

© Коллектив авторов, 2007

М. В. Веселова¹, С. А. Федорев¹, Н. А. Василевская¹, В. А. Денисенко¹,
А. В. Герасименко²

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИФЕНОЛОВ ИЗ ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО РАСТЕНИЯ ТИСА ОСТРОКОНЕЧНОГО

¹ Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток;

² Институт химии ДВО РАН, Владивосток.

Проведено фитохимическое исследование полифенолов древесины и корней тиса остроконечного. Выделено 4 лигнана (+)-таксирезинол, (+)-изотаксирезинол, (+)-изоларицерезинол и (-)-секоизоларицерезинол и 2 катехина — (+)-катехин и (-)-эпикатехин, структуры которых установлены на основании спектральных данных. Методом ВЭЖХ было показано, что древесина, кора, корни, стебли и хвоя тиса синтезируют различные количества лигнанов и катехинов. Антиоксидантная и антирадикальная активности выделенных соединений оценены методами *in vitro*.

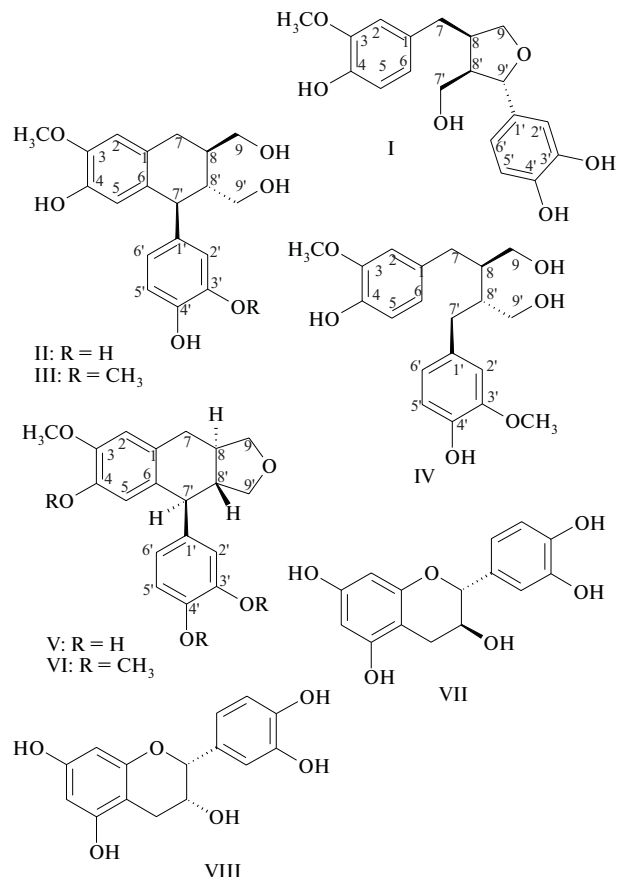
Паклитоксел (таксол) и его полусинтетическое производное доцетоксел (таксотере) — два наиболее важных таксановых алкалоида, в настоящее время используются для лечения различных опухолевых заболеваний [1]. Таксономически различные виды тиса, представляющие собой большое разнообразие декоративных и вечнозеленых деревьев и кустарников, составляют род *Taxus*, который, в свою очередь, принадлежит сем. Таксасеае [2]. Кроме таксановых алкалоидов и дитерпеноидов в различных видах рода *Taxus* были идентифицированы несколько сотен физиологически активных соединений, которые представляют собой стероиды, дитерпены, полисахариды, флавоноиды, лигнаны и другие соединения [2]. Лигнаны — большая группа природных полифенольных соединений, широко распространенных в корнях, коре, древесине, плодах и семенах многих видов растений *Salvia*, *Galium*, *Kadsura*, *Artemisia* [3], также были обнаружены во многих представителях тисовых, таких как *T. baccata* [4–8], *T. cuspidata* [9], *T. wallichiana* [10], *T. mairei* [11], *T. brevifolia* [12], *T. yunnanensis* [13]. Возросший в последние годы интерес к природным лигнанам и их синтетическим производным обусловлен использованием их в химиотерапии при лечении онкологических заболеваний [14]. Они также обладают антипролиферативной активностью и являются факторами некроза ряда опухолей [13]. Лигнаны проявляют целый спектр биологических активностей, как на модельных системах, так и на животных. К ним относятся противовирусная, иммуностабилзирующая, противогрибковая, противоастматическая и другие виды активностей [15–17]. При увеличении содержания природных лигнанов в диете у человека резко снижается риск заболевания эстрогензависимыми и сердечнососудистыми болезнями [17].

