

С. В. Шевчук, Н. С. Гурина

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ТРАВЫ КИПРЕЯ УЗКОЛИСТНОГО (ИВАН-ЧАЯ)

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Цель работы: изучение степени ингибирующего воздействия фенольных соединений, содержащихся в водных и спиртовых извлечениях из травы кипрея узколистного (иван-чая) *in vitro*, при использовании ДФПГ (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил) в качестве источника свободных радикалов.

Материалы и методы. Объектом исследования служила трава кипрея узколистного, заготовленная в 2018 году. Антирадикальную активность определяли по методу восстановления стабильного радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразина (ДФПГ). Методика основана на способности антиоксидантов исходного сырья связывать стабильный хромоген-радикал 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил. Для определения суммарного содержания фенольных соединений использован спектрофотометрический метод с реактивом Фолина-Чокальтеу. Количественное определение суммы полифенольных соединений проведено в пересчете на гиперозид.

Результаты. Высокая степень ингибирования свободных радикалов отмечается как у водного экстракта, так и у водно-спиртовых экстрактов. Степень ингибирования катион-радикалов ДФПГ экстрактами варьировала в пределах от $75,5 \pm 0,72\%$ до $80,6 \pm 1,39\%$. В качестве стандарта для сравнения был использован 1% спиртовой раствор кверцетина, вызывающий снижение количества свободных катионных радикалов на $63,38 \pm 0,48\%$. Максимальное значение зафиксировано у 50%-ного водно-спиртового экстракта, минимальное — у 10%-ного водно-спиртового экстракта. В извлечении, полученном при использовании 50%-ного спирта, содержание суммы фенольных соединений наибольшее и составляет $16,19 \pm 0,05\%$. Минимальное содержание фенольных соединений зафиксировано у 10% водно-спиртового извлечения ($11,19 \pm 0,10\%$).

Заключение. Перспективной является разработка лекарственного средства на основе растительного сырья травы кипрея узколистного для применения в комплексной профилактике оксидативного стресса.

Ключевые слова: антиоксидантная активность, трава кипрея узколистного, фенольные соединения.

S. V. Shevchuk, N. S. Gurina

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF EPILOBIUM ANGUSTIFOLIUM L. HERB

The aim is to study the degree of inhibiting effect of phenolic compounds contained in aqueous and alcoholic extracts from the herb of *Epilobium angustifolium* L. *in vitro* using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) as a source of free radicals.

Materials and methods. The object of the study was the herb of *Epilobium angustifolium* L. harvested in 2018. Antiradical activity was determined by the DPPH method. The technique is based on the ability of antioxidants of the feedstock to bind the stable chromogen radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). To determine the total content of phenolic compounds a spectrophotometric method with the Folin-Ciocalteu reagent was used. The quantitative determination of the amount of polyphenolic compounds was carried out in terms of hyperoside.

Results. A high degree of inhibition of free radicals is observed both in the aqueous extract and in the aqueous-alcoholic extracts. The degree of inhibition of radical cations by DPPH extracts varied from $75.5 \pm 0.72\%$ to $80.6 \pm 1.39\%$. A 1% alcoholic solution of quercetin was used as a standard for comparison, causing a decrease in the amount of free cationic radicals by $63.38 \pm 0.48\%$. The maxi-

imum value was recorded for a 50 % aqueous-alcoholic extract, the minimum was for 10 % alcoholic extract.

In the extract obtained using 50 % alcohol, the content of the sum of phenolic compounds was the highest and was $16.19 \pm 0.05\%$. The minimum content of phenolic compounds was recorded in 10% of alcoholic extraction ($11.19 \pm 0.10\%$).

