

М. Ю. Хаврона, І. Л. Бензель, В. В. Огурцов, О. Р. Піняжко

Антиоксидантна активність рослинної сировини видів роду Герань

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Ключові слова: антиоксидантна активність, сировина рослин роду Герань, фітосубстанції

Сьогодні, незважаючи на величезний асортимент фармацевтичних засобів, застосування лікарських рослин та їхніх препаратів значно зростає. Згідно з даними ВООЗ, 80 % населення для лікування та профілактики різноманітних захворювань використовують фітопрепарати. Це зумовлено, у першу чергу, тим, що терапевтичний ефект при застосуванні рослинних препаратів розвивається поступово, без проявів побічної дії та токсичних реакцій на організм. Тому сьогодні залишається актуальним пошук нових джерел лікарської рослинної сировини, якими можуть бути рослини роду Герань, що здавна використовуються в народній медицині як в'язучі, гомеостатичні, протизапальні засоби для лікування розладів шлунково-кишкового тракту, гінекологічних і шкірних захворювань. Згідно з даними літератури, у рослинній сировині гераней різних видів виділено та ідентифіковано сполуки, що відносяться до дубильних речовин, флавоноїдів, вітамінів, фенолкарбонових кислот, вуглеводів та амінокислот, а також інших груп діючих речовин, що є специфічними для окремих видів [1]. Зокрема, у траві та листках багатьох видів гераней міститься аскорбінова кислота. А в деяких представників роду були ідентифіковані катехіни та алкалоїди [1, 2].

Вивчаючи ці біологічно активні речовини, були виявлені їхні протизапальні, антимікробні, регенеруючі, імунomodуючі та інші властивості [2–4].

Нині особливу увагу приділяють дослідженню антиоксидантів, що здатні попереджувати вільнорадикальне окиснення біологічних структур орга-

нізму, уповільнювати процеси старіння та запобігати розвитку патологічних змін. Найкращими джерелами антиоксидантів є рослини, у яких вони містяться у вигляді комплексів споріднених сполук. До складу таких комплексів входять фенольні сполуки (флавоноїди, таніди, прості феноли та їхні глікозиди), вітаміни (С, Е), каротини, мінеральні речовини [5]. Майже всі ці сполуки входять до складу надземних і підземних органів різних видів роду Герань, а результати останніх досліджень переконливо вказують на виражені антиоксидантні властивості саме цих рослин [6–9]. Усе це вказує на можливість медичного застосування рослин роду Герань.

Мета дослідження – визначити антиоксидантну активність різних видів герані та вибрати фітосубстанцію з найвищою активністю для подальших доклінічних досліджень.

Матеріали та методи. Як рослинну сировину для отримання фітокомплексів використовували траву, зібрану під час масового цвітіння, кореневища та корені, зібрані восени в фенофазу завершення вегетації, різних видів роду Герань, а саме гераней болотної, темної, лісової, Роберта, піренейської та сибірської. Основними критеріями при виборі рослинної сировини досліджуваного роду були: широкий ареал розповсюдження на території України, достатня сировинна база, легкість у переробці.

Для одержання екстрактів висушену сировину подрібнювали й встановлювали оптимальні умови процесу екстрагування (ступінь подрібнення сировини, оптимальний екстрагент, співвідношення між сировиною та екстрагентом, тривалість та кількість екстракцій) з метою найповнішого та швидкого вивільнення діючих речовин з об'єктів

дослідження [10–12]. Отримані водні та спиртові екстракти сублімаційно висушували та умовно позначали Г-1, Г-2, Г-3, Г-4, Г-7, Г-12, Г-16, Г-17, Г-25, Г-26 (таблиця).

Для дослідження антиоксидантних властивостей екстрактів застосовували модифікований метод [13] з використанням стабільного хромоген-радикала 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразилу (ДФПГ).

Для визначення антиоксидантної активності до 4,0 мл розчину ДФПГ (150 мкг/мл), додавали від 0,05 до 0,20 мл розчину відповідного екстракту в 70 % етанолі з концентрацією 200 мкг/мл та 70 % етанол до об'єму 4,2 мл. Після витримування одержаних розчинів за кімнатної температури впродовж 30 хв проводили вимірювання їхньої оптичної густини при 517 нм за допомогою спектрофотометра та розраховували ступінь інгібування ДФПГ (у %) за наступною формулою:

$$\% \text{ інгібування} = \frac{A_{\text{ДФПГ}} - A_{\text{д}} + A_0}{A_{\text{ДФПГ}}} \cdot 100\%,$$

де $A_{\text{ДФПГ}}$ – оптична густина контрольного розчину, що містив 4,0 мл ДФПГ та 0,2 мл 70 % етанолу;

$A_{\text{д}}$ – оптична густина розчину досліджуваного екстракту;

A_0 – оптична густина розчину, що містив досліджуваний екстракт та 4,0 мл етанолу замість розчину ДФПГ.