Целью настоящей работы явилось фитохимическое изучение полифенолов тиса остроконечного (*Taxus*

cuspidata Sieb. et Zucc.) и исследование их антиоксидантных и антирадикальных свойств.

Экспериментальная химическая часть

¹H и ¹³C ЯМР спектры получены на ЯМР спектрометрах DPX-300 и DRX-500 (Германия) с рабочими частотами 300 и 500 МГц для ядер ¹H и 125 МГц для



ядер ^{13}C в ацетоне- d_6 . Внутренний стандарт — ТМС. Оптическое вращение определяли на спектрополяриметре Perkin-Elmer 131. КД-спектры снимали на спектрофотометре JASCO-J 500A (Япония), УФ-спектры — на спектрофотометре Cecil CE 7250 (Великобритания), ИК-спектры — на спектрофотометре FT-IR Bruker Vector 22 (Германия). Масс-спектры регистрировали на масс-спектрометре AMD-604S методом электронной ионизации. Энергия ионизирующих электронов 10 эВ. Температуру плавления определяли на столике Бютиуса (Германия). Аналитическую ВЭЖХ проводили на хроматографе Agilent Technologies (серия 1100), снабженном системой насосов высокого давления QuatPump G1311A, дегазатором DEGASSER G1322A, инжектором G1328B и детектором VWD G1314A. Результаты анализов обрабатывались программой ChemStations® program var. 09 (Германия).

Выделение лигнанов и катехинов

130 г высушенных на воздухе корней тиса измельчали до опилок и дважды экстрагировали настаиванием этиловым спиртом (500 мл) при комнатной температуре в течение 48 ч. Объединенные спиртовые экстракты концентрировали под вакуумом. Сухой остаток (7,5 г; 5,86 %) дополнительно экстрагировали при нагревании смесью растворителей гексан – хлороформ в соотношении 10:1. 3 г очищенных от растительных восков полифенолов хроматографировали на колонке с силикагелем КСК последовательно в системах растворителей: гексан, гексан – хлороформ, хлороформ, хлороформ – этанол, этанол. Фракции анализировали ТСХ опрыскиванием их 3 % спиртовым раствором FeCl_3 . Каждую фракцию, содержащую лигнаны и катехины, дважды хроматографировали на колонке с сефадексом LH-20 в системах растворителей хлороформ – этанол, 7:3 и 7:1 В результате были выделены 4 лигнана (I – IV) и 2 катехина (VII, VIII) с выходами 0,06; 0,14; 0,04; 0,04; 0,02; 0,01 г соответственно.

(+)–Таксирезинол (I): т.пл. 82 – 86 °С. $[\alpha]_D^{20} +29,07^\circ$ (с 1,037 мг/мл $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$). лит [8, 9]. УФ-спектр ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), λ_{max} , нм (lg ϵ): 202 (4,81); 227 пл. (4,04); 283 (3,76). ИК-спектр, ν_{max} , cm^{-1} (CHCl_3): 3608, 3551, 2975, 2937, 2850, 1604. КД-спектр (с 1,037 мг/мл $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), θ_{max} , нм: 235 (–18048); 284 (–628).

(+)–Изогаксирезинол (II): т.пл. 108 – 109 °С, лит. [4]. $[\alpha]_D^{20} +43,13^\circ$ (с 0,997 мг/мл $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$). УФ-спектр, ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), λ_{max} , нм (lg ϵ): 284(3,81); 227 пл. (4,14); 205 (4,74). ИК-спектр, ν_{max} , cm^{-1} (CHCl_3): 3605, 3554, 2928, 2855; 1602. КД-спектр (с 1,45 мг/мл $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), θ_{max} , нм: 225 (+7159), 238 (+16226), 275 (+11931), 291 (–19567).

(+)–Изоларицирезинол (III): т.пл. 153 – 155 °С. $[\alpha]_D^{20} +36^\circ$ (с 1,5 мг/мл $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) лит. [6]. УФ-спектр, ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), λ_{max} , нм (lg ϵ): 284 (1,95). ИК-спектр, ν_{max} , cm^{-1} (CHCl_3): 3626, 3543, 3054, 2939, 2847, 1513. КД-спектр (с 0,63 мг/мл $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), θ_{max} , нм: 240 (–925), 250 (–97), 260 (–49), 270 (+243), 290 (+1704).

(–)–Секонизоларицирезинол (IV): т.пл. 109 – 110 °С. $[\alpha]_D^{20} -31,5^\circ$ (с 6 мг/мл $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) лит.

