25 и % ДНК в хвосте 11,06. Гидролат бузины группы лечения также показали увеличение повреждения ДНК при более высоких концентрациях. наименьшее повреждение ДНК наблюдалось у «EbH 1» с GDI 25,75 и % ДНК в хвосте

6.44. Эти результаты показывают, что гидролат бузины вызывает дозозависимое увеличение Повреждение ДНК в условиях базального и окислительного стресса, с наибольшей концентрацией («EbH 15»), нанесящий наиболее значительный ущерб.

Таблица 3. Антигенотоксическое действие гидролата бузины на повреждение ДНК в периферической крови человека мононуклеары с инсультом H2O2 .

Уход	ГСБ	% ДНК в хвосте
Базальный урон		
C	15.00	3,75
C 1	7.50	1,88
C 5	9.50	2.38
C 10	17.00	4.25
C 15	13.50	3.38
C+	137,41	34.35
Э6X 1	14.75	3,69
Э6X 5	17.00	4.25
Э6X 10	19.25	4,81
Э6X 15	20.50	5.13
Базальное и окислительное повреждение		
C	44,25	11.06
C 1	15,00	3,75
C 5	21,75	5.44
C 10	23,75	5,94
C 15	25,25	6.31
C+	182,50	45,63
Э6X 1	25,75	6.44
Э6X 5	30,50	7,67
Э6X 10	31,50	7,88
Э6X 15	37,50	9.38

3.4. Анализ кометы: SN Challenge

Расследование повреждений ДНК в РВМС выявило различные результаты. в различных группах лечения. В категории «Базальное повреждение», где тестировались концентрации бузины, группа получала 1% концентрацию бузины. («EbH1») постоянно демонстрировал наименьшее среднее повреждение ДНК, что указывает на потенциальную вероятность Защитный эффект от генотоксического стресса. И наоборот, контрольные группы («C», «C1», «C10», и «C15») демонстрировали различные уровни повреждения ДНК (рис. 5). Анализируя данные GDI, он становится очевидным, что оптимальный результат достигается при лечении 1%, демонстрируя самое незначительное повреждение ДНК среди всех протестированных концентраций.

Расширенный анализ повреждений ДНК в РВМС с использованием различных методов лечения выявил нюансы результатов в разных экспериментальных группах. В разделе «Базальное повреждение» + Окислительное повреждение», подгруппа «EbH5» продемонстрировала самый низкий наблюдаемый уровень ДНК. повреждение (рис. 6, базальное повреждение + окислительное повреждение). Вслед за «EbH1» подгруппа продемонстрировала относительно меньшее повреждение ДНК. Аналогичным образом, в подгруппе «Окислительное повреждение NET» подгруппа «EbH10» продемонстрировала наименьшее наблюдаемое повреждение ДНК. (Рисунок 6. Чистое окислительное повреждение). Обратив внимание на данные GDI с помощью Frg (рис. 6, Окислительное повреждение NET), становится очевидным, что был достигнут наиболее благоприятный результат. при 10% обработке, о чем свидетельствует самый низкий зарегистрированный уровень повреждения ДНК.



Влияние различных концентраций гидролата бузины на повреждение ДНК были исследованы в условиях стресса «Базальное повреждение» и «Базальное повреждение + окислительное повреждение». условия. В условиях базального повреждения контрольная группа («С») демонстрировала GDI. 15,00 и % ДНК в хвосте 3,75. Среди методов лечения гидролатом бузины наименьшее повреждение ДНК наблюдалось при «EbH 1» с GDI 21,00 и % ДНК в хвосте. 5,25. Более высокие концентрации привели к усилению повреждения ДНК, при этом «EbH 15» показал самый высокий GDI 58,75 и % ДНК в хвосте 14,69 (табл. 4).

Таблица 4. Антигенотоксическое действие гидролата бузины на повреждение ДНК в периферической крови человека мононуклеары с инсультом SN.

Уход	ГСБ	% ДНК в хвосте
Базальный урон		
С	15.00	3,75
С 1	7.50	1,88
С 5	9.50	2.38
С 10	17.00	4.25
С 15	13.50	3.38
С+	137,41	34.35
ЭбХ 1	21.00	5.25
ЭбХ 5	31,75	7,94
ЭбХ 10	54.00	13.50
ЭбХ 15	58,75	14.69
Базальное и окислительное повреждение		
С	44,25	11.06
С 1	15,00	3,75
С 5	21,75	5.44
С 10	23,75	5,94
С 15	25,25	6.31
С+	182,50	45,63
ЭбХ 1	62,50	15,63
ЭбХ 5	59,50	14.88
ЭбХ 10	72,50	18.13
ЭбХ 15	87,00	21.75

В комбинированном состоянии «Базальное повреждение + окислительное повреждение» контрольная группа показал GDI 44,25 и % ДНК в хвосте 11,06. Самое низкое повреждение ДНК среди обработка гидролатом бузины снова наблюдалась при «EbH 1» с GDI 62,50. и % ДНК в хвосте 15,63. Как и в случае с базальным состоянием, более высокие концентрации приводили к большее повреждение ДНК, при этом «EbH 15» демонстрирует самый высокий GDI, равный 87,00, и % ДНК в хвост 21.75.

