УДК 615.322+582.657.24

Лучків Н.Ю.[1], Бурдилюк Н.І.[2], Ізерська Л.І.[2], Байляк М.М.[2]

Оцінка антиоксидатних властивостей родіоли рожевої (*Rhodiola rosea* L.) та волошки карпатської (*Centaurea carpatica* porc.), зібраних в українських Карпатах

1Кафедра гістології, цитології та ембріології (зав. каф. – проф. С.Б.Геращенко)
ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»
2Кафедра біохімії та біотехнології (зав. каф. – проф. В.І.Лущак)
ДВНЗ «Прикарпатський національний університет ім. Василя Стефаника»

Резюме. Проведено визначення антиоксидантних властивостей водних і спиртових витяжок з кореневища родіоли рожевої (*R. rosea*) та наземних органів волошки карпатської (*C. carpatica*), зібраних в Українських Карпатах. Спиртові витяжки досліджуваної рослинної сировини характеризувались у кілька разів вищою загальною антиоксидантною активністю та здатністю відновлювати окислені сполуки, ніж відповідні водні препарати. Витяжки з кореневища *R. rosea* продемонстрували вищий антиоксидантний потенціал. Виявлено високий вміст фенольних сполук та флавоноїдів у кореневищі *R. rosea*, фенольних сполук у листках *C. carpatica* та флавоноїдів у квітках *C. carpatica*. Отримані результати свідчать про перспективність використання досліджуваних рослин як джерела природних антиоксидантів.

Ключові слова: Rhodiola rosea, Centaurea carpatica, антиоксидантна активність, поліфеноли.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень. Вільні радикали, які безперервно генеруються протягом життя в усіх живих організмів, внаслідок своєї високої реакційної здатності є потенційно небезпечними. Надмірна активація вільно-радикальних процесів (іншими словами "оксидативний стрес") тягне за собою каскад небажаних реакцій, що лежать в основі цілого ряду захворювань і патологічних станів [9]. Для запобігання розвитку оксидативного стресу можуть бути використані природні антиоксиданти з різним принципом дії. Високою антиоксидантною активністю характеризуються аскорбінова кислота, каротиноїди, речовини поліфенольної природи, які містяться в різних співвідношеннях і композиціях у рослинній сировині та їх екстрактах [11].

Родіола рожева (*Rhodiola rosea* L.) – багаторічна лікарська рослина, яка зростає у гірських районах Азії та Європи, зокрема в Українських Карпатах. Багатьма дослідженнями показано, що препарати, отримані з кореневища *R. rosea,* мають багатосторонній позитивний вплив на людський організм, зокрема проявляють адаптогенну, кардіопротекторну, антидепресантну та протипухлинну дії [7]. Водночас, встановлено, що вміст біологічно активних речовин у кореневищі *R. rosea*, а отже і біологічна активність препаратів на його основі, залежить від умов зростання виду [6]. Щодо особливостей хімічного складу та лікувальних властивостей *R. rosea*, яка зростає в Карпатах, відомостей наявно мало. Більш вивченою карпатська *R. rosea* є у флористичному відношенні [3].

Волошка карпатська (*Centaurea carpatica* Porc.) – багаторічна трав'яниста рослина, ендемічний вид, поширений в середньогір'ї та високогір'ї Українських Карпат [5]. Попередніми нашими дослідженнями встановлено, що серед біологічно активних речовин *C. carpatica* переважають сполуки фенольного походження, що визначає перспективи її практичного використання в лікувальних цілях [4].

Метою дослідження було провести порівняльну оцінку антиоксидантних властивостей водних і спиртових витяжок з родіоли рожевої та волошки карпатської, зібраних в Українських Карпатах.

Матеріал і методи дослідження

У дослідженні використовували суху рослинну сировину – кореневище родіоли рожевої, листки та квіти волошки карпатської, зібрані в Українських Карпат (Верховинський район) в 2011 році. Сировинний матеріал подрібнювали до частинок діаметром 1-3 мм. Для отримання водних витяжок 0,5 г подрібненої сировини поміщали у колбу, заливали 10 мл дистильованої води та нагрівали на киплячій водяній бані протягом 30 хв. Отримані водні витяжки фільтрували, доводили об'єм до вихідного та зберігали при температурі 4°С не більше 2 діб. Спиртові витяжки готували на 40%-му етанолі у співвідношенні 1 г подрібненої сировини на 5 мл спирту і витримували у темному місці протягом 2 тижнів.

