

УДК 615.35 + 615.45

## Изучение антирадикальной активности некоторых лекарственных и пищевых растений

А.Т.Кочикян<sup>1</sup>, В.В.Ананикян<sup>2</sup>, М.И.Ерибемян<sup>2</sup>,  
А.В.Топчян<sup>1</sup>, Л.В.Ревазова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Кафедра технологии лекарств ЕГМУ им.М.Гераци,

<sup>2</sup>Научно-технологический центр органической и  
фармацевтической химии НАН РА,

<sup>3</sup>НИЗ им. акад. С.Х. Авдалбекяна МЗ РА  
0025, Ереван, ул. Корюна, 2

**Ключевые слова:** кислородный стресс, антирадикальная активность, фенольные соединения, природные антиоксиданты, нейропротективная активность

Растения практически постоянно подвергаются сильному кислородному воздействию. Процесс фотосинтеза является окисленным, поэтому концентрация молекулярного кислорода в листьях очень высока, значительная его доля превращается в активные формы кислорода (АФК), которые образуются в митохондриях и пластидах. АФК играют существенную роль в запуске запрограммированной гибели клеток (ЗГК), в том числе и в ответ на различные стрессы, раневые повреждения, инфекции, которые сопровождаются резким увеличением окислительного статуса растения с одновременной индукцией синтеза патоген-зависимых белков. Одним из главных сигналов регуляции клеточного цикла и ЗГК у растений служит  $H_2O_2$ , которая запускает синтез многих патоген-зависимых белков, а также этилена и салициловой кислоты.  $H_2O_2$  стимулирует быстрый приток  $Ca^{2+}$  в клетки, что активирует программу их физиологической смерти, с характерной для апоптоза картиной (расщепление ДНК, пузырчатость и конденсация ядра). Это совпадает с известными данными о том, что в животных клетках  $Ca^{2+}$  выполняет роль вторичного проапоптозного сигнала.

С другой стороны, природные антиоксиданты (фенольные соединения, флавоны, каротиноиды, аскорбиновая кислота,  $\alpha$ -токоферол и другие) контролируют рост и развитие растений, отодвигая ЗГК, играют защитную роль при кислородном стрессе и уменьшают обусловленный им риск преждевременной гибели клеток. При кислородном стрессе гибель растительных клеток сходна с индуцированным TNF- $\alpha$  (фактор



некроза опухолей) апоптозом у животных. Путём активации антиоксидательных ферментов растительный белок может контролировать индуцируемый TNF- $\alpha$  апоптоз в клетках животных. В контроле за апоптозом у растений, как и у животных, принимает участие NO. Ключевая роль в инициации определённых видов апоптоза принадлежит митохондриям: так же как и у животных, индуцированный выход из митохондрий цитохрома c и других белковых факторов запускает апоптоз в растительных клетках [3,9].

При кислородном стрессе происходит накопление свободнорадикальных метаболитов (СРМ) и кислородсодержащих радикальных метаболитов (ОСРМ), таких как пероксидные и нитроксидные радикалы, а также продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Окислительное повреждение биологических молекул генерируется в основном свободными радикалами. Нейродегенеративные заболевания, ряд воспалительных заболеваний, атеросклероз, катаракта, сердечно-сосудистые заболевания, рак, процессы старения все чаще ассоциируют с последствиями свободнорадикального окисления [7,8,11]. Для предотвращения окислительного повреждения биологических молекул свободными радикалами могут быть использованы природные антиоксидантные системы с разным принципом действия – аскорбиновая кислота, вещества полифенольной природы (флавоноиды, проантоцианидины, танины, вещества, содержащие гидроксильные группы фенольного характера) [1-4,10].

Целью настоящей работы является выявление антирадикальной активности (АРА) некоторых пищевых растений, одновременно являющихся лекарственными, и лекарственных растений, традиционно употребляемых в пищу, с учётом их химического состава.