[18]. УФ-спектр, ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), λ_{max} , нм (lg ϵ): 230 (1,68); 282 (1,35). ИК-спектр, ν_{max} , cm^{-1} (CHCl_3): 3624, 3544, 3010, 2940, 1613, 1514. КД-спектр (с 1,79 мг/мл $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), θ_{max} , нм: 240 (+30695), 252 (+1989). 275 (+17905), 300 (–27568).

(7'S,8R,8'R)-3',4,4'-тригидрокси-5-метокси-9,9'-эпокси-2,7'-циклолигнан (V).

К раствору 0,047 г II в сухом ацетоне (15 мл) добавляли хлорную кислоту по каплям (3 капли). Реакцию проводили при температуре кипения ацетона в течение 1 ч с использованием молекулярных сит 4A. Реакционную смесь нейтрализовали раствором соды, концентрировали под вакуумом и хроматографировали на сефадексе LH-20 в системе хлороформ – этанол, 10:1. Получили 0,024 г (54 %) соединения V, т.пл. 113 – 116 °С. $[\alpha]_D^{20} -77,3^\circ$ (с 1,17 мг/мл EtOH). УФ-спектр, ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), λ_{max} , нм (lg ϵ): 284 (3,73); 272 пл (4,04); 205 (4,63). ИК-спектр, ν_{max} , cm^{-1} (CHCl_3): 3599; 3549; 3037; 3010; 2935; 2854; 1608; 1510; 1465. КД-спектр (с 1,17 мг/мл $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), θ_{max} , нм: 226 (–7917), 238 (+5655), 248 (–678), 273 (+8822), 290 (–22340).

(7'S,8R,8'R)-3',4,4',5-тетраметокси-9,9'-эпокси-2,7'-циклолигнан (VI).

К раствору 0,024 г лигнана V в метаноле (1 мл) добавляли 2 мл раствора диазометана в серном эфире. Через сутки реакционную смесь упаривали и кристаллизовали из MeOH. Получили 0,022 г (96 %) соединения VI. Бесцветные кристаллы, т.пл. 147 – 149 °С. $[\alpha]_D^{20} -37,77^\circ$ (с 1,271 мг/мл, $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$). УФ-спектр, ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), λ_{max} , нм (lg ϵ): 280 (3,61); 233 (3,96). ИК-спектр, ν_{max} , cm^{-1} (CHCl_3): 3009, 2964, 2935, 2855, 1609, 1593, 1513, 1465. КД-спектр (с 0,63 мг/мл $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), θ_{max} , нм: 260 (+87339), 277 (–26201).

Определение антирадикальной активности полифенолов

Определение антирадикальной активности полифенолов проводили по модифицированной методике [19]. Для проведения экспериментов использовали свежеприготовленные растворы ДФПГ и исследуемых веществ. Измеряли оптическую плотность A исходного спиртового раствора ДФПГ (10^{-4} М) при λ 517 нм. К 3 мл раствора ДФПГ добавляли по 10 – 100 мкл 0,01М спиртовых растворов исследуемых веществ, выдерживали смесь в течение 10 мин в темноте при комнатной температуре и замеряли оптическую плотность ΔA полученных растворов. Количество ДФПГ радикалов (n), связываемых одной молекулой исследуемого вещества, рассчитывали по формуле:

$$n = \frac{\Delta A}{A} \times \frac{M(\text{ДФПГ})}{M(\text{АО})},$$

где M (ДФПГ) — количество молей ДФПГ в растворе; M (АО) — количество молей исследуемого антиоксиданта в растворе.

Определение антиоксидантной активности полифенолов

В стеклянные бюксы объемом 10 мл помещали 300 мкл очищенного от перекисей линетола и добавляли исследуемые вещества и ионол (образец сравнения) в исходной концентрации 0,01М в объемах 5, 10, 15, 20, 25 и 30 мкл. Подготовленные таким образом пробы помещали в термостат и выдерживали при температуре 55 °С. Через каждые 12 ч пробы вынимали, охлаждали до комнатной температуры и взвешивали. За время выхода пробы из периода индукции (τ) принимали время, за которое масса пробы увеличивалась на 10 мг. Время выхода пробы из периода индукции без добавления антиоксиданта (чистый линетол) — τ_0 . Период индукции вещества — $\Delta\tau$ [20].

$$\Delta\tau = \tau - \tau_0.$$

Результаты и их обсуждение

Лигнаны и катехины выделяли методами колоночной хроматографии из спиртовых экстрактов корней и древесины *T. cuspidata*. Структуры выделенных соединений I, II, III, IV и их химических производных V и VI были определены на основании анализа ^1H и ^{13}C

ЯМР спектров с использованием данных двумерных экспериментов COSY, HSQC, HMBC (табл. 1 и 2).

