

А.Е. ЗАКАРЯН, А.Р. СУКИАСЯН

ДЕЙСТВИЕ ЭКСТРАКТОВ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ

Исследованы антиоксидантные свойства ряда лекарственных растений, эффективность влияния их экстрактов на интенсивность спонтанной хемилюминесценции и содержание продукта перекисного окисления липидов - малонового диальдегида в модельной системе. Полученные результаты позволяют заключить, что испытанные экстракты в разной степени проявляют антиоксидантные свойства.

В современной медицине значительное место занимают нетрадиционные способы лечения, в том числе и фитотерапия. Одной из важных задач в этом аспекте является всестороннее исследование лекарственных растений (ЛР), а также выявление физико-химических основ и механизмов их терапевтического действия. В настоящее время известно, что многие препараты различных ЛР обладают широким спектром воздействия на организм человека и могут проявлять антисептические, фото- и радиозащитные и другие свойства [1–5]. Важной, на наш взгляд, является способность ряда химических веществ ЛР тормозить свободнорадикальные процессы в организме, чем и обусловлены их антиокислительные свойства [6]. Обнаружено, что в качестве биохимических компонентов чаще всего в этих растениях встречается большое число комплексов сложных по химическому составу, активно действующих соединений, в том числе полифенолы, эфирные масла, флавоноиды, антрахиноны и другие соединения [6–8].

В данной работе проведены исследования по изучению антиокислительных свойств водных настоев 14 ЛР, используемых в медицинской практике для профилактических и лечебных целей.

Изучение антиокислительных свойств у взятых ЛР в данной работе осуществляли методами хемилюминесценции (ХЛ) и фотоспектрометрического определения количества малонового диальдегида (МДА) – конечного продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) – в присутствии тиобарбитуровой кислоты (ТБК).

Материалы и методика. В экспериментах были использованы водные настои коры дуба, корня девясила, травы пижмы, зверобоя, шалфея, полыни горькой, фиалки, чистотела, листьев подорожника, крапивы, мать-и-мачехи, мяты, цветков бессмертника и ромашки, приготовленные в лабораторных условиях из аптечных образцов по методике [1].

В качестве мишени спонтанной хемилюминесценции (СХЛ) для тестирования растительных настоев использовали гомогенат мозга крупного ро-

гатового скота в 0,025 М трис-НСI-буферном растворе, содержащем 0,175 М КСI (РН=7,4) в соотношении 1:10.

Исследование антиоксидантной активности ЛР осуществляли методом регистрации СХЛ гомогената мозга при действии соответствующими водными настоями растений.

Измерение СХЛ экспериментальных проб проводили на образцах, содержащих 2 мл свежеприготовленного гомогената и 0,2 мл водного настоя, помещенных в измерительную оптическую кювету [9]. Регистрацию СХЛ осуществляли при $40 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Уровень СХЛ гомогената мозга принимался за исходную величину, а изменение ее интенсивности от присутствия водного настоя служило мерой для оценки антиоксидантной активности (АОА) испытуемого препарата.

Количество МДА определяли по образованию окрашенного комплекса с ТБК [10]. Для приготовления супернатанта гомогенат, содержащий трихлоруксусную кислоту (конечная концентрация 0,5 %), центрифугировали в течение 15 минут при 4000 об/мин на лабораторной центрифуге ОПн-8. Затем пробы (3 мл супернатанта, 1 мл 0,8 % водного раствора ТБК и 0,2 мл водного настоя ЛР) помещали в кипяченую водяную баню на 20 мин. После развития розовой окраски образцы охлаждали до комнатной температуры и измеряли их оптическую плотность при длине волны 532 нм на спектрофотометре СФ-46 (ЛОМО – РОССИЯ). Оптическую плотность исследуемых образцов, содержащих водные настои, измеряли против соответствующих контрольных проб, а последние – сопоставляли с буферным раствором.

Белок гомогената, его супернатанта и водных настоев измеряли по методу Лоури [11].

Результаты экспериментов подвергали статистической обработке по критерию Стьюдента и представляли в виде средних арифметических величин и их среднеквадратичного отклонения.

Результаты и их обсуждения. Для оценки антиоксидантных свойств исследуемых водных настоев ЛР определяли величину изменения интенсивности свечения СХЛ образцов от добавок. Полученные результаты приведены в табл. 1. Из этих данных видно, что все изучаемые настои ЛР способны ингибировать свободнорадикальные окислительные процессы в гомогенате, что выражается в виде подавления интенсивности свечения. Как видно, среди исследуемых растений способность тормозить СХЛ гомогената водными настоями неодинакова. При сравнении полученных результатов обнаруживается, что наибольший антиоксидантный эффект отмечается у мяты (31 %), мать-и-мачехи (30 %), зверобоя (30 %) и дуба (50 %). А наименьшей АОА обладают чистотел (2 %), фиалка (20 %) и подорожник (8 %). В табл. 1 приводятся и данные по изучению АОА, рассчитанные по общему содержанию белка в изучаемых образцах. Отсюда видно, что и в этом случае сохраняется общая закономерность по наличию антиоксидантных свойств исследуемых водных настоев ЛР.