## **Материал и методы**

Материалом для настоящего исследования являются 24 растительных объекта (табл. 1): консервированные 96% этиловым спиртом, а также спиртом с добавлением аскорбиновой или лимонной кислоты, соки свежих плодов и ягод; экстракты плодов, корней, листьев и цветков, приготовленные методом перколяции из воздушно-сухого сырья с использованием 70% этилового спирта в качестве экстрагента [5].

Содержание сухого остатка в % или граммах определяли на приборе "KERN MLB 50-3" (Германия).



Таблица 1

Содержание сухого остатка в исследуемых объектах

| Наименование исследуемого материала                                                              | Сухой остаток, % | Сухой остаток, г |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|------------------|
| 1. <i>Achillea millefolium</i> – экстракт цветков тысячелистника                                 | 3,3              | 0,3              |
| 2. <i>Cerasus vulgare</i> – сок свежих плодов вишни                                              | 11,88            | 1,19             |
| 3. <i>Cornus mas</i> – экстракт свежих плодов кизила                                             | 7,79             | 0,78             |
| 4. <i>Cornus mas</i> – сок свежих плодов кизила                                                  | 3,86             | 0,38             |
| 5. <i>Echium rubrum</i> – экстракт соцветий синяка                                               | 4,66             | 0,466            |
| 6. <i>Hippophaea rhamnoides</i> – сок свежих плодов облепихи                                     | 14,49            | 1,45             |
| 7. <i>Inula helenium</i> – экстракт корней и корневищ девясила                                   | 39,37            | 3,937            |
| 8. <i>Juglans regia</i> – экстракт плодов незрелых ореха грецкого                                | 4,28             | 0,428            |
| 9. <i>Juglans regia</i> – экстракт листьев ореха грецкого                                        | 4,66             | 0,466            |
| 10. <i>Ligustrum vulgare</i> – экстракт плодов бирючины обыкновенной                             | 2,67             | 0,267            |
| 11. <i>Morus nigra</i> – сок свежих плодов туты черной + аскорб.к-та                             | 11,14            | 1,14             |
| 12. <i>Morus nigra</i> – сок свежих плодов туты черной + лим.к-та                                | 12,05            | 1,205            |
| 13. <i>Morus nigra</i> – сок свежих плодов туты черной                                           | 11,17            | 1,7              |
| 14. <i>Morus nigra</i> – экстракт листьев туты черной                                            | 3,86             | 0,38             |
| 15. <i>Morus nigra</i> – экстракт плодов туты черной                                             | 4,34             | 0,462            |
| 16. <i>Prunus cerasus</i> x <i>P. avium</i> – сок плодов гибрида испанской вишни + лимонная к-та | 13,96            | 1,396            |
| 17. <i>Prunus cerasus</i> x <i>P. avium</i> – сок плодов гибрида + аскорбиновая к-та             | 13,77            | 1,377            |
| 18. <i>Prunus cerasus</i> x <i>P. avium</i> – сок плодов гибрида                                 | 11,88            | 1,9              |
| 19. <i>Punica granatum</i> – сок свежих плодов граната                                           | 15,49            | 1,55             |
| 20. <i>Ribes nigrum</i> – экстракт плодов смородины черной                                       | 8,32             | 0,832            |
| 21. <i>Ribes nigrum</i> – сок свежих плодов смородины черной                                     | 4,55             | 0,455            |
| 22. <i>Sambucus nigra</i> – экстракт цветков бузины                                              | 3,74             | 0,374            |
| 23. <i>Sambucus nigra</i> – экстракт плодов бузины                                               | 15,85            | 1,85             |
| 24. <i>Zea mays</i> – экстракт кукурузных рылец                                                  | 4,87             | 0,49             |

Анализ на выявление антирадикальной активности ускоренным методом [1] проведён в лаборатории природных соединений ИТОХ. В 10мл пробирки из бесцветного стекла, содержащие по 2 мл метанольного раствора  $0,3 \times 10^{-5}$ МДФПГ, прибавляют по 2 мл метанольного



раствора  $0,3 \times 10^{-5} \text{ М}$  испытуемого вещества (в случае растительных экстрактов их молекулярную массу условно принимают за 350). Фиксируют изменение окраски растворов в сравнении с окраской контрольной пробы сразу после смешения, через 1, 5, 15 и 40 мин. Исчезновение фиолетовой окраски и возникновение желтоватой или желтой – показание наличия АРА у испытуемого вещества. Ограничением для применения данного метода является нерастворимость испытуемого вещества в метаноле или сильная окраска его метанольного раствора в области 450-600 нм.

