

Н.К. Татарина¹, И.В. Свиридов¹, А.А. Торопова¹, Л.Н. Шантанова^{1,2}, Л.Л. Гармаева¹АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ СУХИХ ЭКСТРАКТОВ *RHAPONTICUM UNIFLORUM* (L.) DC¹ Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН (Улан-Удэ)² Бурятский государственный университет (Улан-Удэ)

Исследовали антиоксидантную активность в условиях *in vitro* сухих экстрактов СЭЛ-1 и СЭЛ-2, полученных из *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC, обладающих выраженным антирадикальным действием в отношении связывания DPPH-радикала (IC_{50} (СЭЛ-2) = 2,0 мкг/мл). Выявлена их способность к инактивации ряда активных форм кислорода ($O_2^{\cdot-}$, NO). В отношении $O_2^{\cdot-}$ -анион радикала фитосредства проявляют умеренную, а в отношении NO – выраженную антирадикальную активность (IC_{50} (СЭЛ-2) = 311,0 мкг/мл). Обнаружено наличие умеренной Fe^{2+} -хелатирующей активности исследуемых экстрактов. Данный эффект обусловлен, по-видимому, содержанием фенольных соединений, фенолкарбоновых кислот, тритерпеновых сапонинов и дубильных веществ.

Ключевые слова: *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC, антиоксидантная активность, DPPH-радикал, супероксид-радикал, оксид азота

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE DRY EXTRACT *RHAPONTICUM UNIFLORUM* (L.) DCН.К. Tatarinova¹, I.V. Sviridov¹, A.A. Toropova¹, L.N. Shantanova^{1,2}, L.L. Garmayeva¹¹ Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude² Buryat State University, Ulan-Ude

A study of the antioxidant activity of the *in vitro* dry extracts DER-1 and DER-2 derived from *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC. It was established that the extracts have pronounced antiradical activity against DPPH-radical binding (IC_{50} (DER-2) = 2.0 mkg/ml). When studying the effect of the dry extracts a number of reactive oxygen species ($O_2^{\cdot-}$, NO) revealed that they exhibit their ability to inactivate. With respect to $O_2^{\cdot-}$ -anion radical extracts show moderate and against NO – expressed antiradical activity (IC_{50} (DER-2) = 311.0 mkg/ml). We also revealed the presence of moderate Fe^{2+} -chelating activity of the extracts studied. This effect is caused by apparently content of phenolic compounds, phenol carbonic acids, triterpene saponins and tannins.

Key words: *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC, antioxidant activity, DPPH-radicals, superoxide-radicals, nitrogen oxide

Исследованиями последних лет показано, что ведущим молекулярно-клеточным механизмом патогенеза многих заболеваний является дисбаланс в системе свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты [10]. Избыток свободных радикалов сопровождается индукцией процессов свободнорадикального окисления биомакромолекул, нарушая структурно-функциональную целостность клеточных мембран и, как следствие, повреждение клеток организма [2, 3]. В этой связи одним из путей повышения адаптации организма к неблагоприятным условиям окружающей среды, повышения его стресс-устойчивости является использование антиоксидантных и адаптогенных средств [4, 9]. Наиболее перспективным направлением представляется использование средств растительного происхождения, обладающих широким спектром действия, отсутствием токсичности и отрицательных побочных эффектов при их длительном назначении.

В традиционной медицине стран Восточных Азии для лечения заболеваний различной этиологии издавна применяются препараты на основе левзеи одноцветковой (*Rhaponticum uniflorum* (L.) DC). В извлечениях корневищ с корнями и надземной части *R. uniflorum* обнаружены сесквитерпеноиды (гермакран D, цинаропикрин, метакрилат дезацилцинаропикрина, эпоксиметакрилат дезацилцинаропикрина); дитерпеноид фитол [13], алкалоиды [7], флавоноиды

[5]. Несомненно, как и другие виды рода *Rhaponticum*, *R. uniflorum* содержит фитостеролы, полиацетиленовые соединения, стероиды, фенолкарбоновые кислоты, тритерпеновые сапонины и дубильные вещества.

