

© Коллектив авторов, 2008

В. Ф. Громова, Г. С. Шаповал, И. Е. Миронюк, Н. В. Нестюк

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Институт биоорганической химии и нефтехимии Национальной академии наук Украины, Киев

Методом импульсной вольтамперометрии исследована антиоксидантная активность ряда настоек лекарственных растений. Определены эффективные концентрации и построены ряды сравнительной оценки их антиокислительной и антирадикальной активности, наиболее выраженной у зверобоя, женьшеня, родиолы и элеутерококка. Высказаны предположения относительно возможного механизма их антиоксидантного действия в организме.

В последнее время значительно повысился интерес к исследованию процессов свободнорадикального окисления и, как следствие, к препаратам, способным влиять на интенсивность этих процессов. Это связано с тем, что в условиях ухудшения экологической обстановки, под влиянием различных экстремальных факторов в организме наблюдается значительное повышение концентрации активных форм кислорода (АФК), таких как $O^{\bullet-}$, $\bullet OH$, H_2O_2 и др., способных повреждать молекулы белков, нуклеиновых кислот, инактивировать ферменты, разрушать мембраны клеток, что в свою очередь приводит к развитию различных патологических состояний организма. Поэтому особенно остро стоит вопрос о возможности блокирования этих свободнорадикальных процессов, инициаторами которых являются АФК, на начальных стадиях развития [1 – 5].

Для регулирования свободнорадикальных процессов в организме применяют биологически активные соединения (БАС), проявляющие антиоксидантные свойства. К ним относятся препараты как синтетического, так и природного происхождения среди которых немаловажное значение имеют те растительные препараты, в состав которых входят биофлавоноиды, каротиноиды, эссенциальные жирные кислоты и др. Использование подобных препаратов чрезвычайно перспективно, поскольку они, являясь естественными антиоксидантами, легко и органично вступают в метаболические процессы в организме и практически не дают побочных эффектов, присущих синтетическим препаратам [6 – 9]. Лекарственные растения широко используются в медицине, однако как антиоксиданты они изучены лишь фрагментарно. В связи с этим исследование лекарственных растений в качестве потенциальных антиоксидантов, моделирование возможного механизма их ингибирующего действия относительно определенных стадий восстановления кислорода в организме вызывают значительный интерес.

Проблема выбора эффективных антиоксидантов, определение их антиокислительной активности представляет собой довольно сложную задачу. Методы

оценки *in vitro*, применяемые в настоящее время, длительны и трудоемки и не позволяют оценивать эффективность препаратов относительно влияния на определенные стадии свободнорадикальных процессов [10 – 14]. Одним из перспективных подходов для проведения таких исследований было применение разработанных нами ранее методологических подходов к моделированию элементарных стартовых redox реакций с участием кислорода и с использованием метода импульсной вольтамперометрии и разработанного на его основе экспресс-метода, который позволяет одновременно оценивать антиоксидантную и антирадикальную активность исследуемых соединений [15 – 16].

Целью данной работы является исследование антиоксидантной активности широкого ряда настоек лекарственных растений, моделирование возможного механизма их действия на определенные стадии восстановления кислорода в организме.

Экспериментальная часть

В качестве объектов исследования были взяты аптечные препараты настоек пустырника, родиолы, элеутерококка, женьшеня, эхинацеи, толокнянки, а также приготовленные в лабораторных условиях по методике [17] водно-спиртовые настойки зверобоя, подорожника, ромашки, шалфея. Рабочие растворы готовили на 0,1 М хлориде натрия.

Электрохимические исследования проводили по методике, описанной в [18, 19], используя полярограф универсальный ПУ-1 в режиме дифференциальной импульсной вольтамперометрии по трехэлектродной схеме. В качестве рабочего применяли электрод из меди высокой степени чистоты. Потенциал задавали относительно хлорсеребряного электрода сравнения, вспомогательным электродом служила платиновая спираль. Для проведения электрохимических исследований и обработки результатов применялась специально разработанная компьютерная программа. Все исследования проводили в растворе хлористого натрия, концентрация которого соответствовала физиологиче-