Эти результаты показывают, что, хотя обработка гидролатом бузины при минимальной концентрация («EbH 1») вызывает наименьшее повреждение ДНК среди протестированных концентраций, это по-прежнему приводит к более высокому повреждению ДНК, чем в контрольной группе при базальном и окислительном воздействии. стрессовые состояния.

3.5. Активность по удалению перекиси водорода

Мы оценили способность гидролата бузины дисмутировать H2O2 , чтобы понять является ли наблюдаемый защитный эффект с точки зрения генотоксичности результатом того факта, что Гидролат бузины оказывал прямое влияние на H2O2. Однако мы обнаружили, что гидролат не способствовал дисмутации H2O2. Однако этот результат позволяет исключить возможно прямое взаимодействие гидролата с H2O2, превращающее его в менее вредные формы. Следовательно, наблюдаемый эффект гидролата может нейтрализовать свободные радикалы, образующиеся действие H2O2 на клетки или посредством активации систем репарации ДНК, присутствующих в клетках, помогает исправить ущерб, нанесенный H2O2 , прежде чем он станет необратимым.

Следовательно, наблюдаемый защитный эффект гидролата H2O2 можно объяснить сочетанием этих механизмов, что снижает повреждения ДНК, вызываемые перекисью водорода.

Результаты, основанные на рассчитанном соотношении сухеных трав и гидролатов, подчеркивают эффективность перенос ароматических, летучих соединений из ягод бузины, демонстрируя мастерство процесса экстракции и, в конечном итоге, потенциал для терапевтического или косметического применения.

Влияние различных концентраций гидролата на антиоксидантную активность также исследовали с помощью анализа DPPH. Эквивалентные значения Тролокса определяли при концентрациях 0%, 1%, 5% и 15% гидролата. Как и ожидалось, гидролат бузины проявляет антиоксидантную активность, поскольку в процессе экстракции некоторые антиоксидантные соединения (например, фурфурол, фенилацетальдегид и (Е)-бета-дамасценон) высвобождаются из ягоды и растворяются в воде. Удивительно, но результаты выявили нелинейную зависимость между концентрацией гидролата и антиоксидантной активностью. При концентрации 1% эквивалентное значение Тролокса значительно увеличилось по сравнению с исходным уровнем, что свидетельствует о положительном влиянии гидролата на антиоксидантные свойства. Однако при концентрации 5% наблюдалось снижение эквивалентных значений Тролокса, что указывает на сложный эффект, зависящий от концентрации. Поразительно, но самая высокая антиоксидантная активность была отмечена при концентрации гидролата 15%, что подчеркивает наличие оптимальной концентрации для максимальной эффективности.

4. Обсуждение

4.1. Паровая дистилляция бузины

Основываясь на рассчитанном соотношении сушеных трав и гидролата, результаты подчеркивают эффективную передачу ароматических, летучих соединений из ягод бузины, демонстрируя качество процесса экстракции и, в конечном итоге, потенциал для терапевтического или косметического применения, а также подчеркивая важность пара. дистилляция как устойчивый метод экстракции. Однако следует учитывать, что различия в соотношении высушенной травы и гидролата могут быть обусловлены такими факторами, как характеристики растительного материала, параметры дистилляции и обращение с ней во время сбора и разделения, в то время как они могут существенно повлиять на эффективность дистилляции. Наблюдаемый уровень pH влияет на потенциальное применение и подчеркивает необходимость точного контроля качества. Регулировка pH для конкретных применений может повысить полезность гидролата бузины в различных отраслях промышленности.

В этом исследовании изучается потенциал бузины для использования в натуральной косметике, исследуя паровую дистилляцию как доступный метод получения гидролата бузины. Полученные результаты способствуют пониманию преимуществ бузины для здоровья кожи, подчеркивая устойчивость паровой дистилляции для получения ароматических и терапевтических экстрактов. Более того, насколько нам известно, это первое исследование состава и биологических свойств гидролата бузины *in vitro*.