Conclusion. *The development of a drug based on the herbal raw material of the herb of *Epilobium angustifolium* L. for use in the complex prevention of oxidative stress is perspective.*

Key words: *antioxidant activity, *Epilobium angustifolium* L., phenolic compounds.*

Среди наиболее изученных на сегодняшний день свободнорадикальных патологий являются заболевания сердечно-сосудистой системы, которые по данным Всемирной организации здравоохранения занимают одно из ведущих мест по распространенности и первое место по числу смертности среди населения [1]. Установлена ведущая роль оксидативного стресса – избыточного образования активных форм кислорода (АФК) посредством перекисного окисления липидов (ПОЛ) клеточной мембраны. АФК, имеющие неспаренный электрон, в зависимости от концентрации дают прямо противоположные биологические эффекты: при нормальной концентрации – регуляторный, при избыточной – токсический. Поддержание на определенном уровне активных форм кислорода тканей важно для регуляции нормальных физиологических процессов в организме: уровня неспецифической и специфической иммунной защиты, уровня периферического сосудистого тонуса, уровня самообновления мембран клетки, сохранности механизма апоптоза – «выбраковки» функционально и структурно неполноценных и ненужных клеток; АФК участвуют в процессах рецепторной регуляции клетки, в ряде других физиологических процессов.

Нарушение системы генерации и, особенно, защиты от АФК, приводит к нарушению течения воспалительных процессов, играет патогенетическую роль в процессах оксидативного некроза при ишемии тканей и синдроме реперфузии, снижает общий и специфический иммунитет [2, 3].

Благодаря современным достижениям в изучении функции клеток различных органов в настоящее время большое внимание уделяется исследованию антиоксидантных свойств лекарственного растительного сырья и лекарственных средств на их основе. Одной из изучаемых групп растительных антиоксидантов являются

полифенольные соединения. Всего в растениях идентифицировано более 8000 полифенольных соединений [4].

Различные исследования самого распространенного класса полифенолов – флавоноидов, проведенные в основном *in vitro*, показывают, что флавоноиды могут быть отнесены к неферментным антиоксидантам, способным прямо или косвенно ослаблять или предупреждать клеточные повреждения, вызываемые свободными радикалами. Предполагается, что флавоноиды могут осуществлять свой антиоксидантный эффект с помощью следующих механизмов: прямое скавенирование реактивных форм кислорода (РФК), активация антиоксидантных ферментов организма, хелатирование переходных металлов, редукция альфа-токоферильных радикалов, ингибирование оксидаз, ослабление оксидативного стресса, вызываемого оксидом азота и реактивными формами азота (РФА), повышение плазменного уровня мочевой кислоты, усиление антиоксидантных свойств низкомолекулярных антиоксидантов [4, 5].

Таким образом, поиск новых антиоксидантных лекарственных средств на основе отечественной растительной сырьевой базы является одной из актуальных задач современной фармации. Возможным решением данной задачи является внедрение в практику новых сборов и новых видов лекарственного растительного сырья. В этом отношении перспективным объектом исследования является трава кипрея узколистного (*Epilobium angustifolium* L.), более известная как Иван-чай, которая издавна используется в народной медицине как противовоспалительное, тонизирующее и общеукрепляющее средство. В качестве лекарственного растительного сырья зачастую используется надземная часть кипрея – трава, в которой содержится большое количество различных биологически активных соединений: полифенольные

соединения (энотеин В, флавоноид кверцетин, гиперозид, мирецетин), полисахариды, аскорбиновая кислота, катехины, кумарины и т. д. [6, 7]. Несмотря на активное использование, до сих пор недостаточно изучены показатели безопасности и фармакологической активности данного вида сырья.

Целью исследования являлось изучение степени ингибирующего воздействия фенольных соединений, содержащихся в водных и спиртовых извлечениях из травы кипрея узколистного *in vitro*, при использовании ДФПГ (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил) в качестве источника свободных радикалов.

Материалы и методы. Объектом исследования служила трава иван-чая, заготовленная в различных областях Республики Беларусь в 2018 году. Сушка сырья проводилась естественным путем воздушно-теневого способа.