Загальний вміст поліфенольних сполук у рослинній сировині визначали титрометричним методом Левенталя. Метод полягає в окисленні поліфенольних сполук перманганатом калію [1]. Вміст флавоноїдів визначали колориметричним методом з використанням $AlCl_3$. Принцип методу грунтується на тому, що $AlCl_3$ утворює стійкі комплекси з С-4- кетогрупою або С-3 чи С-5- гідроксильною групою флавонів і флаванолів, які мають максимум поглинання при 440-510 нм [13]. Визначення вмісту салідрозиду у кореневищі *R. rosea* проводили за фармакопейною методикою [1]. Загальну антиоксидантну активність витяжок визначали колориметричним методом за відновленням молібден-вмісних комплексів. Принцип методу ґрунтується на тому, що при взаємодії молібдату амонію з KH_2PO_4 утворюється фосфомолібденова кислота жовтого кольору. При обробці фосфомолібденової кислоти відновником (антиоксидантом) утворюється суміш комплексів синього кольору, які містять молібден з різними валентностями [12]. Визначення здатності рослинних препаратів відновлювати окислене залізо проводили за модифікованим спектрофотометричним методом Oyaizu [10].

Результати дослідження

У табл. 1 представлені дані з визначення загального вмісту поліфенольних сполук та однієї з груп фенольних речовин – флавоноїдів у надземних органах *C. carpatica* та у кореневищі *R. rosea*. Також наведені результати визначення фенольного глікозиду – салідрозиду у кореневищі *R. rosea*, який є однією з маркерних сполук кореневища цієї рослини [6, 7].

Щодо сировини *C. carpatica*, то, як видно з табл. 1, загальний вміст поліфенольних сполук у листках був удвічі вищим, ніж у квітках. Проте у квітках вміст флавоноїдів виявився у 2,5 рази вищим, ніж у листках. Порівнюючи вміст поліфенольних сполук у кореневищі родіоли рожевої та наземних органах волошки карпатської, бачимо, що кореневище *R. rosea* містило таку ж кількість поліфенолів, що й листки *C. carpatica*.

Наступним етапом нашої роботи було визначити загальну антиоксидантну активність водних та спиртових витяжок із досліджуваного рослинного матеріалу.

Як бачимо з табл. 2, із водних витяжок найвищу антиоксидантну активність проявляли витяжки, приготовлені з кореневища *R. rosea*. Антиоксидантна активність водних витяжок з квіток *C. carpatica* була на 40% нижчою, ніж у витяжок з кореневища родіоли рожевої. Найнижчу антиокси-

Таблиця 1. Вміст поліфенольних речовин у сухій сировині *C. carpatica* і *R. rosea*

Сировина	Поліфеноли, мг-екв рутину на г сухої маси	Флавоноїди, мг-екв кверцетину на г сухої маси	Салідрозид, %
C. carpatica (квіти)	29±3	37±8[б]	НВ
C. carpatica (листки)	65±3[а]	14±6	НВ
R. rosea (кореневище)	64±7[а]	40±6[б]	1,77±0,05

Примітки. [а] – значення достовірно відрізняється від відповідного значення "*C. carpatica* (квіти)" з P<0,005; [б] – значення достовірно відрізняється від відповідного значення "*C. carpatica* (листки)" з P<0,001, n=5. НВ – не визначали

Таблиця 2. Загальна антиоксидантна та відновлювальна здатність препаратів *C. carpatica* і *R. rosea*

Сировина	Екстракт	Загальна антиоксидантна активність, мг-екв аскорбінової кислоти на г сухої маси	Відновлювальна здатність, мг-екв аскорбінової кислоти на г сухої маси
C. carpatica (квіти)	Водний	10,0±0,8	25,4±1,0
	Спиртовий	46,7±5,0 [a]	116±24 [a]
C. carpatica (листки)	Водний	4,1±0,3	20,4±1,0
	Спиртовий	46,3±7,6 [a]	247±36 [a]
R. rosea (кореневище)	Водний	14,2±2,0	11,4±1,5
	Спиртовий	113±15 [a]	864±48 [a]

Примітка. [a] – Значення достовірно відрізняється від відповідного значення для водних препаратів з P<0,001, n=6

дантну активність проявляли водні препарати з листків волошки карпатської.

Спиртові витяжки рослинної сировини характеризувались набагато вищою антиоксидантною активністю, ніж водні витяжки. Найвищу антиоксиданту активність проявляли витяжки з кореневища *R. rosea*. Антиоксидантна активність спиртових витяжок з квітів та листків *C. carpatica* була приблизно в 3 рази нижчою, ніж у витяжок з кореневища родіоли рожевої.