Это исследование также способствует лучшему пониманию характеристик летучих компонентов гидролата бузины. При анализе гидролатов обычно используется жидкостно-жидкостная экстракция для экстракции летучих соединений в органический растворитель из-за ограничений ГХ-МС как инструмента для анализа водных проб [22]. В качестве органического растворителя чаще всего используют гексан [23], хотя он не является оптимальным растворителем для экстракции с целью определения состава гидролата, так как является сильно неполярным растворителем ($\log P = 3,90$). Поэтому мы дополнительно использовали экстракцию этилацетатом, который более полярен ($\log P = 0,73$), чем гексан, но все же не смешивается с водой. Учитывая, что гидролат представляет собой водный раствор летучих соединений и что полярные летучие соединения присутствуют в большем количестве, чем менее полярные, мы ожидали обнаружить больше соединений в этилацетатном экстракте. Однако это было не так; Фенилацетальдегид удалось обнаружить только в этилацетатном экстракте, тогда как (Е)-бета-дамасценон, н-гексаналь и фурфурол также были обнаружены в гексановом экстракте, но в следовых количествах.

Как правило, общее количество соединений, обнаруженных в гидролате, зависит от метода, выбранного для анализа гидролата, при этом ожидается, что меньшее количество соединений будет обнаружено, когда гидролат наносится непосредственно на ГХ-МС, т.е. без предварительной обработки или подготовки образца, чем когда его предварительно экстрагировали органической фазой, такой как гексан или этилацетат. Учитывая это, мы приходим к выводу, что для получения как можно более подробной информации о составе гидролата необходимы как прямой ГХ-МС анализ необработанного гидролата, так и анализ экстрактов.

Бузина получила широкое признание благодаря разнообразному набору биологически активных соединений, включая антиоксиданты, витамины и незаменимые жирные кислоты [5]. Антиоксидантные свойства

ягоды бузины представляют особый интерес, поскольку обладают способностью противодействовать окислительному стрессу и предотвращать преждевременное старение. Это согласуется с предыдущими исследованиями, которые показали способность бузины защищать кожу от повреждения свободными радикалами [8]. Эти результаты также подчеркивают противовоспалительные и антимикробные свойства бузины, которые способствуют ее способности успокаивать раздраженную кожу и защищать от потенциальных инфекций. Антигенотоксические свойства бузины представляют значительный интерес, что позволяет предположить связь между ее использованием и преимуществами против старения. В целом, многогранные свойства бузины делают ее многообещающим природным ингредиентом для улучшения здоровья кожи и решения различных проблем с кожей. Мы считаем, что результаты нашего исследования расширяют возможности применения бузины, демонстрируя проверенные биологические эффекты гидролата бузины, которые указывают на потенциальные косметические или лечебные свойства.

Значение паровой дистилляции в извлечении эфирных масел и гидролатов из растительного сырья, основанное на традиционной медицине и ароматерапии, сводит к минимуму отходы и поддерживает экологически чистые методы. Производство гидролата бузины соответствует отраслевому спросу на натуральные и устойчивые альтернативы.

Изготовление косметики с помощью паровой дистилляции позволяет адаптировать ее к индивидуальным типам и предпочтениям кожи, что соответствует тенденции персонализированных режимов ухода за кожей. В ходе исследования произошло примечательное наблюдение: присутствие эфирного масла визуально ощущалось во время паровой дистилляции, но его не удалось собрать. Это побудило к исследованию факторов, влияющих на это, таких как изменчивость содержания эфирного масла, летучесть и потенциальные альтернативные соединения, придающие ароматические характеристики. Возможно, этому способствовали ошибки или неоптимальные параметры процесса дистилляции, что подчеркивает необходимость тщательной переоценки для более глубокого понимания динамики паровой дистилляции и ее последствий для извлечения ценных ароматических соединений.

4.2. Генотоксичная оценка

Наблюдаемые защитные эффекты гидролата бузины против генотоксического стресса, выявленные с помощью анализа Comet с использованием H₂O₂ и SN, согласуются с известными свойствами бузины, особенно ее богатым фитохимическим составом [24].

Увеличение повреждений ДНК, наблюдаемое в группе «С+», подвергавшейся исключительно воздействию H₂O₂, подчеркивает выраженное генотоксическое воздействие перекиси водорода. Напротив, зависимость от концентрации, наблюдаемая в группах, получавших гидролат бузины, предполагает тонкое взаимодействие между концентрациями гидролата и защитой ДНК. Это согласуется с установленными антиоксидантными свойствами гидролата бузины, поскольку известно, что антиоксиданты удаляют активные формы кислорода, уменьшая вызванное окислительным стрессом повреждение клеточных компонентов, включая ДНК.

