

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ РАСТИТЕЛЬНОГО СРЕДСТВА

П.Б. Лубсандоржиева*, канд. фарм. наук, Т.А. Ажунова, докт. биол. наук
Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН;
670047, Улан-Удэ, ул. М. Сахьямовой, д.5.

*E-mail: bpun-sic@mail.ru

Антиоксидантную активность растительного средства сухие экстракты из крапивы двудомной, травы горца птичьего, тысячелистника обыкновенного, мелкоизмельченные порошки корневищ имбиря лекарственного и коры корицы китайской *in vivo* изучали на модели цитостатической болезни у крыс, вызванной внутрибрюшинным введением циклофосфана в дозе 7 мг/кг 1 раз в день в течение 10 дней. 5-компонентное средство вводили *per os* в форме водного раствора в экспериментально-терапевтической дозе 50 мг/кг и объеме 10 мл/кг 1 раз в день в течение 10 дней в форме водной суспензии. Антиоксидантное действие композиции было подтверждено экспериментально *in vivo*.

Ключевые слова: крапива двудомная, *Urtica dioica* L., горец птичий, *Polygonum aviculare* L., тысячелистник обыкновенный, *Achillea millefolium* L., имбирь лекарственный, *Zingiber officinale*, *Roscoe*., корица китайская, *Cinnamomum cassia* L., растительная композиция, антиоксидантная активность.

Согласно многочисленным исследованиям, развитие злокачественных новообразований в организме и применение химиотерапевтических препаратов сопровождается мембранотоксическим действием, связанным с интенсификацией процессов липопероксидации, генерацией свободных радикалов [4]. Биологически активные вещества (БАВ) растительных средств, обладающие антиоксидантной активностью (АОА), важны для защиты повреждения клеток от агрессивного воздействия свободных радикалов, присутствующих в пище, или генерированных в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ). Наиболее высокой АОА обладают фенольные соединения в силу своей структурной особенности, наличия гидроксильных групп. Из фенольных соединений флавоноиды являются одними из основных пищевых антиоксидантов, оказывающих благотворное влияние при различных патологических состояниях в ЖКТ [5]. Ранее нами была разработана рецептура растительного средства (условное название – «Эритрофит»), обладающего антиязвенной, антистрессорной и гемостатической активностью, в состав которого входят мелкоизмельченные порошки имбиря лекарственного *Zingiber officinale Roscoe*, корицы китайской *Cinnamomum cassia* L., сухие экстракты из листьев крапивы двудомной *Urtica dioica* L., травы горца птичьего *Polygonum aviculare* L., тысячелистника обыкновенного *Achillea millefolium* L.

Цель данной работы – определить антиоксидантную активность растительного средства «Эритрофит» *in vitro* и *in vivo*.

Экспериментальная часть

Сырье для получения экстрактов из отдельных видов лекарственного растительного сырья (ЛРС) было приобретено в аптечной сети, пряности производства Новосибирского пищевого комбината – в торговой сети.

Сухие экстракты из ЛРС получали последовательной экстракцией этиловым спиртом высокой (80%) и средней концентрации (40%) при комнатной температуре, и горячей водой (100°C) для более полного извлечения разнополярных групп БАВ. Выход экстракта от массы сухого сырья тысячелистника составил 29,5%, крапивы – 32,5%, горца птичьего – 20,5%. Отвары (1:10) готовили по фармакопейному методу. Содержание БАВ в образцах определяли по описанным в литературе методикам: дубильных веществ – титриметрическим методом в пересчете на таннин, аскорбиновой кислоты – спектрофотометрическим методом с использованием реакции с форфорно-молибденовым комплексом, полисахаридов – гравиметрическим методом, флавоноидов – дифференциальным спектрофотометрическим методом с использованием алюминия хлористого.

Для установления спектра АОА Эритрофита и его компонентов использовали ранее описанные в литературе нитропруссидный метод для определения NO-связывающей активности; фенантролиновый метод – для Fe²⁺-хелатирующей активности; спектрофотометрическую методику для определения радикалсвязывающей активности супероксидных анионов; методику с желточными липопротеидами для определения ТБК-активных продуктов.

Эксперименты были проведены на крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой 160–170 г. Животные содержались в стандартных условиях, на обычном для указанного вида животных рационе при свободном доступе к воде и пище. Эксперименты осуществлялись в соответствии с требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA) и Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей. Для моделирования цитостатической болезни у белых крыс применяли циклофосфан, который непосредственно перед экспериментом растворяли в

физиологическом растворе и вводили лабораторным животным внутривенно в максимально переносимой дозе (МПД), равной 7 мг/кг 1 раз в сутки в течение 10 дней. Испытуемое 5-компонентное средство животным опытной группы вводили *per os* в форме водного раствора в экспериментально-терапевтической дозе 50 мг/кг и объеме 10 мл/кг 1 раз в день в течение всего эксперимента. Крысы контрольной группы получали эквивалентное количество дистиллированной воды по аналогичной схеме. Исследования проводились через 7 суток от начала эксперимента.