В последующих экспериментах для оценки АОА настоев ЛР измерялось изменение количества МДА в зависимости от присутствия изучаемых образцов, отражающее уровень изменения ПОЛ опытной системы. В этих исследованиях установлено, что, как и в случае изменения СХЛ, все ЛР угнетали процесс ПОЛ, что подтверждается результатами ТБК-теста, выраженного в виде количественного уменьшения МДА от присутствия настоев. Результаты по определению изменения концентрации МДА, приведенные в

табл. 2, показывают, что изучаемые нами настои ЛР однозначно ингибируют процесс свободнорадикального окисления липидов гомогената мозга. В экспериментах показано, что в этих опытах наибольший антиоксидантный эффект проявляли водные настои мать-и-мачехи (71 %), фиалки (74 %) и крапивы (88 %). Из представленного ряда испытуемых растений только водные настои бессмертника, зверобоя и полыни горькой обладают слабой антиоксидантной эффективностью.

Таблица 1

Ингибирующая способность водных настоев лекарственных растений на спонтанную хемилюминесценцию гомогената мозга крупного рогатого скота ($M \pm m$)

| Варианты | Концентрация белка, мг/мл | Интенсивность свечения СХЛ, имп/10с | Интенсивность свечения СХЛ, имп/10с на мг белка | % от контроля |
|--|---------------------------|-------------------------------------|---|---------------|
| биологическая мишень (гомогенат мозга) | 25,00 | 124±36 | 4,96±1,44 | 100 |
| чистотел | 0,26 | 123±25 | 4,87±0,99 | 98 |
| фиалка | 0,22 | 100±25 | 3,97±0,99 | 80 |
| подорожник | 1,00 | 118±21 | 4,54±0,81 | 92 |
| крапива | 0,21 | 117±21 | 4,64±0,83 | 94 |
| девясил | 0,25 | 85±9 | 3,37±0,36 | 68 |
| полынь горькая | 0,24 | 83±9 | 3,29±0,36 | 66 |
| шалфей | 0,81 | 102±23 | 3,95±0,89 | 80 |
| бессмертник | 0,23 | 78±7 | 3,09±0,28 | 62 |
| ромашка | 0,20 | 77±13 | 3,06±0,52 | 62 |
| пижма | 0,30 | 75±8 | 2,96±0,32 | 60 |
| мята | 1,00 | 89±9 | 3,42±0,35 | 69 |
| мать-и-мачеха | 0,93 | 87±3 | 3,46±0,12 | 70 |
| зверобой | 0,27 | 88±11 | 3,48±0,44 | 70 |
| дуб | 0,27 | 63±8 | 2,49±0,32 | 50 |

Таким образом, анализируя и сопоставляя результаты, полученные как по хемилюминесцентному изучению, так и по прямому определению МДА при изучении действия водных настоев ЛР, можно отметить наличие антиокислительных свойств у водных настоев, с одной стороны, и хорошую корреляцию между полученными двумя различными методами данными, с другой. Как нам кажется, в обоих случаях действует один и тот же механизм – ингибирование окислительных процессов в липидных структурах биологической мишени, протекающих по свободнорадикальной природе. Некоторые наблюдаемые различия в вышеприведенных двух экспериментах, по всей вероятности, связаны с чувствительностью, а также спецификой используемых методов.

Полученные данные и выдвинутые предположения не противоречат известным литературным фактам [2–4, 6, 8], наоборот, они развивают и обосновывают их значимость. Так, известно, что сесквитерпеновые сложные

эффиры, флавоноиды и другие соединения фенольной структуры, широко распространенные в растительном мире, обладают антиокислительной активностью [6], которая наблюдается и в случае с классическими антиоксидантами типа α -токоферола [5]. На основании вышеизложенного можно допустить, что именно указанные соединения являются ингибиторами процессов свободнорадикального окисления.