Вещества VII и VIII также были выделены из корней тиса и идентифицированы как (+)-катехин и (-)-эпикатехин сравнением их спектральных и физико-химических параметров с лит. данными [21, 22]. Лигнан V был синтезирован из изотаксирезинола (II). Для подтверждения структуры и абсолютной стереохимии лигнанов II, V и VI нами было проведено рентгеноструктурное исследование (7'S,8R,8'R)-3',4,4',5'-тетраметокси-9,9'-эпокси-2,7'-циклолигнана (VI) (рис. 1).

Рентгеновский эксперимент выполнен при температуре 173 К на дифрактометре BRUKER SMART-1000 CCD (MoK α -излучение, графитовый монохроматор). Кристаллы VI моноклинные: $a = 5,1562(7)$, $b = 11,582(2)$, $c = 15,878(2)$ Å, $\beta = 95,471(3)^\circ$; пр.гр. P2 $_1$; $Z = 2$ Структура определена прямым методом и уточнена методом наименьших квадратов в анизотропном приближении не водородных атомов до $R1 = 0,0401$ и $wR2 = 0,0779$ для 1800 независимых отражений с $F^2 > 2\sigma(F^2)$. Положения атомов водорода рассчитаны геометрически и включены в уточнение в модели “наездника”. Сбор и редактирование данных, уточнение параметров элементарной ячейки проведены по программам SMART

Таблица 1
Химические сдвиги сигналов (δ , м.д., ацетон- d_6) и константы взаимодействия (J, Гц) в спектрах ^1H ЯМР соединений: I – IV (300 МГц) и V, VI (500 МГц)

Атом	I	II	III	IV	V	VI
2	6,78 (д, 1H, J 2,0)	6,65 (с, 1H)	6,19 (с, 1H)	6,72 (д, 1H, J 2,0)	6,68 (с, 1H)	6,65 (с, 1H)
5	6,75 (д, 1H, J 8,3)	6,12 (д, 1H, J 1,0)	6,67 (с, 1H)	6,68 (д, 1H, J 8,0)	6,27 (д, 1H, J 0,9)	6,31 (с, 1H)
6	6,66 (дд, 1H, J ₁ 2,0, J ₂ 8,3)			6,57 (дд, 1H, J ₁ 2,0, J ₂ 8,3)		
7a	2,47 (дд, 1H, J ₁ 13,3, J ₂ 10,8)	2,69 (д, 2H, J 8,0)	2,69 – 2,58 (м, 2H)	2,60 (дд, 1H, J ₁ 13,8, J ₂ 7,4)	2,70 (дд, 1H, J ₁ 15,6, J ₂ 9,9)	2,76 (дд, 1H, J ₁ 15,4, J ₂ 12,0)
7e	2,86 (дд, 1H, J ₁ 13,3, J ₂ 4,8)			2,70 (дд, 1H, J ₁ 13,8, J ₂ 6,9)	2,96 (дд, 1H, J ₁ 15,6, J ₂ 4,4)	3,01 (дд, 1H, J ₁ 15,4, J ₂ 4,7)
8	2,65 (м, 1H)	1,85 (м, 1H)	1,81 (м, 1H)	1,62 (м, 1H)	2,12 – 2,20 (м, 1H)	2,27 (м, 1H)
9a	3,61 (дд, 1H, J ₁ 8,3, J ₂ 6,6)	3,61 (м, 2H)	3,85 – 3,65 (м, 2H)	3,37 (дд, 1H, J ₁ 12,36, J ₂ 4,4)	3,44 (дд, 1H, J ₁ 7,7, J ₂ 5,2)	3,55 (дд, 1H, J ₁ 10,0, J ₂ 7,8)
9e	3,90 (дд, 1H, J ₁ 8,3, J ₂ 6,5)			3,83 (дд, 1H, J ₁ 12,7, J ₂ 1,7)	4,10 (т, 1H, J 7,0)	3,81 (м, 1H)
2'	6,78 (д, 1H, J 2,0)	6,55 (д, 1H, J 2,1)	6,77 (д, 1H, J 8,0)	6,72 (д, 1H, J 2,0)	6,59 (д, 1H, J 2,0)	6,59 (д, J 2,0)
5'	6,72 (д, 1H, J 8,3)	6,74 (д, 1H, J 8,0)	6,76 (д, 1H, J 2,0)	6,68 (д, 1H, J 8,0)	6,76 (д, 1H, J 8,0)	6,81 (д, 1H, J 8,0)
6'	6,64 (д, 1H, J ₁ 8,3, J ₂ 2,0)	6,50 (дд, 1H, J ₁ 8,0, J ₂ 2,1)	6,62 (дд, 1H, J ₁ 8,0, J ₂ 2,0)	6,57 (дд, 1H, J ₁ 8,0, J ₂ 2,0)	6,52 (дд, 1H, J ₁ 8,0, J ₂ 2,0)	6,72 (дд, 1H, J ₁ 8,0, J ₂ 2,0)
7'a				2,60 (дд, 1H, J ₁ 13,8, J ₂ 7,4)		
7'e	4,66 (д, 2H, J 6,2)	3,67 (д, 2H, J 10,0)	3,85 – 3,65 (м, 2H)	2,70 (дд, 1H, J ₁ 13,8, J ₂ 6,9)	3,62 (д, 2H, J 10,2)	3,76 (д, 2H, J 10,4)
8'	2,23 (м, 1H, J _{1,2} 6,7, J _{3,4} 7,2)	1,71 (м, 1H, J ₁ 3,1, J ₂ 4,7, J _{3,4} 10,0)	1,98 (м, 1H)	1,62 (м, 1H)	2,12 – 2,20 (м, 1H)	2,22 (м, 1H)
9'a	3,57 (м, 1H)	3,33 (дд, 1H, J ₁ 4,7, J ₂ 11,1)	3,85 – 3,65 (м, 1H)	3,37 (дд, 1H, J ₁ 12,36, J ₂ 4,4)	3,47 (дд, 1H, J ₁ 7,7, J ₂ 5,2)	3,54 (дд, 1H, J ₁ 10,0, J ₂ 7,8)
9'e	3,75 (м, 1H)	3,58 (дд, 1H, J ₁ 3,0, J ₂ 11,1)	3,40 (м, 1H)	3,83 (дд, 1H, J ₁ 12,7, J ₂ 1,7)	3,70 (т, 1H, J 7,0)	4,22 (т, J 7,3)
OMe	3,81 (с, 3H)	3,78 (с, 3H)	3,78 (с, 3H), 3,79 (с, 3H)	3,75 (с, 6H)	3,82 (с, 3H)	3,60 (с, 3H), 3,80 (с, 3H), 3,87 (с, 3H), 3,89 (с, 3H)
OH	6,35 (с, 1H), 6,65 (с, 2H), 2,58 (т, 1H, J 5,5)	6,05 (с, 1H), 6,51 (ш.с., 2H)	7,14 (с, 1H), 7,42 (с, 1H)	7,35 (ш.с., 2H)	6,75 (с, 1H), 6,76 (с, 2H)	

