

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ДИКОРАСТУЩИХ И КУЛЬТИВИРУЕМЫХ РАСТЕНИЙ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

О.С. Чуйкин, Э.Х. Галиахметова, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина, Р.Р. Фархутдинов
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России (г. Уфа)

Comparison of antioxidant activity of wild and cultured plants of Bashkortostan

O.S. Chuikin, E.K. Galiakhmetova, S.R. Khasanova, N.V. Kudashkina, R.R. Farkhutdinov
Bashkir State Medical University (Ufa, Russia)

РЕЗЮМЕ

В статье представлены исследования по изучению антиоксидантной активности листьев боярышника кроваво-красного, лимонника китайского и их смеси. Антиоксидантную активность определяли двумя методами. Спектрофотометрическим методом изучали способность ингибировать реакцию аутоокисления адреналина в щелочной среде. Вторым методом определения антиоксидантной активности *in vitro* исследовали способность объектов снижать интенсивность хемилюминесценции. В эксперименте листья боярышника кроваво-красного, лимонника китайского и их смесь в различных модельных системах в той или иной степени угнетали скорость образования активных форм кислорода и снижали скорость перекисного окисления липидов.

Ключевые слова: листья боярышника кроваво-красного, листья лимонника китайского, растительная композиция, антиоксиданты, хемилюминесценция, свободно-радикальное окисление.

RESUME

The article presents the research of antioxidant activity hawthorn leaves of blood-red, leaves of schizandra chinensis and their mixture. Antioxidant activity was determined by 2 methods. The first method is spectrophotometry. Antioxidant properties were determined by their ability to inhibit the autooxidation reaction of adrenaline. The second method is chemiluminescence. It is based on the ability to reduce the intensity of luminescence. In the experiment the leaves of the hawthorn blood-red, leaves of schizandra chinensis and their mixtures reduced the rate of formation of reactive oxygen species and reduced the rate of lipid peroxidation.

Keywords: the leaves of hawthorn blood-red, leaves of schizandra chinensis, plant composition, antioxidants, chemiluminescence, free radical oxidation.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в официальной медицине нет примеров использования лекарственных растений для пренатальной профилактики врожденных аномалий челюстно-лицевой области. Причинами возникновения данных аномалий является сочетание эндогенных (мутации, заболевания обмена веществ, «перезревание» половых клеток) и экзогенных (радиация, лекарственные и химические вещества, гипоксия, вирусы, микоплазмы и др.) этиологических факторов. То есть для возникновения таких форм необходимо наличие генетической подверженности (предрасположенности) и воздействие каких-либо неблагоприятных

факторов среды, способствующих реализации подверженности в порок развития [4, 7]. Поэтому актуальным является поиск безопасных средств природного происхождения, обладающих антигипоксическим и антиоксидантным действием, для использования в профилактических целях при данной патологии. Сейчас большое внимание уделяется изучению антиоксидантных свойств лекарственного растительного сырья и препаратов на их основе. Это обусловлено тем, что многие жизненно важные метаболические и физиологические процессы, протекающие в организме, тесно связаны со свободно-радикальным окислением и снижением естественной антиоксидантной активнос-

ти, вызывающими в организме значительные патологические изменения, которые могут являться причиной различных заболеваний.

Перспективными видами лекарственного растительного сырья являются листья боярышника и лимонника. На территории Российской Федерации встречаются 36 видов рода боярышник *Crataegus*. На территории Республики Башкортостан в диком виде произрастает один вид боярышника – боярышник кроваво-красный – *Crataegus sanguinea* Pall. Лимонник китайский *Shisandra chinensis* Baill. является растением дальневосточной флоры, которое прекрасно адаптировалось в Республике Башкортостан.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение антиоксидантной активности листьев лимонника китайского и боярышника кроваво-красного, а также растительной композиции вышеуказанных растений спектрофотометрическим и хемилюминесцентным методами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для исследования были использованы следующие образцы сырья: листья лимонника китайского (*Shisandra chinensis* Baill., Shisandraceae), заготовленные от культивируемых на территории Республики Башкортостан растений, листья боярышника кроваво-красного (*Crataegus sanguinea* Pall., Rosaceae), заготовленные от дикорастущих растений флоры Башкортостана в 2014–2016 гг., и смесь листьев вышеуказанных растений, взятых в равных количествах, которой мы дали название «Лимбор».

