

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ *IN VITRO* ФИТОАНТИОКСИДАНТНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Н. Муйидинова

Ф. М. Тухтабоева

Андижанский Государственный Университет

### АННОТАЦИЯ

Воздействие на организм человека повреждающих факторов, таких как радиация, УФ-облучение, инфекции, частые стрессы, курение, алкоголизм, некачественное питание, способствует истощению защитных сил, в том числе и активности антиоксидантной системы. Результатом таких воздействий является активация процессов свободно-радикального окисления: происходит окислительная модификация белков, нуклеиновых кислот, липидов, ферментов, изменяется структура макромолекул, а также нарушается целостность клетки.

Повышенная интенсивность свободно-радикальных процессов (свободно-радикальная патология) лежит в основе развития таких тяжелых заболеваний, как атеросклероз, инфаркт миокарда, онкологические заболевания, катаракта, бронхиальная астма, а также преждевременное старение организма.

**Ключевые слова:** лекарственные травы, антиоксидантная активность, модельные тест-системы, флавоноиды.

### ВВЕДЕНИЕ

Для профилактики и комплексной терапии перекисной патологии организма используются антиоксиданты - вещества, присутствующие в системах в значительно более низких концентрациях по сравнению с окисляющимся субстратом и тормозящие его окисление. При этом антиоксиданты растительного происхождения обладают комплексным действием и одновременно мягким воздействием на организм и, следовательно, низкой токсичностью, в то время как синтетические антиоксиданты могут проявлять побочные действия. Однако широкое практическое использование фитоантиоксидантов в качестве средств антиоксидантной терапии требует тщательного предварительного изучения их антиоксидантной эффективности *in vitro*. Для оценки *in vitro* антиоксидантного действия препаратов в настоящее время применяют различные модельные системы с использованием пептидов,

белков, углеводов, жирных кислот, перманганата калия, солей железа, бихромата калия и другие модели.

## МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ

Одним из вариантов оценки интенсивности процессов свободно-радикального окисления является хемилюминесцентный метод, который на протяжении нескольких десятилетий используется для изучения фотопревращений белков и пептидов. Модельные системы, в которых критерием антиоксидантного действия является снижение интенсивности хемилюминесценции, сопровождающей процесс окисления или генерации свободных радикалов, получили широкое распространение. При этом одним из направлений исследований является изучение антиоксидантных свойств различных препаратов и биологически активных добавок в модельной системе на основе сенсibilизированного рибофлавином фотоокисления кверцетина и рутина. Процесс фотоокисления кверцетина и рутина является наиболее реальной и перспективной модельной системой для оценки антиоксидантной активности (АОА) препаратов на основе лекарственного растительного сырья. Эта система позволяет проводить оценку антиоксидантной активности сложных фитопрепаратов без предварительного выделения индивидуальных компонентов. Модель позволяет анализировать как водные, так и спиртосодержащие препараты без удаления спирта, что является одним из ее достоинств. Окисление кверцетина и рутина сопровождается активной хемилюминесценцией, интенсивность которой пропорциональна скорости окисления. Индикатором фотоокислительных процессов является изменение интенсивности хемилюминесценции. Критерием эффективности объектов исследования в системе на основе фотоокисления кверцетина и рутина является величина  $C_{1/2}$  (величина, при которой интенсивность хемилюминесценции снижается на 50%). Величина  $C_{1/2}$  препаратов на основе лекарственного растительного сырья выражается в объемных процентах и, как правило, достаточно мала.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Для единой количественной оценки АОА препаратов введен показатель активности - А. Эта величина представляет собой сумму БАВ восстанавливающего характера и выражается количеством миллиграммов

кверцетин и рутина в 1 мл или 1 мг препарата. Чем выше величина А, тем более высокой АОА обладает препарат.

Проведение изучения антиоксидантного действия растительных объектов в единых условиях является актуальной задачей фармацевтического анализа, так как это позволит разработать единые требования к качеству лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе. Однако определение фитоантиоксидантной эффективности в модельной системе на основе фотоокисления кверцетин и рутинов требует специального оборудования, что пока ограничивает широкое применение метода для стандартизации в лабораторных условиях.

В лаборатории физико-химических методов анализа средств природного происхождения в ИКФ НЦ ЭСМП разработан экспресс-метод оценки антиоксидантной активности на основе окислительно-восстановительной реакции с перманганатом калия. При этом результаты исследований, полученные экспресс-методом, удовлетворительно коррелируют с данными оценки фитоантиоксидантной активности хемиллюминесцентным методом, что позволило использовать экспресс-метод для предварительного скрининга различных фитоантиоксидантов.

Для единой количественной оценки АОА препаратов введен показатель активности - В. Эта величина представляет собой сумму биологически активных веществ восстанавливающего характера и выражается количеством миллиграммов кверцетина в 1 мл или 1 мг препарата (объекта). Чем выше величина В, тем более высокой АОА обладает объект.

Необходимо подчеркнуть, что предлагаемая модель оценки фитоантиоксидантной активности имеет свои преимущества:

- довольно проста и не требует использования дорогостоящего оборудования;
- отличается высокой скоростью - анализ одного препарата занимает не более 30 мин;
- обладает достаточной точностью и воспроизводимостью.

Величина фитоантиоксидантной активности является комплексным показателем, характеризующим суммарное содержание действующих веществ различных классов в извлечении из лекарственного растительного сырья. Фитоантиоксидантное действие лекарственных средств растительного происхождения, определяемое качественным составом и количественным содержанием БАВ, значительно зависят от природы используемого экстрагента.