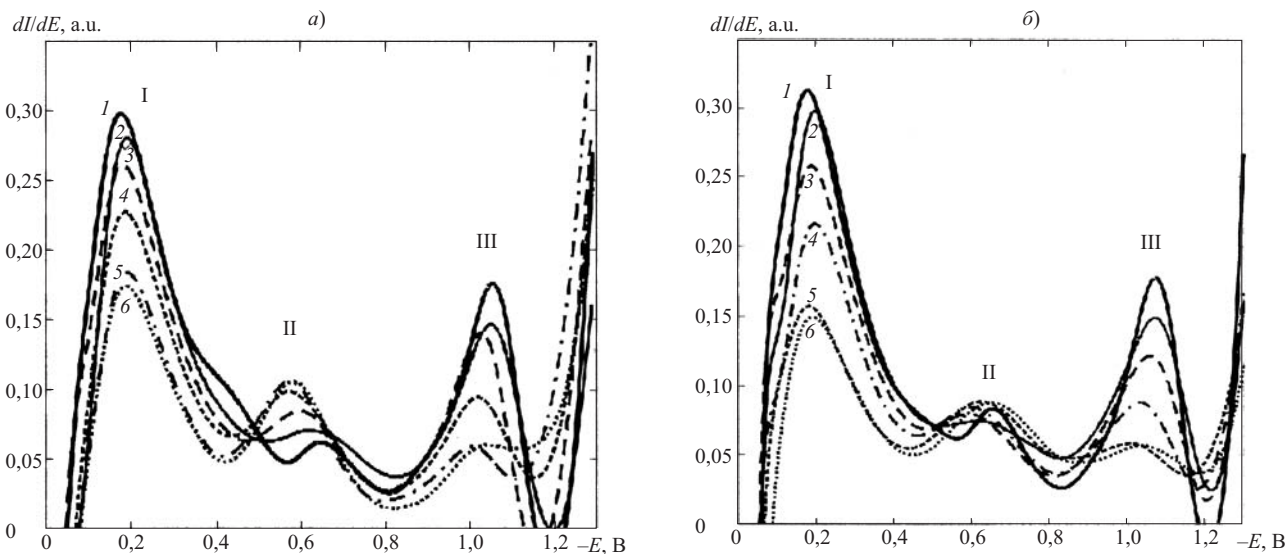


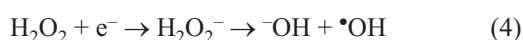
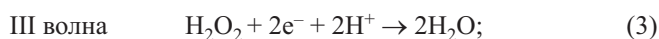
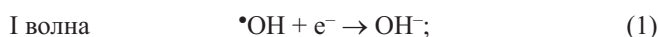
Рис. 1. Вольтамперные кривые восстановления кислорода в присутствии различных концентраций: *а*) родиолы: 1 — фон 0,1 М NaCl; 2 — 0,2; 3 — 0,63; 4 — 0,92; 5 — 1,11; 6 — 1,16 г/л; *б*) элеутерококка: 1 — фон 0,1 М NaCl; 2 — 0,523; 3 — 0,814; 4 — 1,677; 5 — 2,532; 6 — 3,142 г/л

скому раствору (0,9 %). Концентрация кислорода отвечала равновесной при атмосферном давлении и температуре 20 ± 1 °С.

Антирадикальную и антиоксидантную активность БАС оценивали по изменению относительной высоты волн (h/h_0) гидроксильных радикалов (I) и пероксида водорода (III) соответственно в процессе электрохимического восстановления кислорода в присутствии исследуемых соединений, где h_0 — высота волны восстановления гидроксильных радикалов, молекулярного кислорода или пероксида водорода (мм) в отсутствие исследуемой БАС, h — высота соответствующей волны в присутствии исследуемой БАС.

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 представлены вольтамперные кривые восстановления кислорода, полученные в условиях импульсного режима поляризации медного электрода в 0,1 М фоновом растворе хлорида натрия. Используя разработанные методологические подходы, удается регистрировать три стадии восстановления кислорода, которые характеризуются следующими волнами:



Возможность фиксировать такое ступенчатое восстановление кислорода, которое может служить моделью элементарных стартовых редокс-процессов, происходящих в организме как при двух-, так и при одноэлектронном восстановлении кислорода, позволила исследовать влияние различных БАС на отдельные стадии восстановления кислорода.

Так, добавление в фоновый раствор исследуемых настоек лекарственных растений показало, что все они вызывают изменения на вольтамперных кривых восстановления кислорода, однако характер этих изменений различный. Введение настойки родиолы в фоновый раствор, содержащий кислород, вызывает значительное увеличение волны восстановления молекулярного кислорода (II волна) и сдвига ее по потенциалу в положительную область, что свидетельствует об облегчении процесса восстановления молекулярного кислорода в его присутствии (рис. 1, *а*). При этом наблюдается значительное понижение волны гидроксильных радикалов (I волна) и пероксида водорода (III волна). С увеличением концентрации родиолы этот эффект растет. Концентрация максимальной эффективности $\sim 1,1$ г/дм³. Сходное влияние на гидроксильные радикалы и пероксид водорода оказывает элеутерококк, однако волна восстановления молекулярного кислорода (II волна) с ростом концентрации элеутерококка остается практически на уровне фона, сдвига по потенциалу не наблюдалось (рис. 1, *б*).