Оптимальный результат, наблюдаемый при лечении 10% гидролатом бузины в состоянии SN и 1% лечения в состоянии H₂O₂, предполагает потенциальный защитный эффект, специфичный для концентрации. Этот результат можно объяснить оптимальным балансом биологически активных соединений при этой концентрации, поскольку более высокие концентрации демонстрируют тенденцию к увеличению повреждения ДНК. Концентрации 1% и 10% с минимальным повреждением ДНК и заметным снижением генотоксичности подчеркивают потенциал гидролата бузины в смягчении окислительного стресса. Кроме того, гидролат, вероятно, усиливает системы антиоксидантной защиты клеток, включая активацию антиоксидантных ферментов или прямое удаление свободных радикалов.

Кроме того, различные результаты, наблюдаемые при различных концентрациях гидролата, и проблемы подчеркивают сложность воздействия гидролата бузины на повреждение ДНК. Нюансы результатов могут быть связаны с различиями в концентрациях конкретных фитохимических веществ в гидролате бузины, каждый из которых по-разному влияет на его общую защитную способность.

Присутствие фенилацетальдегида, 2-ацетилпиррола и неидентифицированного соединения в гидролате бузины предполагает потенциальную биологическую активность, которая может коррелировать с наблюдаемыми генотоксическими эффектами. Фенилацетальдегид, преобладающий (26,7 %) в гидролате, определенный при использовании необработанной пробы, а также как в этилацетате (100 %; это был единственный

обнаруженное соединение) и гексановый (82,6%) экстракты – известное ароматическое соединение, проявляющее различную биологическую активность, в том числе антимикробную и антиоксидантную свойства [25–27]. Эти свойства могут способствовать антигенотоксическим эффектам, наблюдаемым в анализе Comet, поскольку известно, что антиоксиданты смягчают повреждение ДНК, вызванное окислительным стрессом.

Неидентифицированное соединение, составляющее значительную часть гидролата (59,7%; необработанный гидролат), требует дальнейшего изучения для выяснения его структуры и потенциальной биологической активности. Оценка генотоксичности, которая показала снижение повреждения ДНК, указывает на то, что совместное действие этих соединений может придавать защитные свойства против генотоксичных агентов.

Кроме того, 2-ацетилпиррол, еще одно идентифицированное соединение, изучалось на предмет его потенциальной биологической активности, включая антиоксидантные свойства [28,29]. Это соединение также может играть роль в наблюдаемых антигенотоксических эффектах, хотя точный механизм его действия в этом контексте еще предстоит изучить.

n-Гексаналь (3,3%) и фурфурол (4,5%), обнаруженные в гексановых экстрактах в более низких концентрациях, также обладают известной биологической активностью, в том числе антиоксидантными свойствами. Их присутствие, хотя и незначительное, может синергически усиливать общий антигенотоксический эффект гидролата.

(E)-бета-дамасценон, соединение, присутствующее в гексановых экстрактах в количестве 2,2%, вносит еще один вклад в биологическую активность гидролата. Его антиоксидантные свойства дополнительно подтверждают способность гидролата защищать от повреждения ДНК [32].

Кроме того, 2-ацетилпиррол (13,7%; необработанный гидролат) в гидролате бузины может усиливать его способность защищать от повреждения ДНК. Антиоксидантные свойства 2-ацетилпиррола могут смягчить последствия окислительного стресса, вызванного генотоксичными агентами, такими как SN и H₂O₂ [29]. Этот защитный эффект согласуется с наблюдаемым снижением повреждений ДНК в анализе Comet.

Химическая характеристика гидролата бузины позволяет выявить основные соединения, которые, вероятно, способствуют его биологической активности. Оценка генотоксичности подтверждает гипотезу о том, что эти соединения, особенно фенилацетальдегид и, возможно, неидентифицированное соединение, обладают антигенотоксическим потенциалом. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы полностью понять механизмы, с помощью которых эти соединения оказывают защитное действие против повреждения ДНК.

Эти результаты подчеркивают потенциал гидролата бузины как ценного ресурса для применений, требующих антиоксидантных и антигенотоксических свойств, например, в косметике.

Необходимы дальнейшие исследования, чтобы полностью выяснить механизмы, с помощью которых эти соединения оказывают свое защитное действие, и определить структуру и активность неидентифицированного соединения.

4.3. Активность по удалению перекиси водорода

Отсутствие обнаруживаемой H₂O₂-активности в гидролате бузины обусловлено отсутствием химических соединений, способных катализировать распад H₂O₂ на H₂O и O₂, а также инактивацией ферментов, таких как каталаза и другие пероксидазы, во время паровой дистилляции. Этот процесс имеет важное значение для понимания потенциальной защитной роли гидролата бузины против повреждения ДНК.

Каталаза является важнейшим ферментом, ответственным за катализацию распада H₂O₂ на воду и кислород, тем самым предотвращая накопление этой активной формы кислорода (АФК) и смягчая повреждения, вызванные окислительным стрессом [33].