Для оценки состояния антиоксидантной системы и интенсивности процессов ПОЛ крови определяли вторичные продукты ПОЛ, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой (МДА), активность ферментов антиокислительной защиты – каталазы и супероксиддисмутазы по методикам, описанным ранее в литературе. Для обработки результатов использовали программы Advanced Grapher 2.0, Statistica 6.0. Различия между экспериментальными группами по исследуемым параметрам считали значимыми при стандартном для медико-биологических экспериментов $p \leq 0,05$.

Установлено, что отдельные экстракты и Эритрофит содержат большое количество фенольных антиоксидантов – дубильных веществ, флавоноидов, и их синергистов – аскорбиновой кислоты и полисахаридов (табл. 1).

Определение спектра АОА Эритрофита и его компонентов (табл. 2) свидетельствует о существенном ингибирующем влиянии исследуемых образцов на процессы свободнорадикального окисления (СРО) в тестируемых системах. Железосвязывающая активность водных извлечений убывает в ряду: крапива двудомная > горец птичий > кора китайская > тысячелистник обыкновенный > Эритрофит = имбирь лекарственный.

Фенольные АО посредством хелатирования ионов переходных металлов уменьшают их способность инициировать образование реактивных радикалов [3]. В данной тест-модели наиболее эффективны экстракты крапивы и горца, Fe^{2+} -хелатирующая активность которых проявляется в наименьшей концентрации IC_{50} – 47 и 97 мкг/мл соответственно (см. табл. 2). Вышеуказанные экстракты отличаются высоким содержанием полисахаридов (см. табл. 1), которые, как известно, являются адсорбентами металлов в ЖКТ.

Степень связывания супероксидного анион-радикала извлечений убывает в ряду: имбирь лекарственный > Эритрофит > крапива двудомная > горец птичий > кора китайская > тысячелистник обыкновенный (см. табл. 2). Супероксидные радикалы утилизируют кислород в процессах обмена, но в избыточных концентрациях токсичны, в первую очередь – как источник гидроксильных радикалов, вызывающих окислительное повреждение липидов, белков, ДНК и других компонентов клетки [3]. Из отдельных компонентов Эритрофита наиболее эффективной радикал-связывающей активностью обладают имбирь, горец птичий и крапива (см. табл. 2), что согласуется с данными литературы [2, 5].

NO-связывающая активность убывает в ряду: кора > крапива > горец птичий > Эритрофит > тысячелистник > имбирь (см. табл. 2). Защитное действие NO как антиоксиданта может быть

СОДЕРЖАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ЭРИТРОФИТЕ И ЕГО КОМПОНЕНТАХ

Таблица 1

Наименование	Содержание, %			
	дубильные вещества	аскорбиновая кислота	флавоноиды	полисахариды*
Эритрофит	4,72±0,03	6,58±0,05	1,51±0,01	9,7
Корицы отвар (1:10)	2,76±0,02	3,97±0,03	–	4,2
Имбиря отвар (1:10)	0,72±0,02	2,50±0,01	–	4,6
Тысячелистника экстракт сухой	17,97±0,19	5,13±0,02	3,89±0,02	7,3
Горца птичьего экстракт сухой	13,00±0,17	6,80±0,05	7,20±0,05	18,0
Крапивы экстракт сухой	9,18±0,08	8,58±0,06	1,96±0,16	28,9

Примечание: Прочерк означает, что вещества не определялись; * – среднее из 3 определений.

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭРИТРОФИТА И ЕГО КОМПОНЕНТОВ IN VITRO

Таблица 2

Наименование	Концентрация*, IC_{50} , мкг/мл			
	Fe^{2+} -хелатирующая активность	связывание молекул NO	связывание $O_2^{\cdot-}$	ингибирование образования МДА
Эритрофит, отвар (1:10)	138,0	327,0	123,6	372
Имбиря отвар (1:10)	139,0	594,0	62,0	266,5
Корицы отвар (1:10)	109,0	33,1	382,0	92,5
Тысячелистника экстракт сухой	121,0	433,5	479,0	234
Горца птичьего экстракт сухой	97,0	261,0	270,5	286,5
Крапивы экстракт сухой	47,0	117,0	261,0	1097,4

Примечание. * – концентрация препарата, необходимая для 50% ингибирования процесса окисления; Fe^{2+} – ионы железа; NO – оксид азота; $O_2^{\cdot-}$ – супероксидный радикал; МДА – малоновый диальдегид.

ВЛИЯНИЕ ЭРИТРОФИТА НА АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ КРОВИ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ЦИКЛОФОСФАНА

Показатели	Группы животных		
	интактная	контрольная (циклофосфан + H ₂ O)	опытная (циклофосфан + Эритрофит)
МДА, мкмоль/л	4,50±0,21	7,81±0,32	5,11±0,21*
Каталаза, мкат/л	16,70±1,22	9,13±0,43	14,66±1,00*
СОД, ед. активности	13,54±1,40	8,55±0,88	11,22±1,15*

Примечание. * – различие достоверно между контрольной и опытной группами при p<0,05.