Зверобой (рис. 2, *а*) и пустырник вызывают увеличение волны восстановления молекулярного кислорода, облегчая процесс его восстановления, при этом значительно подавляя волну восстановления гидроксильных радикалов и пероксида водорода. Эффективность зверобоя несколько выше эффективности пустырника. Хотя концентрация максимальной эффективности для пустырника ниже, достичь таких изменений высот волн гидроксильных радикалов и пероксида водорода, как для зверобоя (даже при значительном увеличении концентрации) не удастся.

Если исходить из того, что взаимодействие с пероксидами характеризует антиоксидантную активность, а с гидроксильными радикалами — антирадикальную активность, то наиболее выраженная антиоксидантная и антирадикальная активность из числа исследуемых

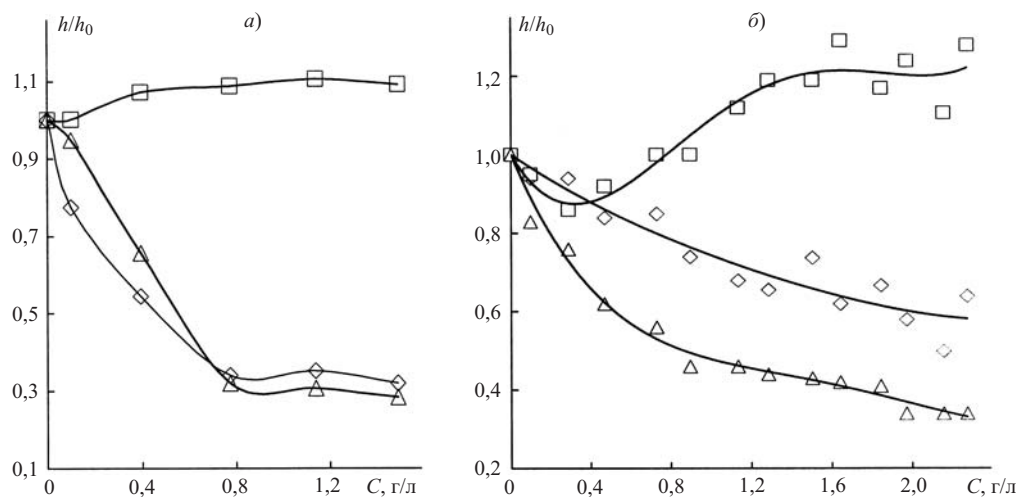


Рис. 2. Зависимость относительного понижения высот волн восстановления кислорода на медном электроде — \diamond — I волна; — \square — II волна; — \triangle — III волна от концентрации: а) зверобоя; б) женьшеня.

препаратов, выявленная у женьшеня, проявляется, возможно, за счет ингибирующего действия относительно гидроксильных радикалов, образующихся в процессе одноэлектронного восстановления перекиси (реакция 4), что проявляется в значительном понижении I и III волн на вольтамперной кривой восстановления кислорода (рис. 2, б). Толокнянка проявляет выраженные как антирадикальные, так и антиокислительные свойства, но практически не влияет на процесс восстановления молекулярного кислорода. Результаты проведенных исследований настоек лекарственных растений представлены в таблице.

В результате проведенных исследований определены эффективные концентрации экстрактов лекарственных растений и построены ряды сравнительной оценки их антиоксидантной активности:

женьшень > родиола > зверобой > элеутерококк > ромашка > толокнянка > пустырник > подорожник > эхинацея > шалфей;

и антирадикальной активности:

женьшень > родиола > элеутерококк > ромашка > зверобой > толокнянка = подорожник > эхинацея > пустырник > шалфей.

Таким образом, вольтамперные исследования БАС — потенциальных антиоксидантов — позволили, с нашей точки зрения, не только оценивать антиоксидантную активность препаратов в целом, как это описано в [20], но и разделить эффекты, связанные с их взаимодействием с перекисью водорода, исходным молекулярным кислородом и, главное, с гидроксильным радикалом — наиболее реакционноспособным интермедиатом восстановления кислорода.

В результате установлено, что наиболее эффективными из числа исследуемых экстрактов лекарственных растений являются зверобой, женьшень, родиола, элеутерококк и они могут найти применение при антиоксидантной терапии, как препараты, способные уменьшать токсическое влияние на организм свободнорадикальных продуктов восстановления кислорода.

Экстраполируя полученные данные на биосистемы, можно предположить, что эти препараты проявляют антирадикальную активность, снижая уровень гидроксильных радикалов в системе, а также антиокислительные свойства, блокируя процессы перекисного окисления. В тоже время, они облегчают процесс восстановления молекулярного кислорода.

Работа выполнена при финансовой поддержке Украинского научно-технологического центра, проект 2238.