В Институте общей и экспериментальной биологии СО РАН получены сухие экстракты *R. uniflorum*: сухой экстракт из корней и корневищ *R. uniflorum* (СЭЛ-1) и сухой экстракт из надземной части *R. uniflorum* (СЭЛ-2), представляющие собой комплекс экстрактивных веществ.

Цель работы: определить антиоксидантную активность сухих экстрактов *Rhaponticum uniflorum* в условиях *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растительное сырье (надземная часть, корни и корневища) было собрано в окрестностях г. Улан-Удэ в июле-октябре 2013 г. Сухие экстракты *R. uniflorum* из корней и корневищ (СЭЛ-1) и надземной части (СЭЛ-2) получены путем экстрагирования спирто-водной смесью с последующим концентрированием и упариванием. Материалы оформлены в виде заявки на способ получения указанных сухих экстрактов и находятся на стадии рассмотрения в ФИПС (Федеральный институт промышленной собственности).

Антирадикальную активность по отношению к супероксид-анион радикалу ($O_2^{\cdot-}$) определяли в

Таблица 1

Антиоксидантная активность сухих экстрактов *Rhaponticum uniflorum*, IC₅₀

Объект	DPPH-метод, мкг/мл	Fe ²⁺ , мкг/мл	O ₂ ^{•-} , мкг/мл	NO, мкг/мл
СЭЛ-1 (корни + корневища)	79,1 ± 1,1	> 1000	273,2 ± 7,1	334,1 ± 8,7
СЭЛ-2 (надземная часть)	2,0 ± 0,1	> 1000	406,0 ± 9,3	311,2 ± 8,4
АК ^а	4,8 ± 0,1	150,0 ± 5,3	101,0 ± 5,1	1140,0 ± 34,2
Ионол ^а	45,1 ± 1,3	–	–	–

Примечания. DPPH-метод – антирадикальная активность в отношении ДФПГ[•]; Fe²⁺ – Fe²⁺-хелатирующая активность; O₂^{•-} – связывание супероксид-анион радикала; NO – связывание молекул оксида азота (II); ^а – вещество сравнения.

неэнзиматической системе феназин-метосульфат / НАДН по методу A.-S. Chen et al. [11]; по отношению к DPPH-радикалам – по методу A. Seyoum et al. [15], по отношению к NO – по методу R. Govindarajan et al. [12]. Хелатирующую активность испытуемых средств определяли с использованием о-фенантролинового метода [8]. Значение результатов выражено через концентрацию исследуемого средства, необходимую для связывания 50 % реактивных частиц (IC₅₀). В качестве препарата сравнения использовали классические антиоксиданты: аскорбиновую кислоту (АК) (Sigma) и ионол (Sigma). Статистическую обработку полученных данных проводили согласно рекомендациям [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что исследуемые экстракты *R. uniflorum* обладают выраженной антиоксидантной активностью (табл. 1).

Установлено, что СЭЛ-1 и СЭЛ-2 обладают выраженной антирадикальной активностью в отношении DPPH-радикала, при этом уровень половинного ингибирования (IC₅₀) для исследуемых фитосредств составляет 2 мкг/мл и 79 мкг/мл соответственно. При этом антирадикальная активность СЭЛ-2 превосходит таковую препарата сравнения ионола. В эксперименте показано, что полученные экстракты проявляют умеренную Fe²⁺-хелатирующую активность, что обусловлено, по-видимому, низким содержанием в их составе полисахаридного комплекса.

При изучении влияния сухих экстрактов на ряд активных форм кислорода (O₂^{•-}, NO) выявлено, что они проявляют способность к их инактивации. В отношении O₂^{•-}-анион радикала фитосредства проявляют умеренную активность. Следует отметить, что данный вид активности экстрактов более выражен для СЭЛ-1 (IC₅₀ = 273 мкг/мл).

