

УДК 615.322+57.016.6

А. Л. Загайко, І. В. Сенюк, Л. В. Ленчик, Р. М. Галімуллін

Національний фармацевтичний університет

ВИВЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ СЛИВИ ЗВИЧАЙНОЇ

Встановлена виражена антиоксидантна активність екстракту з листя Сливи звичайної, основним діючим компонентом якого є комплекс сполук поліфенольної природи. Доведено, що екстракт з листя Сливи перевищує за антиоксидантною активністю α -токоферол.

Ключові слова: екстракт із Сливи звичайної; поліфенольні сполуки; антиоксидантна активність

ВСТУП

Однією з актуальних проблем сучасної фармакологічної науки є створення нових більш ефективних, ніж ті, що використовуються, лікарських засобів для лікування захворювань гепатобілярної системи. Ураження печінки є широко розповсюдженою причиною захворюваності та смертності населення. Відповідно до даних ВООЗ лише на вірусні гепатити в різних країнах світу хворіють або перенесли їх до двох мільярдів осіб. Важливу проблему являють собою також ураження печінки токсичного генезу. Лікарські ураження печінки складають значну частину усіх побічних реакцій макроорганізму, пов'язаних із застосуванням лікарських препаратів. Отже, захворювання гепатобілярної системи становлять глобальну проблему, що постає перед сучасною медициною [3, 6-11, 14].

Перспективну для вивчення групу речовин становлять природні поліфеноли. Це пов'язано з тим, що поліфенольні сполуки виявляють широкий спектр фармакологічної активності та відіграють дуже важливу роль у регуляції оксидативного балансу в організмі людини та тварин [11, 12].

Враховуючи традицію використання народною медициною Сливи звичайної, пошук препаратів на основі діючих речовин даної фруктовий культури є актуальною задачею фармацевтичної науки [1, 2, 4, 5].

Об'єктом експериментальних досліджень стала субстанція сухого екстракту з листя Сливи звичайної, отримана на кафедрі хімії природних сполук НФаУ під керівництвом проф. Кисличенко В. С.

Метою дослідження було вивчення антиоксидантних властивостей екстракту з листя Сливи звичайної.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Вивчення антиокиснювальних властивостей екстракту з листя Сливи звичайної в системі *in vitro* про-

водили на моделі спонтанного перекисного окиснення ліпідів у гомогенаті печінки щурів [13]. Наважку печінки щура використовували для приготування 25 % гомогенату на 0,1 М тріс-хлоридному буфері (рН=7,0). Досліджуваний екстракт додавали до отриманого гомогенату з розрахунку 0,5; 1 та 2 мг на 1 г тканини печінки у вигляді тонкодисперсної суспензії, стабілізованої твіном-80. Свіжоотримані суміші по 0,2 мл вносили до пробірок з 3 мл тріс-хлоридного буфера (рН=7,4). Інкубацію проводили при 37 °С протягом 10, 15 та 20 хв у водяному термостаті при постійному струшуванні. Реакцію припиняли додаванням 1,5 мл 40 % розчину трихлорооцтової кислоти, після чого в інкубаційному середовищі визначали вміст ТБК-реактивів, що є кінцевими продуктами перекисної деградації ненасичених кислот, зокрема тих, що входять до складу мембранних фосfolіпідів. Визначення вмісту ТБК-активних продуктів проводили за допомогою реакції з тіобарбітуровою кислотою та подальшим фотометруванням. В якості препарату порівняння був використаний α -токоферол (природний антиоксидант), що додавався до гомогенату у вигляді 0,5 % емульсії, стабілізованої твіном-80 з розрахунку 1 мг на 1 г тканини печінки. Розрахунок кількості екстракту, який вносили до інкубаційного середовища, проводився на підставі такої його кількості, що потрапляє через систему воротної вени до печінки при одноразовому пероральному введенні екстракту з листя Сливи звичайної в дозах 25, 50 та 100 мг/кг відповідно при умові 100 %-вої всмоктуваності. Аналогічним чином розраховувалась і кількість α -токоферолу, яка відповідає ED_{50} і дорівнює 50 мг/кг.

Скринінгові дослідження антиоксидантної та антицитолітичної дії екстракту з листя Сливи звичайної в умовах *in vivo* проводили на моделі гострого тетрахлорометанового гепатиту у щурів. Провідна роль печінки у знешкодженні ксенобіотиків визна-

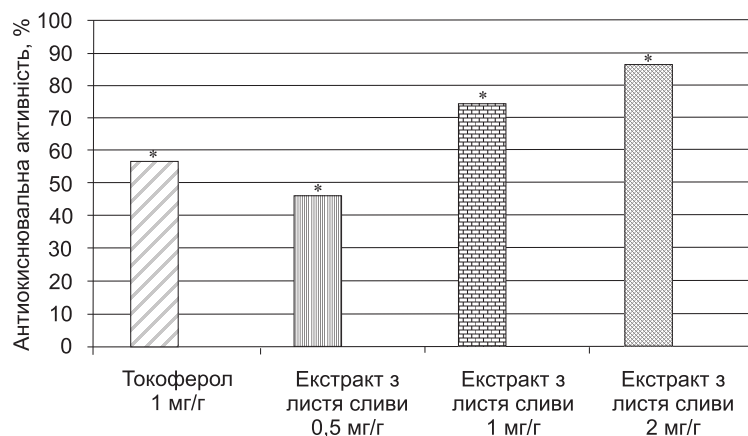


Рис. Середня антиокиснювальна активність густого екстракту з листя Сливи звичайної протягом 20 хвилин.