Процесс паровой дистилляции, включающий повышенные температуры, мог привести к денатурации или инактивации пероксидаз, присутствующих в ягодах бузины. Эта инактивация могла бы объяснить отсутствие каталазной активности, наблюдаемое в последующем анализе, где гидролат бузины тестировали на его способность дисмутировать H₂O₂ [34].

В свете этих результатов отсутствие каталазной активности в гидролате бузины позволяет предположить, что другие антиоксидантные механизмы могут способствовать его потенциальному защитному действию против повреждения ДНК. Наблюдаемое зависимое от концентрации снижение повреждения ДНК, особенно в условиях окислительного стресса, означает, что гидролат бузины может содержать биологически активные соединения, способные удалять свободные радикалы и смягчать последствия

генотоксические эффекты. Такое защитное воздействие на ДНК можно объяснить наличием других антиоксидантов, таких как полифенолы или флавоноиды, которые могут играть роль в противодействии окислительному повреждению.

Применение гидролата бузины в качестве защитного средства от повреждения ДНК, даже без антиоксидантных ферментов, подчеркивает сложную и многогранную природу его биологически активных компонентов. Дальнейшие исследования конкретных антиоксидантных соединений, присутствующих в гидролате бузины, механизмов их действия и потенциальных синергических эффектов будут способствовать более полному пониманию роли бузины в смягчении окислительного стресса и сохранении целостности ДНК. Эти результаты имеют многообещающее значение для разработки натуральных продуктов с ДНК-защитными свойствами, подходящих для ухода за кожей и других отраслей промышленности.

4.4. Антиоксидантная

активность Результаты, полученные с помощью двух методов оценки антиоксидантной активности (ABTS и DPPH), убедительно свидетельствуют о том, что гидролат бузины обладает значительным антиоксидантным потенциалом, причем более высокие концентрации коррелируют с более значительной антиоксидантной активностью [35]. Эти данные подчеркивают многообещающую роль гидролата бузины как источника природных антиоксидантов, что потенциально может иметь значение для различных отраслей промышленности, ищущих природные соединения, богатые антиоксидантами, для разработки продуктов и применения в здравоохранении.

Эти результаты проливают свет на тонкие взаимоотношения между качественным и количественным составом гидролата и антиоксидантной активностью, предоставляя ценную информацию для дальнейшего изучения основных механизмов и потенциальных применений в косметике, функциональных продуктах питания или фармацевтических препаратах. Следует отметить, что антиоксидантные свойства соединений, присутствующих в гидролате, могут объяснить защитный эффект, наблюдаемый при повреждениях ДНК, индуцированных H₂O₂ и SN. Однако нельзя исключать, что некоторые из соединений могут стимулировать имеющиеся в клетке системы репарации ДНК.

4.5. Ограничения

Хотя это исследование дает ценную информацию о потенциальных преимуществах гидролата бузины для ухода за кожей и других применений, некоторые ограничения требуют рассмотрения. Во-первых, размер выборки исследования, основанной на данных, полученных от одного здорового добровольца, может ограничить возможность обобщения результатов на более широкую популяцию. Кроме того, использование ягод бузины, полученных из определенного места и в определенное время, может привести к изменчивости из-за географических различий и сезонных изменений в составе растений. Смешивающие переменные, такие как диета, факторы образа жизни и воздействие окружающей среды, не контролировались, что потенциально могло повлиять на наблюдаемые результаты. Устранение этих ограничений за счет увеличения размера выборки, контролируемого планирования экспериментов и рассмотрения потенциальных факторов, искажающих результат, может повысить достоверность и обобщаемость будущих исследований в этой области.

5. Выводы

Это исследование проливает свет на потенциал бузины как натурального ингредиента в средствах по уходу за кожей и косметических продуктах. Исследование паровой дистилляции бузины подчеркивает ее разнообразные преимущества для здоровья кожи и подчеркивает доступность и устойчивость использования этого метода. Поскольку спрос на натуральную косметику и экологически чистые методы продолжает расти, эти результаты способствуют растущему объему исследований, которые поддерживают интеграцию природных ресурсов в современные схемы ухода за кожей. Объединяя традиции и современную науку, бузина является примером гармоничного взаимодействия природы и личного благополучия. Это исследование подчеркивает многогранные свойства гидролата бузины, позиционируя его как многообещающий натуральный ингредиент для улучшения здоровья кожи и решения различных проблем с кожей. Присутствие биологически активных соединений, таких как фенилацетальдегид и 2-ацетилпиррол, а также потенциальная активность неидентифицированного соединения подчеркивают потенциал гидролата в косметике и других применениях, требующих антиоксидантных и антигенотоксических свойств. Для полного выяснения механизмов необходимы дальнейшие

с помощью которых эти соединения оказывают свое защитное действие, и идентифицировать неопознанные Строение и активность соединения. Эти результаты способствуют растущему числу знания о пользе бузины, поддерживая ее использование как ценного природного и устойчивого Ресурс для разработки продукта.