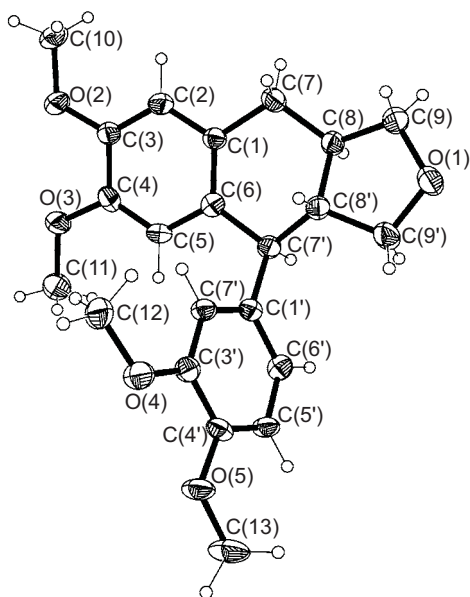


Рис. 1. Молекулярная и кристаллическая структура вещества VI.

и SAINT Plus [23]. Все расчеты по определению и уточнению структуры выполнены по программам SHELXTL/PC [24]. Кристаллографическая информация для соединения депонирована в Кембриджском банке структурных данных CCDC № 285469.

Методом ВЭЖХ было проведено определение содержания полифенолов в различных органах растений, собранных летом 2002 года в Хасанском и Красноармейском районах Приморского края. Спиртовые экстракты (1 мл), приготовленные из 0,2 г тиса остроконого, анализировали на колонке ZORBAX Eclipse®

Таблица 2
Химические сдвиги сигналов (δ , м.д. ацетон- d_6) в спектрах ^{13}C ЯМР соединений: I – IV (300 МГц) и V, VI (500 МГц).