Из 24 испытуемых веществ выраженную антирадикальную активность показали 7, для которых было проведено количественное определение АРА.

Количественную оценку АРА проводили спектрофотометрическим определением свободного радикала – ДФПГ (2,2-дифенил-1-пикрилгидразила), остающегося после взаимодействия метанольного раствора ДФПГ и испытуемых растворов, вычисляемого с помощью калибровочного графика. Для построения калибровочного графика ДФПГ (зависимость оптической плотности при 515 нм от концентрации ДФПГ) и определения оптической плотности испытуемых растворов использовали прибор Helios Comp. Thermo electron (Англия) [6]. Измерения проводились не менее чем в трёх повторях.

### Результаты и обсуждение

В наших исследованиях выраженную антирадикальную активность показали 7 экстрактов, которые отличались друг от друга и по скорости проявления антирадикальной активности (табл. 2).

Таблица 2  
Скорость проявления АРА (%)

| t<br>№ | 1 мин | 5 мин | 20 мин | 40 мин |
|--------|-------|-------|--------|--------|
| 1      | 23    | 38,5  | 46,5   | 49,0   |
| 7      | 13,5  | 15,0  | 16,0   | 17,5   |
| 8      | 88,5  | 89,5  | 86,0   | 86,0   |
| 9      | 32,5  | 51,5  | 64,0   | 71,5   |
| 10     | 49,7  | 86,0  | 86,0   | 86,0   |
| 22     | 51,5  | 71,5  | 85,0   | 92,5   |
| 23     | 37,5  | 70,0  | 85,0   | 85,0   |

В наших исследованиях наибольшую АРА проявили:

№22 – экстракт цветков бузины чёрной (92,5%);

№8 – экстракт плодов незрелых ореха грецкого (86%);

№10 – экстракт плодов бирючины обыкновенной (86%);



№23 – экстракт плодов бузины чёрной (85%);

№9 – экстракт листьев ореха грецкого (71,5%);

№1 – экстракт цветков тысячелистника обыкновенного (49%);

№7 – некоторую активность (17,5%) показал экстракт корней и корневищ девясила высокого.

В наших исследованиях скорость проявления АРА у всех экстрактов, кроме экстракта плодов незрелых ореха грецкого, возрастала, достигая максимума через 40 мин. Скорость проявления АРА названного экстракта достаточно высокая с 1-й минуты (88,5%), достигает максимума к 5-й минуте (89,5%) и сохраняется на высоком уровне (86%) к 40-й минуте.

Основываясь на данных фитохимического анализа исследуемых экстрактов, можно предположить, что их АРА связана с содержанием, в первую очередь, высокоактивных фенольных соединений: самбунигина, антоцианов, флавоноидов в экстрактах плодов и цветков бузины чёрной; юглона, токоферола, дубильных веществ в экстрактах плодов и листьев ореха грецкого; антоцианов в плодах бирючины; дубильных веществ, флавоноидов, сесквитерпеновых лактонов в экстрактах тысячелистника обыкновенного и девясила высокого, которые, по данным литературы, проявляют нейропротективную активность [2,4,8,10,11].

Итак, принимая во внимание роль свободных радикалов в развитии апоптоза нейронов, химический состав лекарственного растительного сырья, показавших выраженную антирадикальную активность, применение их в научной, традиционной и эмпирической медицине, можно предположить возможность оказания ими нейропротекторного действия.