Антирадикальную активность определяли по методу ДФПГ. Методика основана на способности антиоксидантов исходного сырья связывать стабильный хромоген-радикал 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил. К 4,2 мл рабочего раствора 0,01% ДФПГ добавляли 0,6 мл исследуемых экстрактов, перемешивали и регистрировали оптическую плотность раствора через 30 минут при длине волны 517 нм. В качестве раствора сравнения использовали этанол [8].

Для определения суммарного содержания фенольных соединений использован спектрофотометрический метод с реактивом Фолина-Чокальтеу. Метод основан на восстановлении смеси фосфорновольфрамовой и фосфорномолибденовой кислот в щелочной среде и является

основным методом для определения общего фенольного индекса в лекарственном растительном сырье и пищевых продуктах [9]. Количественное определение суммы полифенольных соединений проведено в пересчете на гиперозид.

Результаты и обсуждение. Степень влияния водного и водно-спиртовых экстрактов травы кипрея узколистного на свободные катион-радикалы ДФПГ представлена на рисунке 1.

Степень ингибирования катион-радикалов ДФПГ экстрактами варьировала в пределах от $75,5 \pm 0,72$ % до $80,6 \pm 1,39$ %. В качестве стандарта для сравнения антиоксидантной активности был использован 1 % спиртовой раствор кверцетина, вызывающий снижение количества свободных катионных радикалов на $63,38 \pm 0,48$ %. Высокая степень ингибирования свободных радикалов отмечается как у водного экстракта, так и у водно-спиртовых экстрактов. Это свидетельствует о наличии у указанных извлечений легко растворимых и активных антиоксидантов, максимальный выход которых наблюдается у 50 %-ного водно-спиртового экстракта, минимальный у 10 % водно-спиртового экстракта.

Высокая антиоксидантная активность травы кипрея узколистного обусловлена содержащимися биологически активными соединениями. Так, установлено содержание в водных и водно-спиртовых экстрактах таких флавоноидов, как кверцетин и мирецетин, а также их производных [7]. В экспериментах *in vitro* установлено, что данные флавоноиды обладают особенностями химической структуры и отличаются наиболь-

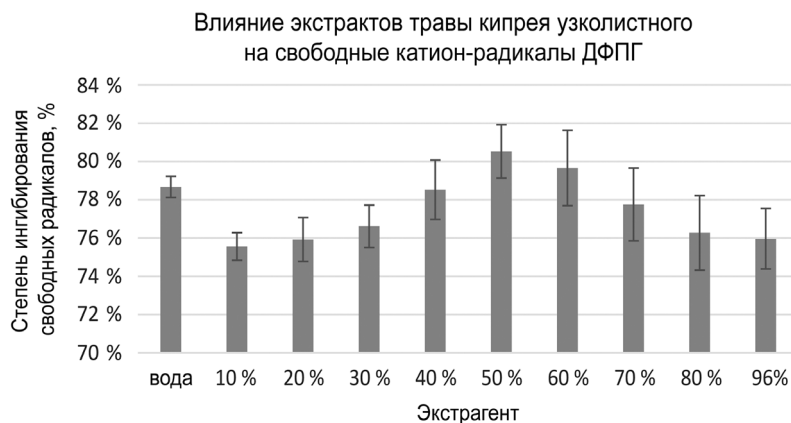


Рисунок 1. Степень ингибирования свободных радикалов водным и 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 96 % спиртовыми извлечениями травы *Epilobium angustifolium* L.



Рисунок 2. Содержание полифенольных соединений в водном, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 96 % спиртовых извлечениях травы *Epilobium angustifolium* L.

шей способностью ингибировать свободные радикалы [10]. Большой интерес у исследователей также вызывает энотеин В. Это димер макроциклического эллаготанина, который является одним из основных биологически активных компонентов в кипрее узколистом. Исследования показали, что энотеин В проявляет значительную антиоксидантную активность [11, 12].

Результаты количественного определения содержания суммы фенольных соединений спектрофотометрическим методом в исследуемых извлечениях представлены на рисунке 2.