Атом	I	II	III	IV	V	VI
1	133,1	133,9	127,4	132,4	133,7	133,2
2	112,7	111,8	111,4	111,7	112,7	113,5
3	147,9	146,3	146,0	146,6	146,6	151,3
4	144,6	145,1	144,4	143,7	145,3	149,7
5	115,4	116,8	116,3	114,3	116,5	114,3
6	121,5	128,3	132,1	121,5	127,9	129,7
7	33,2	33,5	33,5	35,8	32,7	33,3
8	41,3	40,3	40,2	43,7	43,1	43,4
9	72,8	65,8	64,4	60,5	73,2	73,8
1'	136,5	138,7	149,2	132,4	137,7	138,8
2'	113,5	116,8	117,0	111,7	115,8	113,6
3'	145,3	145,6	145,8	146,6	145,8	149,9
4'	145,4	144,0	146,7	143,7	144,4	149,6
5'	115,4	115,5	110,4	114,3	115,8	115,1
6'	117,8	121,6	122,0	121,5	120,5	121,7
7'	82,8	47,6	47,6	35,8	49,8	50,9
8'	53,7	48,2	48,3	43,7	51,5	52,4
9'	60,1	62,1	64,4	60,5	72,4	73,0
OMe	55,9	56,1	2 × 56,0	2 × 55,7	56,0	56,3
						56,4
						2 × 56,5

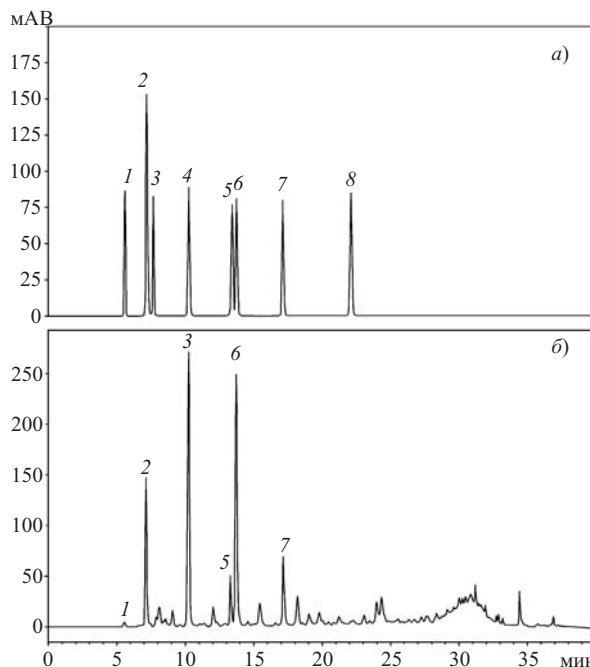


Рис. 2. а) ВЭЖХ-смеси индивидуальных катехинов и лигнанов: 1 — (VIII), 2 — СО кофейной кислоты, 3 — (VII), 4 — (II), 5 — (III), 6 — (I), 7 — (IV), 8 — (V). б) ВЭЖХ-спиртового экстракта древесины *T. cuspidata*.

се® XDB-C₈ (5 мкм, 150 × 4,6 мм), термостатированной при 30 °С. Подвижная фаза содержала 1 % водную уксусную кислоту (А) и ацетонитрил (В). Для анализа использовали трехступенчатую программу: 0 – 6 мин, 10 – 27 % В; 6 – 20 мин, 27 – 70 % В, 20 – 25 мин, 70 – 27 % В; скорость потока — 1 мл/мин, λ — 280 нм. Для количественного определения содержания полифенолов были экспериментально определены коэффициенты чувствительности индивидуальных соединений I, II, III, IV, V, VI и VII относительно стандартного образца (СО) кофейной кислоты при λ 280 нм. Каждый образец для ВЭЖХ содержал 450 мкл экстракта и 50 мкл СО. Результаты проведенных исследований приведены на рис. 2 и в табл. 3.

Таблица 3
Содержание лигнанов и катехинов в различных органах растения *T. cuspidata*

Органы растения	Содержание лигнанов и катехинов в сухих экстрактах (%)					
	I	II	III	IV	VII	VIII
Хасанский район Приморья						
древесина	2,04	1,96	0,29	1,15	—	—
хвоя	—	0,07	—	—	0,80	—
стебли	0,03	0,06	—	0,05	0,78	0,13
кора	0,05	0,06	—	—	0,34	0,79
корни	0,36	0,17	—	0,21	0,15	0,17
Красноармейский район Приморья						
древесина	0,083	0,1	0,01	0,01	0,0003	—
хвоя	0	—	—	—	0,0004	0,001
стебли	—	0,01	—	0,001	—	—
кора	0	—	—	0,003	0,08	0,15
корни	0,005	0,02	—	0,007	0,02	0,02