Вклад авторов: SG, FP, KS, NKG и IG: концептуализация, написание – обзор и редактирование; SG, KS, NKG и FP: исследование, ресурсы, методология, проверка, курирование данных и визуализация; С.Г.: Написание оригинального проекта; администрирование проекта и формальный анализ; ФП и ИГ: Надзор; ИГ: Финансирование. Все авторы прочитали и согласились с опубликованной версией рукопись.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке проекта UIDB/00772/2020 (<https://doi.org/10.54499.UIDB/00772/2020>), финансируется Португальским фондом науки и технологий (FCT).

Заявление Институционального наблюдательного совета: Данное исследование было проведено в соответствии с Декларацией Хельсинки и одобрен Институциональным наблюдательным советом Университета Трас-ос-Монтес и Альто Дору (D04-CE-UTAD-2023, 27 января 2023 г.).

Заявление об информированном согласии: Информированное согласие было получено от всех субъектов, участвующих в исследовании. изучение.

Заявление о доступности данных. Данные, подтверждающие выводы и выводы, доступны по адресу: запрос у соответствующего автора.

Благодарность: авторы благодарят Диниша Диого и Гая Гонсалвеса за предоставление ингредиентов. проанализированы в этом исследовании и помогают в паровой дистилляции. Авторы благодарят Тьяго Феррейру за помощь со статистическим анализом.

Конфликт интересов: Авторы заявляют, что исследование проводилось без какой-либо коммерческой или финансовые отношения, которые могут быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сокращения

Сокращение	Полный срок
АБТС	2,2'- азино-бис(3-этилбензотиазолин-6-сульфоная кислота)
С	Контрольная группа, получавшая PBS
С 1, С 5, С 10, С 15	Контрольные группы, обработанные PBS и соответствующим гидролатом бузины. концентрации (1%, 5%, 10%, 15%)
С+	Группа, подвергнутая исключительно лечению SN
ДППГ	2,2-дифенил-1-пикрилгидразил
ЭБХ	Гидролат бузины
Фпг	формамидо-пиринидин[farу]-ДНК-гликозилаза
ГСБ	Индикатор генетического повреждения
ПХР	Пероксидаза хрена
ХВА	Гомованилиновая кислота
H2O2	Пероксид водорода
РВМС	Мононуклеары периферической крови
ПБС	Фосфатно-солевой буфер
СН	Стрептонигрин
ТЭАК	Эквивалентная антиоксидантная способность Тролокса

Рекомендации

1. Лю, Ж.-К. Натуральные продукты в косметике. Нат. Прод. Биоперспектива. 2022, 12, 40. [\[CrossRef\]](#)

2. Малеш И.; Педишич, С.; Зорич, З.; Элез-Гарофулик, И.; Репаич, М.; Ты я.; Владимир-Кнежевич, С.; Буторак, Д.; Драгович-Узелац, В. лекарственные и ароматические растения как ингредиенты при производстве функциональных напитков. Дж. Функц. Продукты питания 2022, 96, 105210. [\[CrossRef\]](#)

3. Цены.; Прайс, Л. Ароматерапия для медицинских работников, 2-е изд.; Черчилль Ливингстон: Лондон, Великобритания, 1999 г.

4. Суй, К.; Ли, К.; Ван, Н.; Лю, Д.; Го, К. Идентификация и различение ароматических свойств и биологически активных компонентов пяти коммерческие эфирные масла семян сельдерея (Apium Graveolens L.) с использованием E-nose, HS-GC-IMS и GC-MS. ЛВТ 2023, 184, 115094. [\[Перекрестная ссылка\]](#)

5. Гонсалвес, С.; Гайван, И. Натуральные ингредиенты, распространенные в регионе Трас-уш-Монтес (Португалия) для использования в косметической промышленности: Обзор химического состава и антигенотоксических свойств. Молекулы 2021, 26, 5255. [\[CrossRef\]](#) [\[ПабМед\]](#)

6. Тиралонго, Э.; Ви, С.; Леа, Р. Добавки из ягод бузины уменьшают продолжительность простуды и уменьшают ее симптомы у авиапутешественников: случайный результат оптимизированное двойное слепое плацебо-контролируемое клиническое исследование. Питательные вещества 2016, 8, 182. [\[CrossRef\]](#)