Водные извлечения изучаемых объектов готовили по методике ГФ XIII издания (соотношение 1:10) [2]. Антиоксидантную активность определяли двумя методами. При использовании спектрофотометрического метода скорость реакции оценивали по величине оптической плотности накапливающегося продукта аутоокисления адреналина, имеющего поглощение при длине волны 347 нм, образующегося в используемой модельной системе [5].

Для этого к 4 мл 0,2 М раствора карбоната натрия (рН = 12) добавляли 0,2 мл 0,1 % раствора адреналина гидрохлорида, тщательно перемешивали и измеряли на спектрофотометре оптическую плотность через 10 минут при длине волны 347 нм в кювете толщиной 10 мм

(D₁). Затем к 4 мл 0,2 М раствора карбоната натрия (рН = 12) добавляли 0,02 мл исследуемого извлечения и 0,2 мл 0,1 % раствора адреналина гидрохлорида, перемешивали и измеряли оптическую плотность, как описано выше (D₂). Для учета влияния собственной окраски извлечений, которые поглощают определенную длину волны в видимой части спектра, в качестве контрольной пробы использовали 0,2 М раствора карбоната натрия с добавлением 0,02 мл исследуемого извлечения. Измерение проводили на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 в шести повторностях в одинаковых условиях. Антиоксидантную активность (АОА) исследуемых образцов выражали в процентах ингибирования аутоокисления адреналина и вычисляли по формуле: $АОА = (D_1 - D_2) \times 100 / D_1$.

Значение АОА выше 10 % свидетельствовало о наличии антиоксидантной активности в исследуемом объекте.

В методе 2 для определения антиоксидантной активности *in vitro* использовали способность исследуемых объектов снижать интенсивность хемилюминесценции [1].

Водные извлечения (от 0,01 до 0,5 мл) вносили в различные модельные системы (20 мл), в которых генерировалось образование активных форм кислорода (АФК), и протекали реакции перекисного окисления липидов (ПОЛ) как наиболее распространенные процессы свободно-радикального окисления.

В качестве первой модельной системы использовали 20 мл фосфатного буфера с добавлением цитрата и люминола (рН = 7,5). В качестве инициатора окисления добавляли 1 мл 50 мМ раствора сернокислого железа. Окисление солей железа приводит к появлению кислородных радикалов и сопровождается хемилюминесценцией, усиливающейся в присутствии люминола. Регистрацию свечения проводили в течение 5 минут.

В качестве второй модели для оценки действия препаратов на ПОЛ из куриного желтка готовили липопротеиновые комплексы, сходные с липидами крови. Желток смешивали с фосфатным буфером в соотношении 1:5 и гомогенизировали. Хемилюминесценцию иницировали добавлением 1 мл 50 мМ раствора сернокислого железа, запускающего процесс окисления ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав липидов.

Контролем служили модельные системы без добавления исследуемых видов лекар-

ственного растительного сырья. Регистрацию свечения проводили на приборе «ХЛМ-003». Антиокислительную активность оценивали по снижению интенсивности свечения (табл. 2).

В качестве препарата сравнения использовали 0,05 % раствор рутина – флавоноида растительного происхождения, антиоксидантное действие которого установлено [3]. Выбор в качестве препарата сравнения рутин связан с тем, что, согласно многочисленным исследованиям, антиоксидантная активность растительных объектов обуславливается в основном присутствием в них флавоноидов [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

С использованием спектрофотометрической методики изучения АОА были получены следующие результаты (рис. 1.).

