

ЗАВИСИМОСТЬ ПОЛ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ФЕРМЕНТНОЙ СИСТЕМЫ ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ ОТ ТЕПЛОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

А.Е. ЗАКАРЯН, А.Р. СУКИАСЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биофизики, 375028

Исследовались антиоксидантные свойства препаратов лекарственных растений (ЛР) в зависимости от теплового воздействия на них. В большинстве случаев теплообработка экстрактов ЛР сопровождалась активацией перекисного окисления липидов в последних, приводя к снижению ингибирующей способности изучаемых образцов. При этом почти во всех препаратах наблюдалось некоторое снижение активности супероксиддисмутазы и пероксидазы.

Ուսումնասիրվել են դեղաբույսերի պատրաստուկների (ԴՊ) հակաօքսիդիչ հատկությունները կախված ջերմային ազդեցությունից: Մեծամասամբ ջերմային ազդեցությունը նպաստում է ԴՊ լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման ակտիվացմանը, որն իր հերթին հանգեցրել է ուսումնասիրվող փորձանմուշների հակաօքսիդիչ հատկության նվազմանը: Ինչպես նաև ջերմանշակման դեպքում բոլոր պատրաստուկներում նկատվում է սուպերօքսիդիչիսմուտազի և պերօքսիդազայի ակտիվությունների նվազում:

The antioxidant properties of drug plant's preparations depending on thermal influence have been investigated. In the most of cases thermal influence on drug plant extracts is accompanied by intensification of lipid peroxidation in these samples decreasing of their inhibitory action. Also the thermal influence promotes some increasing of superoxid dismutase and peroxidase activities.

Лекарственные растения - перекисное окисление липидов - теплообработка - антиоксидантная активность - супероксиддисмутаза - пероксидаза

В организме существует определенный физиологический уровень свободнорадикальных процессов, необходимых для регуляции нормального функционирования липидного состава мембранных структур, баланса между антиоксидантной и прооксидантной системами, а также других метаболических процессов. Патологические повреждения в организме выступают своеобразными индукторами, вызывающими окислительные стрессы, приводя к интенсификации перекисного окисления липидов (ПОЛ) [2]. Поэтому актуальными считаются исследования, посвященные изысканию и изучению препаратов, способных защитить организм от окислительных повреждений, в частности, исследования экстрактов лекарственных растений (ЛР), которые, обладая в основном комплексным воздействием на организм человека, способны регулировать возникшие активации свободнорадикальных окислений в липидсодержащих структурах [8, 10].

Целью данной работы явилось изучение антиоксидантной системы препаратов некоторых ЛР в зависимости от температурных режимов их экстракции.

Материал и методика. Объектом исследований служили экстракты ЛР из аптечных образцов коры дуба, трав зверобоя, полыни горькой, чистотела, шалфея и листьев крапивы. Для получения экстрагированных препаратов брали измельченные до порошка образцы ЛР и гомогенизировали в буферном растворе аппаратом Поттера-Эльвегейма. Полученный гомогенат центрифугировали в течение 10 мин при 5000 об/мин (центрифуга типа ОПн - 8), используя в дальнейшем надосадочную жидкость – супернатант. Тепловую обработку проводили путем выдерживания полученного супернатанта в кипящей водяной бане в разных экспозициях (10, 15, 20, 30 и 40 мин) с последующим охлаждением для определения конечного продукта ПОЛ - малонового диальдегида (МДА). При определении ферментативной активности супероксиддисмутазы (СОД) и пероксидазы были использованы препараты, подвергнувшиеся только 15-минутной теплообработке.

Содержание МДА в экстрактах ЛР определяли по цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) методом [6]. Ингибирующую активность исследуемых препаратов изучали при действии последних на ПОЛ биологической мишени (супернатант гомогената мозга крупного рогатого скота). Количественное определение МДА проводили путем оценки оптической плотности образцов на спектрофотометре СФ-46 "ЛОМО" (Россия) при длине волны 532 нм и выражали в нмоль/мг белка [9].

Активность СОД измеряли методом, основанным на способности данного фермента конкурировать с нитросиним тетразолином (НСТ) за супероксидные анион-радикалы [7]. Для этого в измерительную кювету вносили по 0,5 мл растворов 1,06мМ рибофлавина, 21,5мМ метионина, 2,08 мМ НСТ, экстракта ЛР в 0,15М фосфатном буфере (рН 7,8) и 1мл 0,6мМ ЭДТА – буфера (рН 7,8). Оптическую плотность проб определяли при длине волны 560 нм, активность фермента выражали в относительных единицах на мг белка [4].

Активность пероксидазы в экстрактах ЛР (в 0,15М фосфатном буфере, рН 7.2) определяли по изменению оптической плотности продуктов окисления йодида калия через каждые 20 сек в течение 2 мин при длине волны 353 нм по методу [5].