Показано, что исследуемые экстракты обладают выраженной антирадикальной активностью в отношении NO. Так, концентрация необходимая для связывания 50 % реактивных частиц для СЭЛ-1 составила 334 мкг/мл, а для СЭЛ-2 – 311 мкг/мл, что ниже таковой препарата сравнения – аскорбиновой кислоты (IC₅₀ = 1140,0 мкг/мл).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что экстракт из корней и корневищ *R. uniflorum*, а также экстракт из надземной части *R. uniflorum* проявляют выраженное антирадикаль-

ное и антиоксидантное действие за счет содержания терпеноидов, экистероидов и полифенольных соединений путем образования феноксильных радикалов, хелатирования ионов металлов переменной валентности и стабилизации мембран, вследствие способности фенолов проникать в липидный бислой [1, 14]. Результаты данных исследований позволяют рассматривать *R. uniflorum* в качестве потенциально перспективного антиоксидантного средства и дают основание для определения антиоксидантной активности сухого экстракта *R. uniflorum* в условиях *in vivo*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Президиума СО РАН, Интеграционный проект № 57.

ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES

1. Азам Н., Горошко О.А., Пахомова В.П. Антиоксидантная активность лекарственных субстанций и биологически активных веществ // Традиционная медицина. – 2009. – № 1. – С. 35–38.
2. Азам Н., Горошко О.А., Пахомова В.П. Antioxidant activity of medicinal substances and biologically active substances // Tradicionnaya medicina. – 2009. – N 1. – P. 35–38.
3. Активация свободнорадикального окисления – эфферентное звено типовых патологических процессов / под ред. Н.П. Чесноковой, М.Ю. Ледванова. – Саратов, 2006. – 177 с.
4. Активация свободнорадикального окисления – эфферентное звено типовых патологических процессов / eds N.P. Chesnokova, M.Y. Ledvanova. – Saratov, 2006. – 177 p.
5. Барабой В.А., Брехман И.И., Голожин В.Г. Перекисное окисление и стресс. – М.: Наука, 2004. – 148 с.
6. Baraboy V.A., Brekhman I.I., Golozhin V.G. Peroxidation and stress. – Moscow: Nauka, 2004. – 148 p.
7. Владимир Ю.А. Биологические мембраны и незапрограммированная гибель клетки // Соросов. образов. журн. ISSEP. – 2000. – Т. 6, № 9. – С. 2–9.
8. Vladimirov Yu.A. Biological membranes and unprogrammed cell death // Sorosovskiy obrazovatelnyy jurnal ISSEP. – 2000. – Vol. 6, N 9. – P. 2–9.
9. Головкин Б.Н., Руденская Р.Н., Трофимова И.А. и др. Биологически активные вещества растительного происхождения. – М.: Наука, 2001. – 350 с.
10. Golovkin B.N., Rudenskaya R.N., Trofimov I.A. et al. Biologically active substances of plant origin. – Moscow: Nauka, 2001. – 350 p.
11. Дерффель К. Статистика в аналитической химии. – М.: Мир, 1994. – 98 с.

Derffel K. Statistics in Analytical Chemistry. – Moscow: Mir, 1994. – 98 p.

7. Куваев В.Б., Блинова К.Ф. Предварительная химическая оценка лекарственных растений тибетской медицины, произрастающих в Забайкалье // Вопросы фармакогнозии. – 1961. – Вып. 1. – С. 113–162.

Kuvayev V.B., Blinov K.F. Chemical pre-evaluation of medicinal plants of Tibetan medicine, native to Transbaikalia // Voprosy farmacognosii. – 1961. – Vol. 1. – P. 113–162.

8. Оленников Д.Н., Зилфикаров И.Н., Торопова А.А., Ибрагимов Т.А. Химический состав сока каллизи душистой (*Callisia fragrans* Wood) и его антиоксидантная активность (*in vitro*) // Химия растительного сырья. – 2008. – № 4. – С. 95–100.