На рис. 1 видно, что все исследуемые объекты снижали оптическую плотность, тем самым снижая скорость аутоокисления адреналина. На основании полученных данных были рассчитаны их величины АОА, согласно формуле, приведенной выше (табл. 1).

Согласно полученным данным, все исследуемые объекты обладают антиоксидантной

активностью (более 10 %). Наиболее выраженная АОА наблюдается у листьев лимонника китайского, превышающая АОА препарата сравнения ($p < 0,05$). АОА листьев боярышника кроваво-красного незначительно выше, чем у смеси «Лимбор» и препарата сравнения, но различия данных не являются достоверными ($p > 0,05$).

Результаты исследования антиоксидантной активности методом хемилюминесценции представлены в табл. 2.

Из результатов, представленных в таблице, видно, что настой из листьев лимонника китайского снижает образование активных форм кислорода (светосумму свечения) в дозах от 0,01 до 0,5 мл от 39 % до 91 %, настой из листьев боярышника кроваво-красного – от 66 % до 81 %, настой «Лимбор» – от 36 % до 83 %, рутин (препарат сравнения) в тех же дозах от 39 % до 85 %. Исследуемые объекты влияли и на скорость ПОЛ, снижая ее в среднем: настой из листьев лимонника китайского от 23 % до 90 %, настой из листьев боярышника кроваво-красного – от 30 % до 90 %, настой «Лимбор» – от 22 % до 86 %, рутин (препарат сравнения) в тех же дозах от 26 % до 46 % в зависимости от дозы. Анализируя полученные данные, можно

говорить о том, что все исследуемые объекты снижают образование АФК и уменьшают скорость ПОЛ и не уступают препарату сравнения, а в модели ПОЛ превышают. Необходимо отметить, что препарат сравнения в отличие от объектов исследования, влияет в основном только на снижение образования АФК.

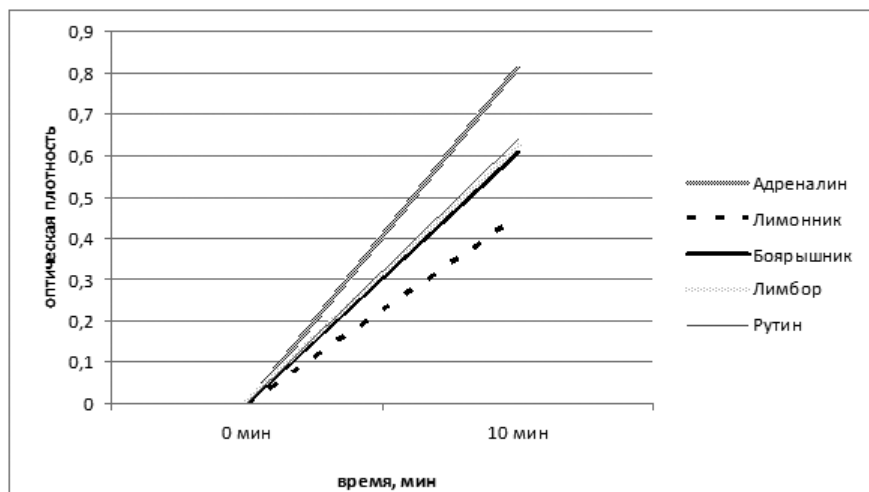


Рис. 1. Изменения оптической плотности в присутствии в модельной системе объектов исследования.