Содержание в исследуемых извлечениях фенольных соединений и соответствующая антиоксидантная активность во многом зависят от природы экстрагирующего вещества. Фенольные соединения экстрагируются полярными растворителями, чаще всего водно-спиртовыми растворами. Подбор наилучшего растворителя и условия экстракции важно для обеспечения максимального извлечения этих соединений из растительного сырья [13].

В результате эксперимента было установлено, что содержание фенольных соединений прямо пропорционально степени ингибирования свободных радикалов. В извлечении, полученном при использовании 50 % спирта, содержание суммы фенольных соединений наибольшее и составляет $16,19 \pm 0,05$ %, что, возможно, и обуславливает наибольшую антиоксидантную активность ($80,6 \pm 1,39$ %). Минимальное содержание фенольных соединений зафиксировано у 10 % водно-спиртового извлечения ($11,19 \pm 0,10$ %), что соответствует наимень-

шей степени ингибирования свободных радикалов ($75,5 \pm 0,72$ %).

Таким образом, степень ингибирования свободных радикалов прямо пропорциональна содержанию фенольных соединений в траве кипрея узколистного: минимальное ингибирование катион-радикалов ДФПГ наблюдалось у водно-спиртового извлечения, где в качестве экстрагента использовался 10 % этиловый спирт. Максимальное ингибирование катион-радикалов ДФПГ наблюдалось при использовании в качестве экстрагента 50 % спирт этиловый.

Перспективной является разработка лекарственного средства на основе растительного сырья травы кипрея узколистного для применения в комплексной профилактике оксидативного стресса.

Конфликт интересов: отсутствует.

Источник финансирования: отсутствует.

Литература

1. *Всемирный атлас профилактики сердечно-сосудистых заболеваний и борьбы с ними*; под ред.: Mendis S, Puska P, Norrving B. Всемирная организация здравоохранения. – Женева, 2013.
2. Донцов, В. И., Крутько В. Н., Мрикаев Б. М., Уханов С. В. Активные формы кислорода как система: значение в физиологии, патологии и естественном старении // Труды ИСА РАН. – 2006. – Т. 19. – С. 50–69.
3. *Профилактика хронических неинфекционных заболеваний: рекомендации*; под. ред. С. А. Бойцова, А. Г. Чучалина. – М.: Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины, 2013. – 136 с.
4. Andersen, O. M., Markham K. R. (editors). *Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications*. – London; New York, 2006. – 1212 p.

5. Prochazkova, D., Bousova I., Wilhelmova N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids // *Fitoterapia*. – 2011. – Vol. 82. – P. 513–523.

6. Валов, Р. И. Фармакогностическое исследование надземной части *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop.: автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 14.04.02 / Р. И. Валов; Институт общ. и эксперим. биологии СО РАН. – Улан-Удэ, 2012. – 22 с.

7. Content of phenolic compounds in wild populations of *Epilobium angustifolium* growing at different altitudes / M. Monschein [and oth.] // *Pharmaceutical Biology*. – 2015. – Vol. 53, № 11. – P. 1576–1582.

8. Adesanwo, J. K., Makinde O. O., Obafemi C. A. Phytochemical analysis and antioxidant activity of methanol extract and betulinic acid isolated from the roots of *Tetracera potatoria* // *J. of Pharmacy Research*. – 2013. – № 6. – P. 903–907.

9. Singleton, V. L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent // *Methods in Enzymology: Oxidants and antioxidants*. – Academic Press: San Diego, 1999. – Vol. 299, pt. A. – P. 152–178.

10. Tarakhovskiy, Yu. S., Kim Yu. A., Abdrasilov B. S., Muzafarov E. N. Flavonoids: biochemistry, biophysics, medicine. – Pushchino: Synchronobook, 2013 (in Russ.)