Таблица 2
Количественное изменение содержания малонового диальдегида супернатанта гомогената мозга в присутствии водных настоев лекарственных растений ($M \pm m$)

| Варианты | Концентрация МДА, $\mu\text{кмоль}$ | Концентрация МДА, $\mu\text{кмоль}$ на мг белка | % от контроля |
|---|-------------------------------------|--|---------------|
| биологическая мишень (супернатант гомогената) | 0,744 \pm 0,089 | 0,372 \pm 0,045 | 100 |
| полынь горькая | 0,750 \pm 0,075 | 0,335 \pm 0,034 | 90 |
| зверобой | 0,667 \pm 0,071 | 0,294 \pm 0,033 | 79 |
| бессмертник | 0,603 \pm 0,063 | 0,270 \pm 0,028 | 73 |
| шалфей | 0,564 \pm 0,056 | 0,201 \pm 0,021 | 54 |
| ромашка | 0,551 \pm 0,082 | 0,251 \pm 0,037 | 67 |
| дуб | 0,494 \pm 0,060 | 0,217 \pm 0,030 | 58 |
| чистотел | 0,474 \pm 0,045 | 0,209 \pm 0,020 | 56 |
| подорожник | 0,462 \pm 0,082 | 0,154 \pm 0,028 | 41 |
| девясил | 0,436 \pm 0,019 | 0,194 \pm 0,009 | 52 |
| мята | 0,385 \pm 0,060 | 0,129 \pm 0,030 | 35 |
| пижма | 0,327 \pm 0,032 | 0,142 \pm 0,014 | 38 |
| мать-и-мачеха | 0,321 \pm 0,060 | 0,109 \pm 0,020 | 29 |
| фиалка | 0,212 \pm 0,060 | 0,095 \pm 0,030 | 26 |
| крапива | 0,096 \pm 0,060 | 0,044 \pm 0,030 | 12 |

В целом можно полагать, что исследуемые ЛР как в условиях эксперимента, так и в живом организме, могут выступать как природные антиоксиданты процессов свободнорадикального окисления липидов, липидных структур, в том числе и биомембран.

Кафедра биофизики

Поступила 29.12.1999

ЛИТЕРАТУРА

1. Акопов И.Э. Важнейшие отечественные лекарственные растения и их применение. – Медицина. АН УзССР, 1986, т.25, с. 24.
2. Большакова И.В. и др. – Биофизика, 1997, т. 42, №2, с. 480-483.
3. Большакова И.В. и др. – Там же, №4, с. 926-931.
4. Большакова И.В. и др. – Там же, №2, с. 186-188.
5. Вычканова С.А. – Сб. научных трудов. М.: Изд-во Всесоюз. НИИ лекарственных растений, 1983, с. 107-118.
6. Сыров В.Н. и др. – Химико-фармац. журнал, 1987, т. 21, №1, с. 59-62.
7. Владимиров Ю.А. и др. – Мол. биол., 1973, т. 7, №2, с. 247-253.

8. Мельничук В.А. и др. – Фармак. и токсикология, 1988, т. 23, с. 79-83.
9. Закарян А. Е. и др. – Биолог. ж. Армении, 1990, т. 43, №1, с. 51-54.
10. Стальная И.Д., Гаряшвили Т.Г. – Современные методы в биохимии (под ред. Ореховича В. Н.), М.: Медицина, 1977, с. 66-68.
11. Lowry O.H., Roserbrough W.O., Farr. A. L. – J. Biol. Chem., 1951, v. 193, №1, p. 265.

Ա.Ե. ԶԱԲԱՐՅԱՆ, Ա.Ր. ՍՈՒԲԻԱՍՅԱՆ

ՈՐՈՇ ԴԵՂԱԲՈՒՅՍԵՐԻ ԹՈՒՐՄԵՐԻ ԱԶԻԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԼԻՊԻԴՆԵՐԻ
ԱԶԱՏ ՌԱԴԻԿԱԼԱՅԻՆ ՕՔՍԻԴԱՅՄԱՆ ՎՐԱ

Ամփոփում

Ուսումնասիրված են մի շարք դեղաբույսերի հակաօքսիդիչ հատկությունները: Նրանց թուրմերի ազդեցությունը հանգեցրել է մոդելային համակարգի սպոնտան քեմիլյումինեսցենցիայի ինտենսիվության փոփոխման: Զուգահեռաբար որոշվել է նաև մալոնային դիալդեհիդի քանակը հետազոտվող մոդելներում:

Ստացված արդյունքները թույլ են տալիս եզրակացնել, որ փորձարկված բոլոր թուրմերը տարբեր աստիճաններով ցուցաբերում են հակաօքսիդիչ հատկություններ:

A.E. ZAKARIAN, A.R. SUKIASIAN

THE INFLUENCE OF SOME HERBAL EXTRACTS ON THE FREE
RADICAL OXIDATION OF LIPIDS

Summary

Investigation of antioxidant properties of some herbs was carried out. Efficiency of herbs as antioxidants was tested by the influence of their extracts on the intensity of spontaneous chemiluminescence and by the change of the level of the malonic dialdehyde in the model system. The obtained results indicate that all experimented extracts show antioxidant properties in different degrees.