Антиоксидантні властивості рослинної сировини досліджували також шляхом визначення здатності водних і спиртових витяжок лікарських трав відновлювати окислене залізо – Fe3+ до Fe2+ [10]. Отримані результати представлені в табл. 2. Як бачимо, із водних витяжок найвищу відновлювальну активність проявляли водні витяжки на основі листків волошки карпатської. Дещо нижча відновлювальна здатність була у водних витяжок родіоли рожевої, і найнижча – у водних витяжок з квітів волошки карпатської.

Щодо спиртових витяжок, то вони, як і у випадку із загальною антиоксидантною активністю, характеризувались суттєво вищою відновлювальною здатністю, ніж водні витяжки. Найвищу відновлювальну здатність проявляли спиртові витяжки з кореневища родіоли рожевої – їхня відновлювальна здатність була приблизно у 4 рази вищою, ніж у спиртових витяжок з листків волошки карпатської.

Щоб перевірити, чи зберігається відновлювальна здатність водних витяжок протягом певного часу, ми визначили цей показник у водних препаратах, які зберігались при температурі 4°С протягом 24 год. Відновлювальна здатність добових водних витяжок лікарських рослин, порівняно із такою у свіжоприготовлених витяжок, була нижчою приблизно на половину для листків волошки карпатської та кореневища родіоли рожевої і не змінювалась для квітів волошки (12,1±1,6, 9,9±1,7 і 9,4±1,3 мг-екв аскорбінової кислоти на г сухої маси, відповідно, n=5).

Обговорення

Вміст загальних поліфенолів та флавоноїдів у кореневищі *R. rosea*, зібраної в Українських Карпатах, виявився високим (табл. 1). Отримані дані відповідають таким же показниками *R. rosea*, яка зростає в районах її промислової заготівлі (Далекий Схід) [6]. Вміст салідрозиду у висушеному кореневищі *R. rosea* становив 1,77±0,05%. За вимогами Державної Фармакопеї та міжнародних стандартів суха сировина родіоли рожевої повинна містити не менше 0,8% салідрозиду [1]. Таким чином, визначення вмісту основних біологічно-активних речовин у кореневищі *R. rosea* показало, що наш експериментальний сировинний матеріал відповідає вимогам, які висуваються до даної лікарської сировини.

Щодо волошки карпатської, то виявлено вищий вміст флавоноїдів у квітках, ніж листках. Високий вміст флавоноїдів у квітах волошки може бути пов'язаний з наявністю антоціанів, оскільки попередній якісний аналіз показав наявність цих сполук у квітках [4].

На основі отриманих результатів можна дійти висновку, що листя і квіти волошки карпатської, як і кореневище родіоли рожевої, мають достатньо високий вміст сполук фенольної природи, що може відображатись на їх біологічних властивостях.

Рослинні поліфеноли – органічні сполуки, відомі своєю потужною антиоксидантною дією. Вони здатні зв'язувати вільні радикали, перешкоджати прискореному окисленню ліпідів і виявленню небажаних продуктів окислення, запобігаючи таким чином розвитку багатьох захворювань [7, 11]. Розроблено низку методів, яка дозволяє оцінити антиоксидантні властивості рослинної сировини *in vitro* [10]. У даній роботі ми використали два методи – це визначення сумарної антиоксидантної активності та здатності відновлювати окислені сполуки.

У наших експериментах спиртові витяжки проявляли вищу загальну антиоксидантну активність та відновлювальну здатність, ніж водні (табл. 2). Це можна пояснити тим, що спиртова екстракція забезпечує краще виділення з рослинної сировини біологічно активних речовин, зокрема тих, які мають антиоксидантні властивості [2]. Стосовно родіоли рожевої, то окремими дослідженнями *in vitro* встановлено, що екстракти *R. rosea* мають антиоксидантні властивості і здатні знешкоджувати вільні радикали [7, 8]. Антиоксидантна дія екстрактів пов'язується із наявністю органічних кислот, флавоноїдів, фенольних глікозидів (таких, як салідрозид) та ін. [6, 11]. У наших дослідженнях виявлено, що кореневище карпатської *R. rosea* характеризується досить високим вмістом речовин фенольної природи, саме це може пояснювати високу антиоксидантну активність спиртових витяжок з даної рослини. Спиртові витяжки з наземних органів *C. Carpatica* проявляли у 2,5 рази нижчу загальну антиоксидантну активність та в 3,5 нижчу відновлювальну здатність, ніж витяжки з кореневища родіоли рожевої. Водночас у листках і квітках волошки карпатської виявлено достатню кількість поліфенольних речовин, які, як сказано вище, можуть мати антиоксидантні властивості. Очевидно, антиоксидантна дія спиртових витяжок з кореневища родіоли рожевої пов'язана не тільки з фенольними сполуками, а також іншими речовинами, які містить кореневище [7].