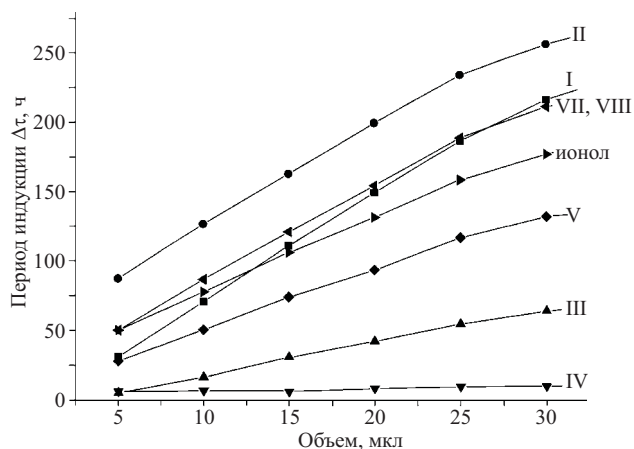


Рис. 3. Антиоксидантная активность полифенолов из *T. cuspidata* на модели термического окисления линетола.

В измельченной древесине *T. cuspidata* (Хасанский район) накапливается наибольшее количество лигнанов I – V, причем содержание таксирезинола (I) и изотаксирезинола (II) в ней достигало 2 %. В коре, стеблях и корнях растения также синтезируются лигнаны и катехины, но в значительно меньших количествах. Хвоя, в основном, содержит катехины.

Содержание полифенолов в тисе остроконечном весьма сильно зависит от места его произрастания. В образцах растений, собранных на юге Приморского края (Хасанский район), было обнаружено значительно больше полифенолов, чем в образцах из северных районов (Красноармейский район) (табл. 3). Вероятно, это связано с различными климатическими условиями произрастания этого растения.

Для исследования антирадикальных и антиоксидантных свойств соединений I – V, VII и VIII было использовано два метода: 1) обесцвечивание спиртового раствора ДФПГ, 2) ингибирование окисления линетола. Результаты, полученные из ДФПГ теста, показали, что лигнаны и катехины в разной степени обладали антирадикальной активностью:

I — 1,1; II — 2,3; III — 0,7; IV — 0,6; V — 0,9; VII — 1,9; VIII — 1,9; α -токоферол — 2,6.

Известно, что антирадикальная активность фенольных соединений зависит от числа и взаимного расположения гидроксильных групп в молекуле. Результаты, полученные из ДФПГ теста, показали, что соединения II, VII и VIII с двумя *орто*-гидроксильными группами в ароматическом ядре являются наиболее активными среди испытуемых веществ. Причем соединение II показало антирадикальную активность, сопоставимую с активностью α -токоферола. Наличие двух первичных алифатических гидроксильных групп в соединении II вносит дополнительный вклад в уровень антирадикальной активности. Вещества III и IV, имеющие в ароматических фрагментах молекул только по одному фенольному гидроксилу, показали меньшую антирадикальную активность. Соединения I, II, VII и VIII также ингибировали автоокисление линетола, причем значительно эффективнее ионола. Соеди-

нение IV в концентрации 10^{-6} М практически не оказывало стабилизирующего действия при окислении линетола (рис. 3).

Сопоставляя данные по антирадикальной и антиоксидантной активности соединений I – VIII, можно сделать вывод, что наибольшую активность проявляют полифенолы, содержащие две гидроксильные группы в *орто*-положении в ароматическом фрагменте и имеющие дополнительные алифатические гидроксильные группы в молекулах. Известно, что стабилизирующий эффект многих антиоксидантов обусловлен улавливанием как кислородных радикалов, инициирующих окисление, так и гидропероксильных радикалов, развивающих цепную реакцию окисления липидов [25]. На основании проведенных экспериментов можно утверждать, что антиоксиданты тиса I, II, VII и VIII на всех стадиях окисления способны эффективно улавливать гидропероксильные радикалы и обрывать развитие цепной реакции, как это делает α -токоферол. Применение природных антиоксидантов растительного происхождения, чаще всего которыми являются вещества полифенольной природы, для лечения и профилактики свободнорадикальных патологий показало ряд преимуществ. Для большинства из них характерно отсутствие побочных эффектов, они обладают низкой токсичностью и эффективно воздействуют на различные факторы повреждения сердечнососудистой системы.

Таким образом, полифенолы тиса остроконечного с высокими антиоксидантными показателями являются перспективными для последующих фармакологических исследований с целью создания на их основе эффективных лекарственных средств.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ и Программой фундаментальных исследований Президиума РАН.