Полученные результаты представлены в виде среднearифметических величин и их стандартных ошибок с учетом критерия достоверности по Стьюденту-Фишеру.

Результаты и обсуждение. На

рис. 1 представлены данные о содержании МДА в экстрактах ЛР. Установлено, что продление времени теплового воздействия на экстракты, как правило, сопровождается интенсификацией ПОЛ, выраженной увеличением количества МДА для препаратов из коры дуба, зверобоя и чистотела (кривые 1, 4, 3). Это увеличение много больше по сравнению с опытами крапивой и шалфеем (кривые 5, 2). В отличие от приведенных данных, обратная динамика образования ТБК - активного продукта наблюдается для экстракта полыни горькой (кривая 6). В этом случае увеличение времени теплообработки сопутствует понижению уровня ПОЛ. Приведенные данные хорошо коррелируют с результатами,

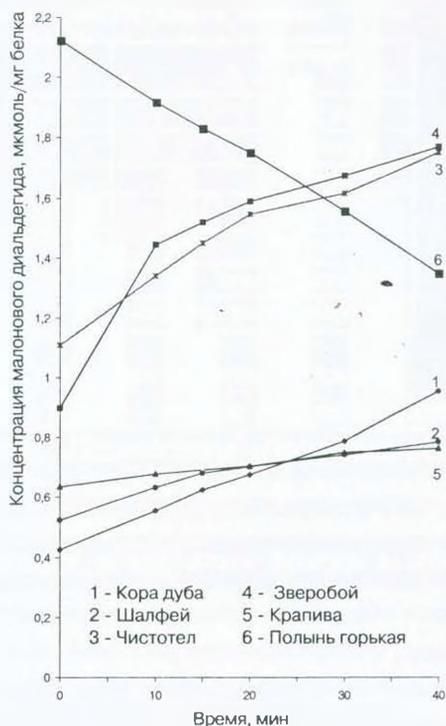


Рис. 1. Изменение концентрации малонового диальдегида при теплообработке экстрактов лекарственных растений.

полученными при изучении спонтанной хемилюминесценции экстрактов полыни горькой (содержащих термолабильные компоненты, достаточно быстро разрушающиеся даже при комнатной температуре (+20°) без соответствующей теплообработки) [3].

Далее изучали действие экстрактов ЛР на перекисидацию липидов биологической мишени, содержание МДА в котором принимали за контрольное значение, а его количественные изменения в присутствии экстрактов служили мерой антиоксидантной активности (АОА) последних. Полученные результаты (таблица 1) свидетельствуют, что не подвергшиеся теплообработке экстракты коры дуба, крапивы и шалфея подавляют уровень ПОЛ контрольных образцов в среднем на 77%, зверобоя и чистотела - на 62%, а полыни горькой - на 34%. В зависимости от теплового воздействия наблюдаются изменения и в степени ингибирующей активности экстрактов ЛР, при этом АОА теплообработанных экстрактов коры дуба, зверобоя, крапивы, чистотела и шалфея уменьшилась почти в 1,5 раз, а экстракт полыни горькой, наоборот, вызвал увеличение ингибирующей активности на 29%. Анализируя полученные данные, можно заметить, что количественные изменения значений МДА в общих чертах отражают картину АОА исследуемых препаратов ЛР.

Таблица 1. Изменения концентрации малонового диальдегида биологической мишени в присутствии препаратов лекарственных растений

Варианты	Концентрация МДА, нмоль/мг белка	
Кора дуба	4,100 ± 0,501	8,305 ± 0,655
Крапива	8,326 ± 0,787	9,280 ± 0,725
Шалфей	9,949 ± 0,407	12,370 ± 1,011
Зверобой	11,050 ± 0,479	18,813 ± 0,809
Чистотел	13,131 ± 0,942	13,689 ± 0,884
Полынь горькая	21,054 ± 0,934	15,878 ± 1,030
Биологическая мишень	31,717 ± 0,909	

В последующих экспериментах в экстрактах ЛР исследовали ферменты антиоксидантной защиты - СОД и пероксидазу - до и после теплообработки вышеописанным способом. Из представленных на рис. 2 данных по определению активности СОД в препаратах ЛР видно, что относительно высокой ферментативной активностью отличаются образцы крапивы и коры дуба, а низкой - шалфея и чистотела. Теплообработка приводила к незначительному повышению активности фермента в экстрактах коры дуба (на 36%) и подавляла в случае зверобоя (на 76%), при этом в остальных препаратах изменение активности СОД было незначительным (в среднем около 11 %).