7. Лю, Д.; Он, Х.-Q.; Ву, Д.-Т.; Ли, Х.-Б.; Фэн, Ю.-Б.; Цзоу, Л.; Ган, Р.Ю. Бузина (*Sambucus nigra* L.): биоактивные соединения, функции здоровья и применение. Дж. Агрик. Пищевая хим. 2022, 70, 4202–4220. [\[Перекрестная ссылка\]](#) [\[ПабМед\]](#)

8. Гонсалвеш, С.; Гайван, И. Красавица и ядовитый зверь: использование кометного анализа для изучения антигенотоксичности натуральных ингредиентов. В области косметической продукции, новых достижений и применений в отрасли; Ахмад, Д.Ю., Ахтар, П.Дж., ред.; IntechOpen: Риека, Хорватия, 2023 г. [\[Перекрестная ссылка\]](#)

9. Проенса да Кунья, А.; Перейра да Силва, А.; Коста, Мэриленд; Родригеш Роке, О.; Проенса да Кунья, Х.; Проэнса Португалия, М. «Руководство по выращиванию растений» — «Фармако- и клинические основы»; Диналивро: Лиссабон, Португалия, 2017 г.

10. Тиссеран Р.; Янг, Р. Безопасность эфирных масел – Руководство для медицинских работников, 2-е изд.; Elsevier: Амстердам, Нидерланды. земли, 2014 г. [\[CrossRef\]](#)

11. Сьерра, Л.М.; Гайван И. (ред.) Генотоксичность и восстановление ДНК; Спрингер: Нью-Йорк, штат Нью-Йорк, США, 2014 г. [\[CrossRef\]](#)

12. Коллинз, А.Р. Кометный анализ повреждения и восстановления ДНК: принципы, применение и ограничения. Мол. Биотехнология. 2004, 26, 249–261. [\[Перекрестная ссылка\]](#)

13. Олив, Польша; Банат, Дж. П. Анализ кометы: метод измерения повреждения ДНК в отдельных клетках. Нат. Протокол. 2006, 1, 23–29. [\[Перекрестная ссылка\]](#) [\[ПабМед\]](#)

14. Бенхусейн, ГМ; Матч, Э.; Абурави, С.; Уильямс, Ф.М. Генотоксический эффект перекиси водорода в гепатоме человека клетки с использованием кометного анализа. Ливийский J. Med. 2010, 5, 4637. [\[CrossRef\]](#)

15. Фэйрберн, Д.В.; Олив, Польша; О'Нил, К.Л. Анализ кометы: всесторонний обзор. Мутат. Рез. Жене. Токсикол. 1995, 339, 37–59. [\[Перекрестная ссылка\]](#)

16. Хартманн А. Рекомендации по проведению щелочного анализа Comet in vivo . Мутагенез 2003, 18, 45–51. [\[Перекрестная ссылка\]](#) [\[ПабМед\]](#)

17. Сингх, Н.П.; Стивенс, Р.Э. Электрофорез в микрогеле: чувствительность, механизмы и электрорастяжение ДНК. Мутат. Рез. Ремонт 1997 г., 383, 167–175. [\[Перекрестная ссылка\]](#) [\[ПабМед\]](#)

18. Валлетта, Э.А.; Бертон, Г. Десенсибилизация кислородного метаболизма макрофагов на иммобилизованных лигандах: различные эффекты им-Муноглобулин G и комплемент. Дж. Иммунол. 1987, 138, 4366–4373. [\[Перекрестная ссылка\]](#) [\[ПабМед\]](#)

19. Парк, Ю.-С.; Товантакаванит, К.; Ковальска, Т.; Юнг, С.-Т.; Хэм, К.-С.; Хео, Б.-Г.; Чо, Ж.-Ю.; Юн, Ж.-Г.; Ким, Х.-Дж.; Горинштейн, С. Биоактивные соединения, антиоксидантная и антипролиферативная активность корейских сортов белого лотоса. Дж. Мед. Еда 2009, 12, 1057–1064. [\[Перекрестная ссылка\]](#) [\[ПабМед\]](#)

20. Йен, ГК; Дух, П.Д. Очищающее действие метанольных экстрактов шелухи арахиса на свободные радикалы и виды активного кислорода. Дж. Агрик. Пищевая хим. 1994, 42, 629–632. [\[Перекрестная ссылка\]](#)

21. Хейл А. Летучие соединения бузины (*Sambucus nigra* L.). Нат. Эссенция летучих веществ. Масла 2014, 1, 51–54.