ЛИТЕРАТУРА

1. G. Parc, A. Canaguier, P. Landre, et al., *Phytochemistry*, **59**, 725 – 730 (2002).
2. V. S. Parmar, A. Jha, K. S. Bisht, et al., *Phytochemistry*, **50**, 1267 – 1304 (1999).
3. Y. Lu and L. Y. Foo, *Phytochemistry*, **59**, 117 – 140 (2002).
4. F. E. King, L. Jurd and T. J. King, *J. Chem. Soc.*, 17 – 24 (1952).
5. R. B. Mujumdar, R. Srinivasan, and K. Venkataraman, *Indian J. Chem.*, **10**, 677 – 680 (1972).
6. B. Das, M. Takhi, K. V. N. S. Srinivas, and J. S. Yadav, *Phytochemistry*, **36**(4), 1031 – 1033 (1994).
7. N. Erdemoglu, B. Sener, Y. Ozcan, and S. Ide, *J. Mol. Struct.*, **655**, 459 – 466 (2003).
8. N. Erdemoglu, E. Sahin, B. Sener, and S. Ide, *J. Mol. Struct.*, **692**, 57 – 62 (2004).
9. F. Kawamura, Y. Kikuchi, T. Ohira, and M. Yatagai, *J. Wood Sci.*, **46**, 167 – 171 (2000).
10. R. W. Miller, J. L. McLaughlin, R. G. Powell, et al., *J. Nat. Prod.*, **45**(1), 78 – 82 (1982).
11. Y.-C. Shen, C.-Y. Chen, Y.-M. Lin, and Y.-H. Kuo, *Phytochemistry*, **46**, 1111 – 1113 (1997).
12. H. Erdtman and K. Tsuno, *Phytochemistry*, **8**, 931 – 932 (1969).
13. A. H. Banskota, N. T. Nguyen, Y. Tezuka, et al., *Life Sci.*, **74**, 2781 – 2792 (2004).
14. C. Zhao, A. Nagatsu, and K. Hatano, *Chem. Pharm. Bull.*, **51**, 255 – 261 (2003).
15. J. L. Charlton, *J. Nat. Prod.*, **61**, 1447 – 1451 (1998).

16. J. Ishida, H.-K. Wang, M. Oyama, et al., *J. Nat. Prod.*, **64**, 958 – 960 (2001).
17. B. Raffaelli, A. Hoikkala, E. Leppälä, and K. Wähälä, *J. Chromatogr. B*, **777**, 29 – 43 (2002).
18. S. F. Fonseca, J. P. Campello, L. E. S. Barata, and E. A. Ruveda, *Phytochemistry*, **17**, 499 – 502 (1978).
19. Y. Senba, T. Nishishita, K. Saito, et al., *Chem. Pharm. Bull.*, **47**(10), 1369 – 1374 (1999).
20. О. Б. Максимов, П. Г. Горовой, Г. Н. Чумак, *Раст. реч.*, № 4, 487 – 498 (1990).
21. S.-s. Jew, D.-y. Lim, S.-y. Bae, et al., *Tetrahedron: Asymmetry*, **13**, 715 – 720 (2002).
22. D. Jacques, C. T. Opie, L. J. Porter, et al., *J. Chem. Soc. Perkin I*, **14**, 1637 – 1643 (1977).
23. Bruker, *SMART and SAINT-Plus. Versions 5.0. Data Collection and Processing Software for the SMART System. Bruker AXS Inc.*, Madison, Wisconsin, USA (1998).
24. G. M. Sheldrick, *SHELXTL / PC. Versions 5.10. An Integrated System for Solving, Refining and Displaying Crystal Structures from Diffraction Data. Bruker AXS Inc.*, Madison, Wisconsin, USA (1998).
25. Н. К. Уткина, А. Е. Макаренко, О. В. Щелокова, М. В. Вирова, *Химия природ. соед.*, № 4, 305 – 308 (2004).

Поступила 06.10.05

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF POLYPHENOLS FROM FAR-EAST PLANT *Taxus cuspidata*

M. V. Veselova¹, S. A. Fedoreev¹, N. A. Vasilevskaya¹, V. A. Denisenko¹, and A. V. Gerasimenko²

¹ Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far-East Division, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia;

² Institute of Chemistry, Far-East Division, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

Phenolic components of the wood and roots of *Taxus cuspidata* have been isolated and investigated. Four lignans [(+)-taxiresinol, (+)-isotaxiresinol, (+)-isolariciresinol, (-)-sec-isolariciresinol] and two catechols [(+)-catechol, (-)-epicatechol] were identified using spectroscopic techniques. HPLC data showed that wood, bark, roots, stems, and needles of the plant contain different amounts of lignans and catechols. Antioxidant and radical-scavenging activities of polyphenols were evaluated on two *in vitro* model systems.