На основі даних, одержаних у результаті триразового тестування кожної концентрації, розраховували значення IC_{50} за рівнянням лінійної регресії залежності відсотка інгібування від концентрації екстракту. Величина IC_{50} , яка була мірою вмісту в зразках речовин з антирадикальною активністю, відповідає концентрації досліджуваного екстракту, що необхідна для зв'язування 50 % ДФПГ. Як еталонну сполуку використано кверцетин, IC_{50} якого складає 2,3 мкг/мл.

Результати та їх обговорення. Проведені дослідження підтвердили, що всі фітосубстанції рослин роду Герань у тій, чи іншій мірі характеризуються антиоксидантною активністю. Згідно з сучасними даними літератури, у різних видах рослин роду Герань були виявлені

Таблиця

Об'єкт дослідження

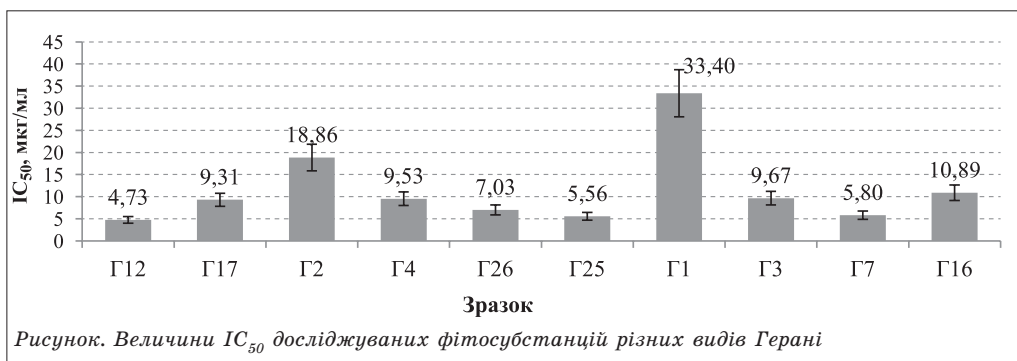
Умовне позначення субстанції	Джерело одержання	Екстрагент
Г-1	Герань темна	Вода очищена
Г-2	Герань темна	70 % етанол
Г-3	Герань Роберта	Вода очищена
Г-4	Герань Роберта	70 % етанол
Г-7	Герань болотна	Вода очищена
Г-12	Герань болотна	70 % етанол
Г-16	Герань піренейська	Вода очищена
Г-17	Герань піренейська	70 % етанол
Г-25	Герань сибірська	70 % етанол
Г-26	Герань лісова	70 % етанол

ні поліфенольні сполуки, найвищу активність серед яких має кверцетин та геранііл, активність яких перевищувала за цим показником аскорбінову кислоту. Деяко меншою активністю характеризуються корилагін, галова та елагова кислоти [1, 14–16]. Антиоксидантна активність усіх цих сполук обумовлена наявністю в їхній структурі великої кількості гідроксильних груп, які здатні легко інактивувати вільні радикали [4].

Отримані результати показали, що ліофілізовані спиртові екстракти рослин роду Герань (Г-2, Г-4, Г-12, Г-17, Г-25, Г-26) проявляють більшу антиоксидантну активність, ніж водні ліофілізати тих самих рослин (Г-1, Г-3, Г-7, Г-16).

Серед спиртових екстрактів найактивнішими були Г-12 і Г-25 з величинами IC_{50} 4,73 і 5,56 мкг/мл відповідно (рисунк). Серед водних ліофілізованих екстрактів вищу антирадикальну активність проявив зразок Г-7 з величиною IC_{50} 5,80 мкг/мл. Г-12 і Г-7 – це спиртовий та водний ліофілізовані фітокомплекси, виділені з тієї самої рослинної сировини.

Усі інші тестовані екстракти теж мають значну антиоксидантну активність, проте нижчу, ніж Г-12 і Г-7. Фітосубстанції Г-17, Г-4 та Г-3 прояв-



ляли приблизно однакову антиоксидантну активність. Найнижчу антиоксидантну активність спостерігали у водного ліофілізату Г-1 та серед спиртових екстрактів Г-2 з величинами IC₅₀ 33,40 та 18,86 мкг/мл відповідно.