22. Сечилмиш Канбей, Х. Эффективность жидкостно-жидкостной экстракции, твердофазной экстракции и метода парового пространства для определения некоторых летучих водорастворимых соединений розовой ароматической воды. Межд. Дж. Анал. хим. 2017, 2017, 4870671. [\[CrossRef\]](#)

23. Клаф, С.Р. Гексан. В Энциклопедии токсикологии, 3-е изд.; Векслер, П., ред.; Академическое издательство: Оксфорд, Великобритания, 2014 г.; стр. 900–904. [\[Перекрестная ссылка\]](#)

24. Сильва, П.; Феррейра, С.; Нуньес, Ф.М. Бузина (*Sambucus nigra* L.) является источником антоцианов и антиоксидантных полифенолов. Индийский урожай сельскохозяйственных культур. 2017, 95, 227–234. [\[Перекрестная ссылка\]](#)

25. Кобаякава, Т.; Тамamura, Х. Глава седьмая — изостеры хлоралкендипептидов как пептидомиметики. В методах энзимологии; Петерссон, Э.Дж., редактор; Academic Press: Кембридж, Массачусетс, США, 2021 г.; Том 656, стр. 191–239.

26. Пан, Х.; Сяо, Ю.; Се, А.; Ли, З.; Дин, Х.; Юань, Х.; Сан, Р.; Пэн, К. Антибактериальный механизм выделенной фенилуксусной кислоты. от *Bacillus megaterium* L2 против *Agrobacterium tumefaciens*. ПерДж 2022, 10, e14304. [\[Перекрестная ссылка\]](#)

27. Чой, Х.С.; Ким, С.-Л.; Ким, Ж.-Х.; Ко, Ю.-К.; Ли, Д.-С. Летучие растения фенилацетальдегида воздействуют на стволовые клетки рака молочной железы Индукция АФК и регуляция сигнала Stat3. Антиоксиданты 2020, 9, 1119. [\[CrossRef\]](#)

28. Ласекан, О.; Теох, Л.С. Вклад ароматических соединений в антиоксидантные свойства жареного белого батата (*Dioscorea rotundata*). БМК Хим. 2019, 13, 133. [\[CrossRef\]](#) [\[ПабМед\]](#)

29. Янагимото, К.; Ли, К.-Г.; Очи, Х.; Шибамото, Т. Антиоксидантная активность гетероциклических соединений, обнаруженных в летучих веществах кофе, полученных реакцией Майяра. Дж. Агрик. Пищевая хим. 2002, 50, 5480–5484. [\[Перекрестная ссылка\]](#) [\[ПабМед\]](#)

30. Элизия И.; Китс, Д.Д. Количественное определение гексаналя как показателя окисления липидов в грудном молоке и его связи с антиоксидантами компоненты. Дж. Клин. Биохим. Нутр. 2011, 49, 147–152. [\[Перекрестная ссылка\]](#) [\[ПабМед\]](#)

31. Пигатто, П. Д.; Диани, М. Благоприятное воздействие антиоксиданта фуллурипальмитата при нефармакологических методах лечения (смягчающие средства, отпускаемые по рецепту, PED) при атопическом дерматите и связанных с ним кожных заболеваниях. Дерматол. Там. 2018, 8, 339–347. [\[Перекрестная ссылка\]](#)

32. Юришич Грубешич, Р.; Назлич, М.; Милетич, Т.; Вуко, Э.; Вулетич, Н.; Любенков И.; Дункиц, В. Антиоксидантная способность свободных летучих соединений *Olea europaea* L. cv. Листья *Oblica* в зависимости от стадии вегетации. Антиоксиданты 2021, 10, 1832. [\[CrossRef\]](#) [\[ПабМед\]](#)

33. Нанди, А.; Ян, Л.-Дж.; Яна, СК; Дас, Н. Роль каталазы в дегенеративных заболеваниях, связанных с окислительным стрессом и возрастом. Оксид. Мед. Клетка. Лонгев. 2019, 2019, 9613090. [\[CrossRef\]](#) [\[ПабМед\]](#)

34. Чанвун, Т.; Мухамад, Н.; Чирапонгсатонкул, Н.; Чернгчоу, пероксидаза суспензии клеток *N. Nevea brasiliensis*: очистка, характеристика и применение для обесцвечивания красителей. АМБ Экспресс 2013, 3, 14. [\[CrossRef\]](#)
35. Ли, К.Дж.; О, ЮК; Чо, ВК; Ма, Дж. Я. Определение антиоксидантной и противовоспалительной активности ста видов чистых химических соединений с использованием автономного и онлайн-скринингового анализа ВЭЖХ. Дополнение на основе Evid. Альтернативный. Мед. ЕСАМ 2015, 2015, 165457. [\[CrossRef\]](#)

Отказ от ответственности/Примечание издателя: Заявления, мнения и данные, содержащиеся во всех публикациях, принадлежат исключительно отдельному автору(ам) и соавторам(ам), а не MDPI и/или редактору(ам). MDPI и/или редактор(ы) не несут ответственности за любой вред людям или имуществу, возникший в результате любых идей, методов, инструкций или продуктов, упомянутых в контенте.