обусловлено замедлением обменных процессов и сохранением запасов энергии в гепатоцитах [1]. В данной тест-системе наиболее эффективной NO-связывающей активностью обладают БАВ корицы, активность которых превышает таковую Эритрофита почти в 10 раз. Экстракты крапивы и горца птичьего имеют средние значения IC₅₀ (см. табл. 2).

АОА испытуемых средств на модели с желточными липопротеидами убывает в ряду: корица > тысячелистник > имбирь > горец птичий > Эритрофит > крапива (см. табл. 2). Горец птичий, имбирь и тысячелистник имеют сопоставимые значения IC₅₀. Экстракт крапивы наименее эффективен в модели с липопротеидами, что соответствует данным литературы [6], где экстракт крапивы ингибировал ПОЛ в больших концентрациях.

В плазме крови животных на фоне введения циклофосфана (табл. 3) выявлено увеличение конечных продуктов липопероксидации биомолекул, что проявлялось ростом уровня МДА, а также отмечалось снижение активности каталазы и уровня СОД на 46 и 37% соответственно по сравнению с данными у интактных крыс. Эритрофит способствовал снижению содержания МДА на 35%, его курсовое введение сопровождалось повышением активности каталазы на 60%, СОД – на 31% по сравнению с данными у крыс, получавших только циклофосфан.

Таким образом, Эритрофит в экспериментально-терапевтической дозе оказывает антиоксидантное действие на фоне введения циклофосфана подопытным животным.

Выводы

1. Растительное средство Эритрофит и его отдельные компоненты – экстракты сухие из листьев крапивы двудомной, травы горца птичьего, тысячелистника обыкновенного, мелкоизмельченные порошки имбиря лекарственного и корицы китайской – обладают антиоксидантной активностью в разных тест-системах

in vitro. Из компонентов Эритрофита сухой экстракт крапивы двудомной обладает наиболее эффективной Fe²⁺-хелатирующей активностью, водорастворимые вещества имбиря лекарственного – супероксид радикалсвязывающей активностью, корицы китайской – NO-связывающей и ингибирующей образование МДА активностью.

2. Под воздействием Эритрофита у животных на фоне введения циклофосфана наблюдается повышение активности каталазы и супероксиддисмутазы, снижение содержания малонового диальдегида, что свидетельствует о выраженной антиоксидантной активности.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Близнецова Г.Н. Пероксидное окисление липидов, антиоксидантная система и оксид азота при токсическом повреждении печени: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Воронеж, 2004, 24. (Bliznetsova G.N. Lipid peroxidation, antioxidant system and nitric oxide in toxic liver injury: Author abstract of the dissertation ... cand. biol. sciences. Voronezh, 2004; 24 (in Russian)).
2. Cai Y.-Z., Luo Q., Sun M., Corke H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*. 2004; 74: 2157–2184.
3. Critical reviews of oxidative stress and aging. *Advances in Basic Science, Diagnostics and Intervention*. Ed. R.G. Cutler, H. Rodriguez. New Jersey, London, Singapore, Hong Kong: World scientific. 2003; 822.
4. Griffiths H. Antioxidant and protein oxidation. *Free Rad. Res*. 2000. 33: 47–58.
5. Halliwell B. Dietary polyphenols: good, bad, or indifferent for your health? *Cardiovascular Research*. 2007. 73: 341–347.
6. Krishnaiah D., Sarbaty R., Nithyanandam R. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts processing*. 2011; 89: 217–233.

Поступила 3 марта 2015 г.

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF HERBAL AGENT

P.B. Lubsandorzheva, PhD; T.A. Azhunova, PhD

Institute of General and Experimental Biology, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; 5, M. Sakh'yamova St., Ulan-Ude 670047

SUMMARY

Plant composition and its individual components, such as dry extracts from the leaves of stinging nettle (*Urtica dioica* L.), knotweed (*Polygonum aviculare* L.), and common yarrow (*Achillea millefolium* L.) and finely ground powders of ginger (*Zingiber officinale*, Roscoe.) rhizomes and Chinese cinnamon (*Cinnamomum cassia* L.) bark, have antioxidant activity in different *in vitro* test systems. The most effective activity is shown by dry *Urtica dioica* extract (Fe²⁺ chelating activity), water-soluble substances of *Zingiber officinale* (a superoxide radical binding agent), and *Cinnamomum cassia* (NO-binding and MDA-inhibitory activities). The antioxidant activity of an herbal agent has been borne out by *in vivo* experiments using a rat cytostatic disease model caused by intraperitoneal cyclophosphan injection. The plant composition in the animals receiving cyclophosphan was observed to enhance catalase and superoxide dismutase activities and to decrease malondialdehyde levels.

Key words: stinging nettle (*Urtica dioica* L.), knotweed (*Polygonum aviculare* L.), common yarrow (*Achillea millefolium* L.), ginger (*Zingiber officinale*, Roscoe.), Chinese cinnamon (*Cinnamomum cassia* L.), plant composition, antioxidant activity.