Сравнение антиоксидантной активности настоек лекарственных растений

Исследуемый препарат	Концентрация максимальной эффективности, г/дм ³	Максимальное изменение высот волн восстановления кислорода в присутствии исследуемых препаратов по отношению к фоновым (h/h_0)		
		Волна		
		гидроксильных радикалов	молекулярного кислорода	пероксида водорода
Женьшень	0,8	0,38	1,05	0,36
Зверобой	1,13	0,68	1,12	0,46
Родиола	1,11	0,58	1,71	0,34
Элеутерококк	2,7	0,62	1,04	0,48
Ромашка	1,32	0,63	1,09	0,56
Пустырник	0,21	0,73	0,96	0,77
Толокнянка	0,7	0,69	0,93	0,69
Шалфей	0,88	0,86	1,00	0,96
Подорожник	1,13	0,69	0,85	0,82
Эхинацея	1,02	0,81	0,91	0,98

ЛИТЕРАТУРА

1. J. F. Ghersiegea, Y. Maupoil, D. Ray, L. Rochette, *Free Rad. Biol. Med.*, **24**, 1074 – 1081 (1998).
2. Е. Е. Дубинина, *Вопросы мед. химии*, **47**(6), 562 – 581 (2001).
3. M. A. Oturan and J. Pinson, *J. Electroanal. Chem.*, **334**, 103 – 109 (1992).
4. M. Fontecave and J. L. Pierre, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **128**, 502 – 520 (1991).

5. А. Н. Осипов, О. А. Азизова, Ю. А. Владимиров, *Успехи биологической химии*, **31**, 180 – 208 (1990).
6. Е. Б. Меншикова, Н. К. Зеньков, С. М. Шергин, *Биохимия окислительного стресса (оксиданты и антиоксиданты)*, Новосибирск (1994), сс. 1 – 204.
7. В. И. Кулинский, Л. С. Колесниченко, *Успехи современной биологии*, **110**, № 1(4), 20 – 31 (1990).
8. Ю. Л. Губский, Н. Н. Юрженко, Г. С. Шаповал и др., *Укр. биохим. журн.*, **70**(3), 128 – 134 (1998).
9. Н. Л. Максютин, Л. Б. Пилипчук, *Фармац. журн.*, **2**, 35 – 41 (1996).
10. И. Д. Стальная, *Метод определения диеновых конъюгаций ненасыщенных жирных кислот*, В кн.: *Современные методы биохимии*, В. Н. Орехович (ред.), Медицина, Москва (1977), сс. 63 – 64.
11. С. Г. Благородов, А. Л. Шепелев, И. А. Дмитриева и др., *Хим.-фарм. журн.*, **21**(3), 292 – 294 (1987).
12. С. Г. Богатырева, А. Л. Бучаченко, *Успехи химии*, **44**(12), 2171 – 2204 (1975).
13. M. Courtois, Y. Maupoil, E. Fantini, et al., *Free Rad. Biol. Med.*, **24** (1), 121 – 131 (1998).
14. W. Bors, C. Michel, and M. Saran, *Handbook of methods of oxygen radical research*, Boca Raton (Fla), (1986), pp. 181 – 188.
15. В. Ф. Громовая, Г. С. Шаповал, В. Л. Кухарь, В. И. Пивень, *Допов. НАН України*, **3**, 92 – 94 (1995).
16. В. Ф. Громовая, Г. С. Шаповал, А. И. Луйк, *Хим.-фарм. журн.*, **28**(11), 11 – 15 (1994).
17. В. М. Зимин, *Библиотека лекарственных растений. 400 лекарственных растений*, АО “Дорваль”, Т. 1, С.-Петербург (1993).
18. В. Ф. Громовая, Г. С. Шаповал, И. Е. Миронюк, *Журн. общей химии*, **72**(5), 828 – 831 (2002).
19. Г. С. Шаповал, В. Ф. Громовая, *Укр. биохим. журн.*, **75**(2), 5 – 13 (2003).
20. И. В. Большакова, Е. Л. Лозовская, И. И. Сапежинский, *Биофизика*, **43**(2), 186 – 188 (1998).

Поступила 15.05.06

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF SOME MEDICINAL PLANTS

Y. P. Gromovaya, G. S. Shapoval, I. E. Mironyuk, and N. V. Nestyuk

Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine

The antioxidant activity of the tinctures of some medicinal plants has been studied using a pulsed voltammetric technique. The effective concentrations are evaluated and the series of antioxidant and radical-scavenging activity determined. The most pronounced antioxidant properties are observed for *Hypericum*, *Ginseng*, *Rhodiola*, and *Eleutherococcus* species. The possible mechanisms of antioxidant and radical-scavenging activity in humans are discussed.