Отримані результати показали, що екстракти різних видів роду Герань є перспективними джерелами природних антиоксидантів. Подальші дослідження будуть спрямовані на вивчення протизапальних, антимікробних і регенераторних властивостей фітосубстанцій, які проявили найвищу антиоксидантну активність.

Висновки

Усі досліджувані екстракти, отримані з рослин роду Герань, характеризуються антиоксидантною активністю. Спиртові екстракти мають антирадикальну активність вищу, ніж водні. Серед досліджених зразків найвищу антиоксидантну активність проявили спиртові та водні екстракти одного виду герані Г-7 і Г-12, які є перспективними для доклінічних досліджень. Найнижчу антиоксидантну активність мають фітосубстанції Г-2 серед спиртових екстрактів та Г-1 серед водних ліофілізатів.

1. Рибак Л. М. Порівняльне дослідження кількісного вмісту поліфенолів у різних видах герані *Geranium L.* методом перманганатометричного титрування та спектрофотометричним методом / Л. М. Рибак, О. Ю. Коновалова, О. П. Колядиш // Фармацевтичний журнал. – 2010. – № 6. – С. 44–47.
2. Antioxidant activities and xanthine oxidase inhibitory effects of extracts and main polyphenolic compounds obtained from *Geranium sibiricum L.* / Wu N. [et al.] // J. Agr. Food Chem. – 2010. – V. 58, № 8. – P. 4737–4743.
3. Luo H. Simultaneous determination of five active compounds in *Geranium sibiricum* by HPLC / Luo H., Yin H. // Chin. J. Experim. Tradit. Med. Form. – 2011. – V. 5. – P. 83–86.
4. Позднякова Т. А. Изучение противовоспалительной активности травы герани сибирской (*Geranium sibiricum L.*) / Т. А. Позднякова, Р. А. Бубенчиков // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 1–1. – С. 1–7.
5. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species / Seifried H.E. [et al.] // J. Nutr. Biochem. – 2007. – № 18 (9). – P. 567–579.
6. Nikolova M. Evaluation of antioxidant activity in some Geraniaceae species / M. Nikolova, R. Tsvetkova, S. Ivancheva // Botanica Serbica. – 2010. – № 34 (2). – P. 123–125.
7. An alternative hepatoprotective and antioxidant agent: the geranium / M. Ávila Bautista, E. Madrigal-Santillán, A. Morales-González [et al.] // Afr J. Tradit. Complement. Altern. Med. – 2015. – № 12 (4). – P. 96–105.
8. Chemical Constituents and Antioxidant Activity of *Geranium wallichianum* / I. Mohammad, Zafar Iqbal, H. Javid [et al.] // Rec. Nat. Prod. – 2009. – V. 3, № 4. – P. 193–197.
9. Geranium Species as Antioxidants / M. Ávila Bautista, J. A. Gayosso de Lúcio, N. V. Mendoza [et al.] // licensee In Tech. Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases – A Role for Antioxidants. – 2013. – P. 113–129.
10. Одержання фітосубстанцій із герані сибірської та вивчення їх антимікробних властивостей / М. В. Ісюк, І. Л. Бензель, О. Л. Левчук, Л. В. Бензель // Український медичний альманах. – 2012. – Т. 15, № 5 (додаток). – С. 116–119.
11. Патент 76238 Україна, МПК А61К 36/00. Спосіб одержання ліофілізованого фітоекстракту кореневищ герані болотної з інтерфероніндукуючою активністю / І. Л. Бензель, Р. М. Федін, Л. В. Бензель. – № u201207665; заяв. 22.06.2012; опубл. 25.12.2012, Бюл. № 24. – 4 с.
12. Патент 52930 Україна, МПК 7 А61К 35/78. Спосіб отримання рослинного екстракту з інтерфероніндукуючою активністю / М. М. Козловський, Л. В. Бензель, І. М. Лозинський, Г. В. Білецька, В. А. Пластунів, О. С. Друль. – № 2001118081; заяв. 26.11.2001; опубл. 15.01.2003, Бюл. № 1. – 5 с.
13. Bondet V. Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH. Free Radical Method / V. Bondet, W. Brand-Williams, C. Berset // Lebensm. Wiss. Technol. – 1997. – V. 30, Is. 6. – P. 609–615.