Результаты по определению активности пероксидазы, обобщенные на рис. 3, показывают, что наибольшей ферментативной активностью

отличаются экстракты коры дуба и зверобоя, а наименьшей – чистотела и крапивы. Теплообработка исследуемых препаратов вызвала в основном уменьшение активности пероксидазы, что может являться причиной ослабления их АОА (табл. 1). Полученные результаты согласуются с известными литературными данными, согласно которым кипячение в наибольшей степени ингибирует пероксидазную активность в растительных объектах [1].

Таким образом, можно говорить об определенной связи между АОА препаратов ЛР и способом их приготовления. Согласно экспериментальным данным, в основном теплообработка изучаемых препаратов вызывает активацию ПОЛ, что может свидетельствовать об ослаблении их АОА, следовательно, и фармакологической эффективности. Полученные данные могут быть рекомендованы для выбора способов приготовления препаратов при их использовании в медицинской практике.

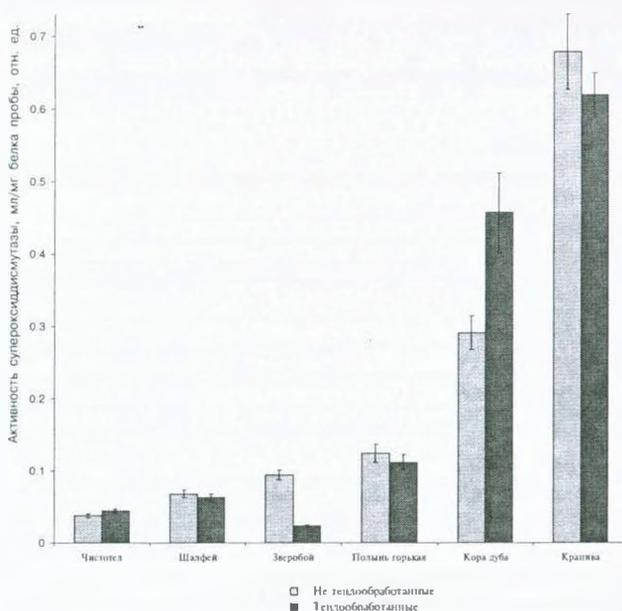


Рис. 2. Активность супероксиддисмутазы в экстрактах лекарственных растений.

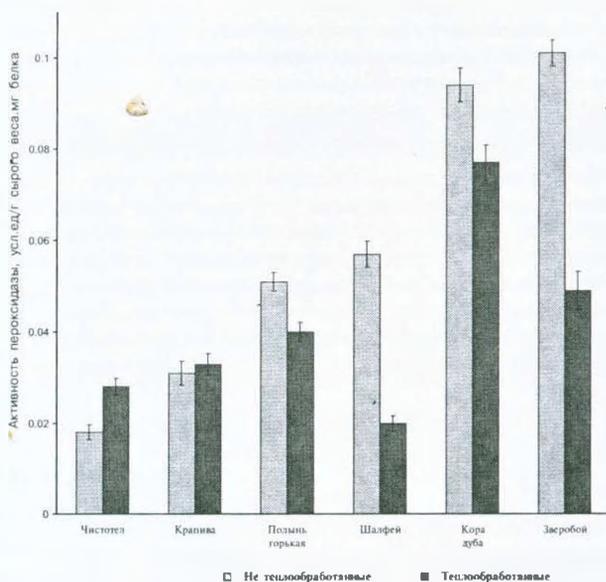


Рис. 3. Активность пероксидазы в экстрактах лекарственных растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Андреева В.А.* Фермент пероксидаза: Участие в защитном механизме растений. М., Наука, 1988.
2. *Владимиров Ю.А., Арчаков А.И.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., Наука, 1972.
3. *Закарян А.Е., Сукиасян А.Р., Гонян С.А., Акопян Г.С.* В кн.: Сборник научных трудов ассоциации терапевтов – интернистов Армении. Ереван, 3, 76-78, 2000.
4. *Макаревич О.П., Голиков П.П.* Лабораторное дело. 6, 24-27, 1983.
5. *Ермаков А.И.* Методы биохимического исследования. Киев, Наукова думка, 41-43, 1982.
6. *Орехович В.Н.* Современные методы в биохимии. М., Медицина, 66-68, 1977.
7. *Beauchamp C., Fridovich I.* Anal. Biochem., 41, 1, 276-287, 1971.
8. *Desmarchelier C., Romao R.L., Coussio J., Ciccio G. J.* Ethopharmacol, Oct., 67, 1, 69-77, 1999.
9. *Lowry O.H., Roserbrough W.O., Farr A.L.* J. Biol. Chem., 193, 1, 265, 1951.
10. *Masaki H., Saçaki S., Atsumi T., Sakurai H.* Biol. Pharm. Bull., Jan., 18, 1, 162-166, 1995.

Поступила 20.III.2002