Відновлювальна здатність водних витяжок з кореневища *R. rosea* та листків *C. carpatica* суттєво знижувалася при зберіганні протягом доби при 4°С. Очевидно, у водних витяжках містяться антиоксидантні речовини, які є нестабільними і швидко окислюються при доступі повітря. Такими речовинами можуть бути деякі групи поліфенолів [11].

У цілому, отримані результати свідчать, що надземні органи волошки карпатської та кореневище родіоли рожевої, які зростають у високогір'ї Карпат, містять високий вміст фенольних сполук. Водні і спиртові витяжки на основі рослинної сировини *R. rosea* та *C. carpatica* проявляють антиоксидантні властивості, які є більш вираженими у спиртових витяжок родіоли рожевої. На основі отриманих результатів можна рекомендувати вказані рослини для подальших досліджень з метою розширення спектру їх використання в медичній практиці як антиоксидантних засобів.

Висновки

1. Виявлено високий вміст фенольних сполук та флавоноїдів у сухій сировині кореневища *R. rosea*, квітах та листках *C. carpatica*, зібраних у Верховинському районі Івано-Франківської області.

2. Спиртові витяжки з сировини досліджуваних рослин проявляли у кілька раз вищу загальну антиоксидантну активність та здатність відновлювати окислені сполуки, ніж відповідні водні витяжки Витяжки з *R. rosea* характеризувались вищою антиоксидантною активністю, ніж витяжки з *C. carpatica*.

3. Здатність відновлювати окислені сполуки у водних витяжок з рослин знижується протягом зберігання, зокрема на через добу після приготування витяжок даний показник

знижується приблизно наполовину.

Перспективи подальших досліджень у даному напрямку – дослідження антиоксидантних (захист модельних організмів від чинників, які спричиняють оксидативний стрес) та протимікробних властивостей волошки карпатської та родіоли рожевої *in vivo*.

Література

1. Державна фармакопея України. – Видання 1-е. Доповнення I. – Х. : РІРЕГ, 2004. – 494 с.
2. Данилова Н. А. Количественное определение дубильных веществ в корнях щавеля конского методом спектрофотометрии в сравнении с методом перманганатометрии / Н. А. Данилова, Д. М. Попов // Веснник ВГУ. Серия : Химия, Биология, Фармация. – 2004. – № 2. – С. 179–182.
3. Ловеліус О. С. *Rhodiola rosea* L. в Українських Карпатах / О. С. Ловеліус, С. М. Стойко // Український ботанічний журнал. – 1990. – Т. 47, № 1. – С. 90–92.
4. Лучків Н. Ю. Фітохімічне дослідження волошки карпатської / Н. Ю. Лучків // Світ медицини та біології. – Полтава : ПДМУ, 2008. – Ч. II, № 4. – С. 47–50.
5. Лучків Н. Ю. Хорологічна, таксономічна та еколого-фітоценотична характеристика *Centaurea carpatica* (Porc.) Porc. – / Н. Ю. Лучків // Вісник Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника. Серія : Біологія. – Івано-Франківськ : Плай, 2009. – Вип. XIII. – С. 15–20.
6. Саратиков А. С. Родиола розовая (золотой корень) / А. С. Саратиков, Е. А. Краснов. – Томск : Изд-во Томского ун-та, 2004. – 292 с.
7. Brown R. *Rhodiola rosea* a phytomedicinal overview / R. Brown, P. Gerbarg, Z. Ramazanov // Herbal Gram. – 2002. – 56. №? – S. 40–52.
8. In vitro protective effect of *Rhodiola rosea* extract against hypochlorous acid-induced oxidative damage in human erythrocytes / [De Sanctis R., De Bellis R., Scesa C. et. al.] // Bio Factors. – 2004. – 20. – S. 147–159.
9. Gospodaryov D. Oxidative Stress: cause and consequence of diseases. In: Oxidative stress and diseases / Edited by V. I. Lushchak and D. V. Gospodaryov. – Publisher: In Tech, 2012. – Chapter 2. – P. 13-38.
10. Hazra B. Antioxidant and free radical scavenging activity of Spondias pinnata BMC Complementary and Alternative Medicine / B. Hazra. – Santanu Biswas and Nripendranath Mandal, 2008. – S. 8–63.
11. Polyphenols and human health: prevention of disease and mechanisms of action / [Vauzour D., Rodriguez-Mateos A., Corona G. et. al.] // Nutrients. – 2010. – Vol. 2. – P. 1106–1131.
12. Prieto P. Spectrometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E / P. Prieto // Anal. Biochem. – Pineda and Aguilar, 1999. – 269. – S. 337–341.
13. Zhishen J. The determination of flavonoid content in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals / J. Zhishen, T. Mengcheng, W. Jianming // Food Chem. – 1999. – 64. – P. 555–559.

