

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-

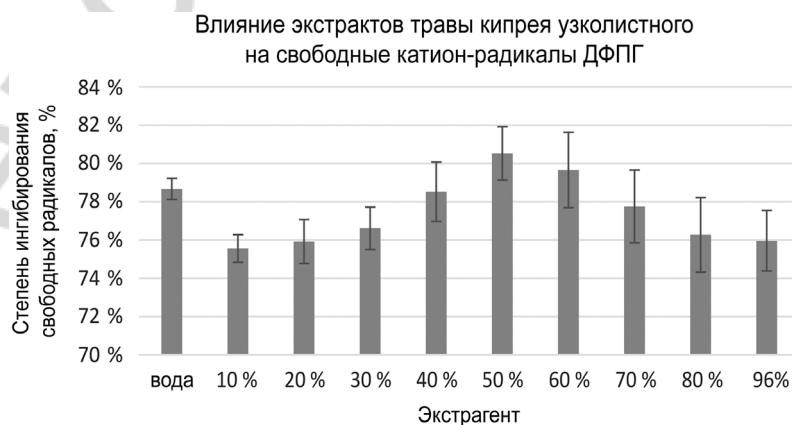


Рисунок 1. Степень ингибирования свободных радикалов водным и 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 96 % спиртовыми извлечениями травы *Epilobium angustifolium* L.

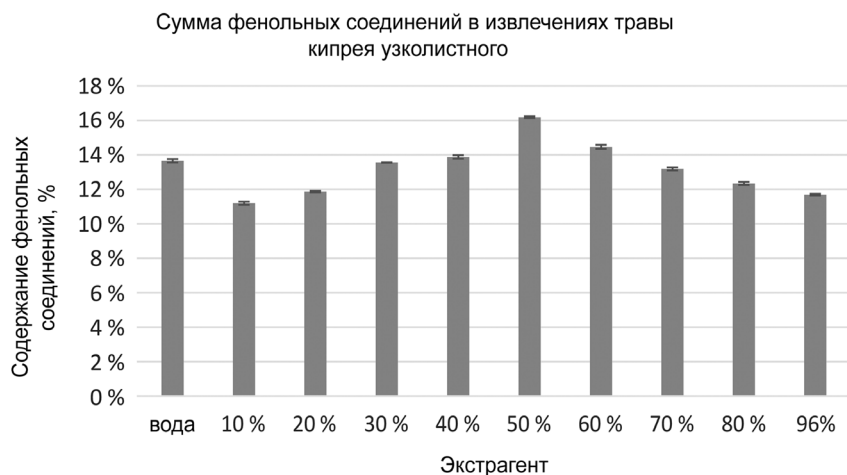


Рисунок 2. Содержание полифенольных соединений в водном, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 96 % спиртовых извлечениях травы *Epilobium angustifolium* L.

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 узколистном. 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: Synchrobook, 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]. – Geneva, 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': biokhimiya, biofizika, medicina [Flavonoids: biochemistry, Biophysics, medicine]. – Synchrobook: 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.