Таблица 1

Результаты исследования антиоксидантной активности спектрофотометрическим методом (n = 6)

№	Объект исследования	Величина АОА
1	Настой листьев лимонника китайского	44,1 ± 2,4 %
2	Настой листьев боярышника кроваво-красного	24,9 ± 1,3 %
3	Настой «Лимбор»	22,2 ± 1,1 %
4	Рутин 0,05 % (препарат сравнения)	20,7 ± 1,1 %

Таблица 2

**Влияние исследуемых объектов в различных концентрациях на хемилюминесценцию
в различных модельных системах (n = 6)**

	Объем, мл	Модель АФК		Модель ПОЛ	
		Светосумма свечения	% снижения контроля	Светосумма свечения	% снижения контроля
Контроль		58,8 ± 3,54	100	14,34 ± 0,43	100
Листья боярышника (настой)	0,01	19,8 ± 0,67	66,3*	9,93 ± 0,49	30,8*
	0,05	15,9 ± 0,65	72,9*	2,74 ± 0,14	81,0*
	0,1	10,8 ± 0,07	81,6*	1,37 ± 0,05	90,5*
Листья лимонника (настой)	0,01	35,86 ± 2,61	39,0*	11,0 ± 0,59	23,3*
	0,05	16,21 ± 0,53	72,4*	3,55 ± 0,14	75,2*
	0,1	4,86 ± 0,25	91,7*	1,33 ± 0,04	90,7*
Лимбор (настой)	0,01	37,55 ± 2,06	36,1*	11,19 ± 0,63	22,0*
	0,05	19,44 ± 0,85	70,0*	2,79 ± 0,16	80,5*
	0,1	9,77 ± 0,42	83,4*	1,97 ± 0,06	86,3*
Рутин 0,05 % раствор (препарат сравнения)	0,01	35,52 ± 1,52	39,6*	10,61 ± 0,54	26,0*
	0,05	27,52 ± 1,21	53,2*	9,25 ± 0,44	35,5*
	0,1	8,7 ± 0,47	85,2*	7,72 ± 0,01	46,2*

* – p < 0,05

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В эксперименте на различных модельных системах установлено, что листья лимонника китайского, листья боярышника кроваво-красного и новая растительная композиция на их основе обладают выраженной антиоксидантной активностью, снижая скорость образования активных форм кислорода и скорость перекисного окисления липидов. Представленные результаты дают возможность рекомендовать использование исследуемых видов сырья в отдельности и при совместном присутствии для пренатальной профилактики врожденных пороков челюстно-лицевой области.

ВЫВОДЫ

1. Проведено экспериментальное изучение антиокислительных свойств настоев из листьев лимонника китайского и листьев боярышника кроваво-красного (отдельно и при совместном присутствии) для использования их в стоматологии.

2. Показано, что новая растительная композиция «Лимбор» может являться перспективной лекарственной формой для пренатальной профилактики врожденных пороков челюстно-лицевой области.

ЛИТЕРАТУРА

1. Влияние водных извлечений из некоторых лекарственных растений на процессы свободно-радикального окисления. Рыжикова М.А. [и др.] / Экспериментальная

и клиническая фармакология, 1999. – Т.62. – №2. – С.36–38.

2. Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издания [Электронный ресурс]. – М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2015. – Ч. 2. – 1004 с. – Режим доступа: <http://www.fembru/feml>

3. Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А., Музычкина Р.А., Толстиков Г.А. Природные флавоноиды // Новосибирск: Академизд-во «Гео», 2007. – 232 с.

4. Медицинская и клиническая генетика для стоматологов: учебник для вузов / под ред. О.О. Янушевича. – 2009. – 400 с.

5. Сирота Т.В. Способ определения антиоксидантной активности супероксиддисмутазы и химических соединений // URL.: <http://www.findpatent.ru/patent/214/2144674.html>.

6. Тараховский Ю.С., Ким Ю.А., Абдралилов Б.С., Музафаров Е.Н. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. – Пушкино: Synchronobook, 2013. – 310 с.

7. Тератология человека: руководство для врачей / Под ред. Г.И. Лазюка. – М.: Изд. «Медицина», 1991. – 480 с.

Адрес автора

Д.фарм.н. Хасанова С.Р., профессор кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России

svet-khasanova@yandex.ru