Лучкив Н.Ю., Бурдилюк Н.И., Изерская Л.И., Байляк М.М.

Оценка антиоксидативных свойств родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.) и василька карпатского (*Centaurea carpatica* porc.), собраных в украинских Карпатах

Резюме. Проведено определение антиоксидантных свойств водных и спиртовых вытяжек с корневища родиолы розовой (*R. rosea*) и наземных органов василька карпатского (*C. carpatica*), собранных в Украинских Карпат. Спиртовые вытяжки исследуемого растительного сырья характеризовались в несколько раз выше общей антиоксидантной активностью и способностью восстанавливать окисленные соединения, чем соответствующие водные вытяжки. Вытяжки из корневища *R. rosea* продемонстрировали высший антиоксидантный потенциал. Выявлено высокое содержание фенольных соединений и флавоноидов в корневище *R. rosea*, фенольных соединений в листьях *C. carpatica* и флавоноидов в цветках *C. carpatica*. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования исследуемых растений как источника природных антиоксидантов.

Ключевые слова: Rhodiola rosea, Centaurea carpatica, антиоксидантная активность, полифенолы.

Luchkiv N.U., Burdylyuk N.I., Izers'ka L.I., Bayliak M.M.

Evaluation of Antioxidant Properties of *Rhodiola Rosea L* and *Centaurea Carpatica* porc., Collected in Ukrainian Carpathians

Summary. Antioxidant properties testing of aqueous and alcoholic extracts of *Rhodiola Rosea* rhizomes and *Centaurea carpatica* aboveground organs, collected in Ukrainian Carpathians, was conducted. Alcoholic extracts from herbal materials showed that their general antioxidant activity and ability to reduce oxidised compounds were by several times higher than the correspondent aqueous extracts. *Rhodiola Rosea* rhizome extracts demonstrated higher antioxidant potential. A high content of phenolic compounds and flavonoids in *Rhodiola Rosea* rhizomes, as well as phenolic compounds in leaves of *Centaurea carpatica* and flavonoids in *Centaurea carpatica* flowers was found. The obtained results suggest that the studied plants are promising as sources of natural antioxidants.

Keywords: Rhodiola Rosea, Centaurea Carpatica, antioxidant activity, polyphenols.

Надійшла 02.06.2012 року.

УДК: 616.31+616.314–085+616.314.18–002.2

Мельничук А.С., Рожко М.М.

Зміни показників мікроциркуляції тканин пародонта під впливом комплексного лікування хворих на генералізований пародонтит

Кафедра стоматології факультету післядипломної освіти (зав. каф. – проф. М.М.Рожко)
Івано-Франківського національного медичного університету

Резюме. Для дослідження показників мікроциркуляції у тканинах пародонта 35 хворих на генералізований пародонтит (ГП) хронічного перебігу I-II ступеня розвитку, які мали включені дефекти зубних рядів III-IV класів за Кенеді, та 20 людей з інтактним пародонтом і збереженими зубними рядами використали сучасний функціональний метод дослідження стану кровотоку тканин пародонта – метод лазерної доплерівської флоуметрії (ЛДФ) із використанням лазерного аналізатора мікроциркуляції крові комп'ютеризованого – „ЛАКК-02" НВП „ЛАЗМА" (Росія). Вивчали показники базального кровотоку: ПМ (величину середнього потоку перфузії крові), δ – середньоквадратичне відхилення, Kv – коефіцієнт варіацій. Установили, що метод ЛДФ є чутливим і точним методом функціонального дослідження мікроциркуляторних порушень у пародонті. У хворих на ГП I-II ступеня розвитку значно знижуються показники базального кровотоку – ПМ, δ і Kv, що засвідчує глибокі порушення гемомікроциркуляції тканин паро-