Спиртовые и водно-спиртовые извлечения из лекарственного растительного сырья получают и анализируют по следующей схеме:

- измельчение сырья;
- взятие навески сырья;
- добавление рассчитанного объема воды или 70% спирта (1:10);
- настаивание на кипящей водяной бане с обратным холодильником (15 мин);
- настаивание при комнатной температуре (30 мин);
- процеживание извлечения через двойной слой марли (согласно ГФ XI извлечения из сырья, содержащего дубильные вещества, процеживают в горячем виде);
- доведение объема извлечения до первоначального объема экстрагента;
- центрифугирование полученного извлечения;
- определение антиоксидантного потенциала центрифугата.

В результате сравнительного анализа водных и водно-спиртовых извлечений из лекарственного растительного сырья установлено, что использование в качестве экстрагента водно-спиртовых смесей обеспечивает более полное извлечение биологически активных веществ, обуславливающих фитоантиоксидантный эффект. Сравнительно высоким фитоантиоксидантным потенциалом обладают водно-спиртовые извлечения из листьев толкнянки, корневищ и корней родиолы розовой, почек березы и травы зверобоя; фитоантиоксидантный потенциал водных извлечений из этого лекарственного растительного сырья ниже в два, а для почек березы - в пять раз. Это объясняется тем, что полифенольные соединения, витамины, отдельные гликозиды, некоторые компоненты эфирных масел и т.д. лучше извлекаются органическими экстрагентами, в том числе спиртовыми.

Водно-спиртовые и водные извлечения из лекарственного растительного сырья, основными биологически активными веществами которого являются дубильные вещества, полисахариды, кислоты (кора дуба, цветки лабазника, корни лопуха, плоды черники), имеют приблизительно одинаковый фитоантиоксидантный потенциал. При этом высокий антиоксидантный потенциал проявляют растения адаптогенного действия (родиола розовая, лимонник), а невысокие антиоксидантные свойства имеют растения седативного действия (пустырник, валериана).

Фитоантиоксидантный потенциал является интегральным показателем качества лекарственных средств растительного происхождения и может быть

успешно использован для их стандартизации. Введение теста на антиоксидантную эффективность лекарственного растительного сырья по показателю "фитоантиоксидантный потенциал" лекарственных растений в нормативную документацию позволит:

- быстро и достаточно точно проводить оценку качества используемого лекарственного растительного сырья;
- составлять весовую композицию многокомпонентного препарата на основе лекарственного растительного сырья с заданной антиоксидантной активностью;
- расширить показания к применению препаратов на основе лекарственного растительного сырья;
- определять наиболее селективный растворитель для извлечения действующих веществ из данного лекарственного растительного сырья.

Фитоантиоксидантную активность можно также использовать для скрининга растений с целью расширения номенклатуры лекарственного растительного сырья.

Все это свидетельствует о необходимости расширения исследований антиоксидантных свойств лекарственных растений, фитопрепаратов, биологически активных добавок, разработки и серийного выпуска крайне необходимых для этих исследований приборов.

Изобретение относится к области медицины, фармакологии, фармации и может быть использовано для оценки антиокислительной активности различных лекарственных препаратов, пищевых продуктов и БАДов. Антиоксидантная активность (потенциал) лекарственного препарата есть показатель качества препарата, характеризующий его восстанавливающие свойства, т.е. свойства вступления в реакцию с активными формами кислорода (АФК), как *in vivo* так *in vitro*, которые образуются в организме в присутствии кислорода, при его неполном восстановлении с образованием следующих радикалов:

- супероксидный анион-радикал ( $O^{\cdot-} 1/2$ );
- гидропероксидный радикал ( $CHOO^{\cdot}$ )
- пероксид водорода ( $H_2O_2$ )
- гидроксил радикал ( $HO^{\cdot}$ ) и др.

В случае гипероксидации АФК организма могут выступать в роли радикалов, атакующих липиды в клеточных мембранах, белки тканей, энзимы, полисахариды и ДНК.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Процесс старения и тяжелые заболевания связаны с повреждением организма человека активным кислородсодержащим радикалами, особенно при их избытке или при снижении активности эндогенной антиоксидантной системы организма человека.

### REFERENCES

1. Mierziak J., Kostyn K., Kulma A. Flavonoids as important molecules of plant interaction with the environment // *Molecules*. – 2014. – V. 16. – P. 16240-16265.
2. Pietta P.G. Flavonoids as antioxidants // *J. Nat. Prod.* – 2000. – V. 63. – P. 1035-1042.
3. Hodgson J.M., Puddey I.B., Croft K.D., Burke V. Acute effects of ingestion of black and green tea on lipoprotein oxidation // *American Journal of Clinical Nutrition*. 2000. V. 71. P.1103–1107.
4. Yokozawa T., Cho E., Hara Y. Antioxidative activity of green tea treated with radical initiator 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride // *J. Agric. Food Chem.* 2000. V. 48. P. 5068–5073.
5. Yokozawa T., Erbo D., Nakagawa T., Kashiwagi H., Nakagawa H., Takeuchi S., H. Y. Chung. In vitro and in vivo studies on the radical-scavenging activity of tea // *Journal of agricultural and food chemistry*. 1998. V. 46. №6. P. 2143–2150.
6. Apak R., Güçlü K., Özyürek M., Karademir S. E., Erça E. The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas // *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2006. V. 57. №5. P. 292–304.
7. Gramza A., Pawlak-Lemacska K., Korczak J., Wsowicz E., Rudzinska M. Tea extracts as free radical scavengers // *Polish Journal of Environmental Studies*. 2005. V. 14. №6. P. 861–867.
8. Блажей А., Шутый Л. Фенольные соединения растительного происхождения. М., 1977. 158 с.