*Поступила 03.06.09*

### **Որոշ դեղատու և սննդային բույսերի հակառադիկալային ակտիվության ուսումնասիրությունը**

**Ա.Տ.Ղոչիկյան, Վ.Վ. Անանիկյան, Մ.Ի. Երիբեկյան,  
Հ.Վ. Թոփչյան, Լ.Վ. Ռեզազյան**

Ուսումնասիրվել են 24 օրյեկտներ (դեղաբուսական հումքից հանուկներ և որոշ դեղատու և սննդային բույսերի բարձր պտուղների հյութեր): Առավել բարձր հակառադիկալային ակտիվություն ցուցաբերող 7 նյութերի համար (թանթրվենի սկի ծաղիկներ և պտուղներ, ընկուզենի հունականի թերահաս պտուղներ և տերևներ, սրնգենի սովորականի պտուղներ, հազարատերևուկ սովորականի ծաղիկներ, կոմուխ բարձր կոճղարմատներ և արմատներ) կատարվել է քանակական որոշում տոկոսային արտահայտությամբ՝ հաշվի առնելով մահ հակառա-



դիկալային ակտիվության արտահայտման արագությունը: Ենթադրվում է նրանց նյարդապաշտպանիչ (նեյրոպրոտեկտիվ) ազդեցության հնարավորությունը:

### Investigation of antiradical activity of some medicinal and food plants

A.A.Ghochikyan, V.V.Ananikyan, M.I.Yeribekyan, H.V.Topchyan,  
L.V. Revazova

24 objects (extracts from herb substances and fresh juice of some medicinal and food plants) have been investigated. For 7 substances possessing the highest antiradical activities (flores and fructus *Sambucus nigra*, folium and fructus *Juglans regia*, fructus *Ligustrum vulgaris*, flores *Achillea millefolium*, *Rhizoma cum radicibus Inula helenium*) quantitative evaluation has been carried out expressed by percentage, taking into consideration the velocity of antiradical activity expression as well. It is supposed that they might have a neuroprotective effect too.

### Литература

1. *Ананикян В.В., Ерибекян М.И., Мнацаканян В.А.* Ускоренный метод выявления антирадикальной активности органических соединений. *Globe of Science*, 2007, 7, p. 31-33.
2. *Астахов Ю.С., Скоробогатов Ю.В.* Новые возможности нейропротекции в комплексном лечении глаукомы препаратами растительного происхождения (по данным литературы). Гос. мед. университет им. И.П.Павлова, Ж. офтальмологии, 2007, вып. 1, СПб.
3. *Ванюшин Б.Ф.* Апоптоз у растений. *Успехи биологической химии*, 2001, т.41, с. 3-38.
4. *Великая Н.В., Залесский В.Н.* К вопросу о предупреждении развития апоптоза нейронов флавоноидами – фенолсодержащими соединениями растительных продуктов. Нац. медицинский университет им.А.А.Богомольца, Киев, 2004.
5. Государственная фармакопея СССР, М., XI изд., вып. 2, 1990, с. 160.
6. *Мнацаканян В.А., Ерибекян М.И., Ананикян В.В.* Сравнительная оценка антирадикальной активности некоторых изохинолиновых алкалоидов. *Globe of Science*, 2009, 8, p. 31-33.
7. *Bandyopadhyay D., Chattopadhyay A., Ghosh G., Datta A.G.* Oxidative stress-induced ischemic heart disease: protection by antioxidants. *Curr. Med. Chem.*, 2004, vol.11, 3, p. 369-387.
8. *Contestabile A.* Antioxidant strategies for neurodegenerative diseases. *Expert. Opin. Therapeutic Patients*, 2001, vol.11, 4, p.573-585.
9. *Janicke R.U., Porter A.G., Kush A.* *Biochem. Biophys. Acta.*, 1998, vol. 1402, p.70-78.
10. *Medina J.H., Viola H., Wolfman C. et al.* Neuroactive flavonoids: new ligands for the benzodiazepine receptor. *Phytomedicine*, 1998, vol. 5, p.235-243.
11. *Olinski R., Gaskowski D., Foksinski M., Rosalski R., Roszkowski K., Jaruga P.* Oxidative DNA damage: assessment of the role in carcinogenesis. Atherosclerosis and acquired immunodeficiency syndrome. *Free Radic. Biol.Med.*, 2002., vol.33, 2, p192 - 200.