11. Feldman, K. S. Recent progress in ellagitannin chemistry // *Phytochemistry*. – 2005. – Vol. 66. – P. 1984–2000.

12. Hevesi Tóth, B., Blazics B., Kéry A. Polyphenol composition and antioxidant capacity of *Epilobium* species // *J. Pharm. Bi-omed Anal.* – 2009. – Vol. 49(1). – P. 26–31.

13. Hayouni, E., Abedrabba M., Bouix M., Hamdi M. The Effect of Solvents and Extraction Method on the Phenolic Compounds Contents and Biological Activities in Vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. Fruit Extract // *Journal of Food Chemistry*. – 2007. – P. 105.

References

1. Mendis, S., Puska P., Norrving B., eds. *Vsemirny'y atlas profilaktiki serdechno-sosudisty'h zabolevaniy i bor'by' s nimi* [World Atlas of cardiovascular disease prevention and control]. – Jeneva, 2013. – 163 p. (in Russian).

2. Doncov, V. I., Krut'ko V. N., Mrikaev B. M., Uhanov S. V. *Aktivny'e formy' kisloroda kak sistema: znachenie v fiziologii, patologii i estestvennom starenii* [Reactive oxygen species as a system: significance in physiology, pathology, and natural

aging] // *Trudy' ISA RAN*. – 2006. – Vol. 19. – P. 50–69 (in Russian).

3. Boycov, S. A., Chuchalin A. G. eds. *Profilaktika hronicheskikh neinfekcionny'h zabolevaniy: rekomendacii* [Prevention of chronic non-communicable diseases: recommendations]. – M.: Gos. NIC profilakt. mediciny', 2013. – 136 p. (in Russian).

4. Andersen, O. M., Markham K. R. eds. *Flavonoids: chemistry, biochem histry, and applications*. – London; New York, 2006. – 1212 p.

5. Prochazkova, D., Bousova I., Wilhelmova N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids // *Fitoterapia*. – 2011. – Vol. 82, № 4. – P. 513–523.

6. Valov, R. I. *Farmakognosticheskoe issledovanie nadzemnoy chasti Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop. [Pharmacognostic study of the aboveground part of *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop.]: avtoref. dis. kand. farm. nauk: 14.04.02. – Ulan-Udè, 2012. – 22 p. (in Russian).

7. Monschein, M., Jaindl K., Buzimkić S., Bucar F. Content of phenolic compounds in wild populations of *Epilobium angustifolium* growing at different altitudes // *Pharmaceutical Biology*. – 2015. – Vol. 53, № 11. – P. 1576–1582.

8. Adesanwo, J. K., Makinde O. O., Obafemi C. A. Phytochemical analysis and antioxidant activity of methanol extract and betulinic acid isolated from the roots of *Tetracera potatoria* // *J. of Pharmacy Research*. – 2013. – Vol. 6. – P. 903–907.

9. Singleton, V. L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent // *Methods in Enzymology*. – 1999. – Vol. 299. – P. 152–178.

10. Tarakhovskiy, Yu. S., Kim Yu. A., Abdrasilov B. S., Muzafarov E. N. *Flavonoidy': biohimiya, biofizika, medicina* [Flavonoids: biochemistry, Biophysics, medicine]. – Synchronobook: Pusch'ino, 2013. – 310 p. (in Russian).

11. Feldman, K. S. Recent progresss in ellagitannin chemistry // *Phytochemistry*. – 2005. – Vol. 66, № 17. – P. 1984–2000.

12. Tóth, B. H., Blazics B., Kéry A. Polyphenol composition and antioxidant capacity of *Epilobium* species // *J. Pharm Bi-omed Anal.* – 2009. – Vol. 49, № 1. – P. 26–31.

13. Hayouni, E., Abedrabba M., Bouix M., Hamdi M. The Effect of Solvents and Extraction Method on the Phenolic Compounds Contents and Biological Activities in Vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. Fruit Extract // *Food Chemistry*. – 2007. – Vol. 105, № 3. – P. 1126–1134.

Поступила 18.11.2020 г.