Olennikov D.N., Zilfikarov I.N., Toropova A.A., Ibragimov T.A. The chemical composition of *Callisia fragrans* Wood sap and its antioxidant activity (*in vitro*) // Himiya rastitelnogo sirya. – 2008. – N 4. – P. 95–100.

9. Федоров Ф.Н., Фурса Н.С., Митина Л.В. Сравнительная эффективность фармакопейных фитопрепаратов-адаптогенов // Практ. фитотерапия. – 1998. – № 1. – С. 7–11.

Fedorov F.N., Fours N.S., Mitin L.V. Comparative efficacy of pharmacopoeia herbal adaptogenic remedies // Practicheskaja phitoterapija. – 1998. – N 1. – P. 7–11.

10. Чеснокова Н.П., Моррисон В.В., Понукалина Е.Ф., Афанасьева Г.А. и др. О роли активации

свободнорадикального окисления в структурной и функциональной дезорганизации биосистем в условиях патологии // Фундаментальные исследования. – 2009. – № 5. – С. 122–130.

Chesnokova N.P., Morrison V.V., Ponukalina E.F., Afanasyeva G.A. et al. The role of activation of free radical oxidation in structural and functional disorganization biosystems in pathology // Fundamentalniiye issledovaniya. – 2009. – N 5. – P. 122–130.

11. Chen A.-S., Taguchi T., Sakai K., Kikuchi K. et al. Antioxidant activities of chitibiose and chititriose // Biological & Pharmaceutical Bulletin. – 2003. – Vol. 26. – P. 1326–1330.

12. Govindarajan R., Rastogi S., Vijayakumar M. Studies on the antioxidant activities of *Desmodium gagicum* // Biological & Pharmaceutical Bulletin. – 2003. – Vol. 26. – P. 1424–1427.

13. Huneck S., Knapp H.D. Inhaltsstoffe weiterer Compositen aus der Mongolei // Pharmazie. – 1986. – Bd. 41, N 9. – S. 673.

14. Nijveldt R.J., van Nood E., van Hoorn D.E.C., Boelens P.G. et al. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications // Am. J. Clin. Nutr. – 2001. – Vol. 74. – P. 418–425.

15. Seyoum A., Asres K., El-Fiky F.K. Structure-radical scavenging relationships of flavonoids // Phytochemistry. – 2006. – Vol. 67, N 18. – P. 2058–2070.

Сведения об авторах

Татарина Наталья Кирилловна – аспирант лаборатории безопасности биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6; тел.: (3012) 43-37-13; e-mail: tatarinova-natali@mail.ru)

Свиридов Иван Владимирович – аспирант лаборатории безопасности биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН

Торопова Анята Алексеевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН

Шантанова Лариса Николаевна – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией безопасности биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН

Гармаева Любовь Леонидовна – аспирант лаборатории медико-биологических исследований Института общей и экспериментальной биологии СО РАН

Information about the authors

Tatarinova Natalia Kirilovna – Postgraduate at the Laboratory of Safety of Biologically Active Substances of Institute of General and Experimental Biology SB RAS (670047, Ulan-Ude, ul. Sakhyanovoy, 6; tel.: +7 (3012) 43-37-13; e-mail: tatarinova-natali@mail.ru)

Sviridov Ivan Vladimirovich – Postgraduate at the Laboratory of Safety of Biologically Active Substances of Institute of General and Experimental Biology SB RAS

Toropova Anyuta Alekseevna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer at the Laboratory of Safety of Biologically Active Substances of Institute of General and Experimental Biology SB RAS

Shantanova Larisa Nikolayevna – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Safety of Biologically Active Substances of Institute of General and Experimental Biology SB RAS

Garmayeva Lyubov Leonidovna – Postgraduate at the Laboratory of Medical and Biological Researches of Institute of General and Experimental Biology SB RAS