14. Chemistry and biology of ellagitannins: an underestimated class of bioactive plant polyphenols / [edit. S.Quideau]. – New Jersey : World Scientific, 2009. – V.19. – 374 p.
15. Ellagic acid, a natural polyphenolic compound, induces apoptosis and potentiates retinoic acid-induced differentiation of human leukemia HL-60 cells /Y. Hagiwara, T. Kasukabe, Y. Kaneko [et al.] // Int. J. Hematol. – 2010. – № 92 (1). – P. 136–143.
16. Рибак Л. М. Порівняльне дослідження кількісного вмісту елагової та галоївої кислот у сировині деяких видів роду Герань (*Geranium L.*) методом вискоєфективної рідинної хроматографії / Л. М. Рибак // Фармацевтичний журнал. – 2011. – № 6. – С. 88–92.

М. Ю. Хаврона, І. Л. Бензель, В. В. Огурцов, О. Р. Піняжко
Антиоксидантна активність рослинної сировини видів роду Герань

Проблема антиоксидантного захисту організму людини є актуальною впродовж кількох останніх десятиліть. Серед заходів, спрямованих на її вирішення, є пошук нових препаратів з антиоксидантною активністю. *Мета дослідження* – визначити антиоксидантну активність екстрактів різних видів герані та вибрати фітосубстанцію з найвищою антиоксидантною активністю.

Для дослідження антиоксидантних властивостей екстрактів застосовували метод, що базується на взаємодії зі стабільним хромоген-радикалом 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразилом.

У результаті проведених досліджень було встановлено, що всі види рослин роду Герань характеризуються антиоксидантною активністю. Виявлено, що спиртові ліофілізовані екстракти мають антирадикальну активність вищу, ніж водні ліофілізати. Серед відібраних зразків найвищу антиоксидантну активність проявили спиртові та водні екстракти одного виду герані Г-7 і Г-12, які є перспективними для подальших доклінічних досліджень. Показано, що найнижчу антиоксидантну активність мають фітосубстанції Г-2 серед спиртових екстрактів та Г-1 серед водних ліофілізатів.

Ключові слова: антиоксидантна активність, сировина рослин роду Герань, фітосубстанції

М. Ю. Хаврона, И. Л. Бензель, В. В. Огурцов, О. Р. Пиняжко
Антиоксидантная активность растительного сырья видов рода Герань

Проблема антиоксидантной защиты организма человека является актуальной в течение нескольких последних десятилетий. Среди мер, направленных на ее решение, – поиск новых препаратов, обладающих антиоксидантной активностью. *Цель исследования* – определить антиоксидантную активность экстрактов из различных видов герани и выбрать фитосубстанцию с самой высокой антиоксидантной активностью.

Для исследования антиоксидантных свойств экстрактов применяли метод, основанный на взаимодействии со стабильным хромоген-радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом.

В результате проведенных исследований было установлено, что все виды растений рода Герань характеризуются антиоксидантной активностью. Выведено, что спиртовые лиофилизированные экстракты имеют антирадикальную активность выше, чем водные. Среди отобранных образцов самую высокую антиоксидантную активность проявили спиртовые и водные экстракты одного вида герани, Г-7 и Г-12, которые являются перспективными для дальнейших доклинических исследований. Показано, что самой низкой антиоксидантной активностью обладают фитосубстанции Г-2 среди спиртовых экстрактов и Г-1 среди водных лиофилизатов.

Ключевые слова: антиоксидантная активность, сырье растений рода Герань, фитосубстанции

М. Khavrona, I. Benzel, V. Ogurtsov, O. Pynjzhko
Antioxidant activity of plant raw materials from the species of genus Geranium

The problem of antioxidant protection of the human body has been urgent during the last several decades. The search of new drugs that possess antioxidant activity is among the measures aimed at the solving of it. *The aim of the study* was the determination of the antioxidant activity of extracts from different Geranium species and selection of phytosubstance with the highest antioxidant activity.

For investigation of the antioxidant properties of the extracts the method, based on the interaction with stable chromogen-radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, was used.

As a result of studies, it was found that all species of Geranium genus are characterized powerful antioxidant activity. It was revealed that lyophilized alcohol extracts possess higher antiradical activity than lyophilized water extracts. Among the selected samples, alcohol and aqueous extracts of one Geranium species, G-7 and G-12, showed the highest antioxidant activity, which are promising for further preclinical studies. It is shown that phytosubstances G-2 among alcoholic extracts and G- among water extracts possess the lowest antioxidant activity.

Key words: antioxidant activity, raw materials of plants of genus Geranium, phytosubstances

Надійшла: 29 вересня 2016 р.

Контактна особа: Бензель Ігор Леонідович, кандидат фарм. наук, старший викладач, кафедра фармакогнозії і ботаніки, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, буд. 69, вул. Пекарська, м. Львів, 79010. Тел.: + 38 0 32 275 76 32.