* – розбіжність достовірна по відношенню до інтакту ($p \leq 0,05$);

** – розбіжність достовірна по відношенню до контрольної патології ($p \leq 0,05$).

чає високу ймовірність ініціації вільнорадикального окиснення за участю ферментних систем гепатоцитів та ушкодження самого органу. Тому модельні патології печінки вважаються найбільш показовими та прийнятними під час доклінічного вивчення антиоксидантних властивостей фармакологічно активних субстанцій.

Досліди були проведені на статевозрілих щурах-самцях вагою 180-200 г. Патологію відтворювали шляхом внутрішньошлункового введення 50 % олійного розчину тетрахлоретану у дозі 1 мл/100 г маси тіла тварини одноразово. Для скринінгу антиоксидантної та антицитолітичної активності екстракту з листя Сливи звичайної були обрані дози 25, 50 та 100 мг/кг, що відповідають 0,05; 0,01 та 0,05 LD₅₀. Досліджувану субстанцію вводили внутрішньошлунково за годину до та через дві години після введення отрути. В якості препарату порівняння був використаний вітчизняний антиоксидант флавоноїдного складу – силібор, що його також вводили за годину до та через дві години після введення тетрахлорометану, препарат порівняння вводили в дозі 25 мг/кг (ЕД₃₀).

Наступної доби тварин декапітували під хлорало-уретановим наркозом та проводили визначення функціонально-біохімічних показників сироватки крові та печінки.

Розрахунок антиоксидантної активності проводили за рівнем ТБК-реактивних у тканині печінки. Вміст ТБК-активних продуктів у гомогенаті печінки визначали колориметричним методом, який ґрунтується на здатності цієї суми сполук утворювати у кислому середовищі забарвлені триметинові комплекси з тіобарбітуровою кислотою, що мають максимум поглинання при 532 нм.

Дослідження проводили відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», що відповідають положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються

для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили методом дисперсійного аналізу за допомогою комп'ютерної програми «Statistica, v.6.0».

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Антиокиснювальні властивості досліджуваної субстанції вивчали на моделі спонтанного перекисного окиснення ліпідів у залежності від концентрації екстракту в умовах *in vitro*.

Експериментальні дані свідчать про наявність у субстанції екстракту з листя Сливи звичайної яскраво виражених антиокиснювальних властивостей. Так, внесення до інкубаційного середовища екстракту з листя Сливи звичайної в кількості 0,5 мг на один грам тканини печінки призводило до зменшення вмісту ТБК-активних продуктів у дослідних пробах протягом 20 хв в середньому на 46,5 % відносно контролю (рис.).

Вплив досліджуваної субстанції на перебіг спонтанного окиснення при збільшенні її концентрації в реакційному середовищі характеризувався ще виразнішим пригніченням ПОЛ. У кількості 1 мг/г екстракт з листя Сливи зменшував вміст ТБК-реактивних у середньому на 75,6 %, в той час як α -токоферол у кількості 1 мг/г – на 56,6 % (табл. 1). Найвиразнішу активність щодо пригнічення ПОЛ досліджуваної субстанції виявив у концентрації 2 мг/г, в якій він зменшував рівень продуктів перекисного окиснення в середньому на 88,1 % впродовж 20 хв.

Таким чином, було встановлено, що субстанція екстракту з листя Сливи звичайної в усіх досліджуваних концентраціях виявляє виразну спроможність до пригнічення перекисного окиснення в системі *in vitro*, а в концентраціях 1 та 2 мг/г перевищує за антиокиснювальними властивостями α -токоферол.

Моделлю для вивчення антиоксидантних властивостей субстанції екстракту з листя Сливи звичай-

Таблиця 1

ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ СЛИВИ ЗВИЧАЙНОЇ НА ПЕРЕБІГ СПОНТАННОГО ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У МОДЕЛЬНІЙ СИСТЕМІ НА ОСНОВІ ГОМОГЕНАТІВ ПЕЧІНКИ (n=3)

	Вміст ТБК-реактивів		
	10 хв	15 хв	20 хв
Контроль	3,26±0,13	6,24±0,18	10,12±0,32
Екстракт сливи 0,5 мг/г	1,54±0,14*	3,45±0,31*	6,27±0,63*
Екстракт сливи 1 мг/г	0,61±0,11*/**	1,76±0,17*/**	3,31±0,45*/**
Екстракт сливи 2 мг/г	0,32±0,06*/**	0,80±0,18*/**	1,5±0,17*/**
α-Токоферол 1мг/г	1,1±0,03*	2,56±0,25*	3,95±0,08*

Примітка: * – розбіжність достовірна по відношенню до контролю (p≤0,05); ** – розбіжність достовірна по відношенню до референс-препарату (p≤0,05); n – кількість проб у кожній серії.

Таблиця 2

ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ СЛИВИ ЗВИЧАЙНОЇ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ В УМОВАХ ГОСТРОГО ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ У ПОРІВНЯННІ З СИЛІБОРОМ (n=6)

Показник	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Екстракт з листя Сливи звичайної			Силібор, 25 мг/кг
			25 мг/кг	50 мг/кг	100 мг/кг	
ТБК-реактанти, мкмоль/г	30,77±0,98	90,81±4,66*	58,96±2,61 */**/**	70,30±4,97 */**	71,32±4,01 */**	76,92±1,31 */**

Примітка: * – розбіжність достовірна по відношенню до інтакту (p≤0,05); ** – розбіжність достовірна по відношенню до контрольної патології (p≤0,05); *** – розбіжність достовірна по відношенню до референс-препарату (p≤0,05); n – кількість тварин у кожній групі.

ної in vivo було обрано гострий тетрахлорометановий гепатит.

У складі субстанції екстракту з листя Сливи звичайної відносно невисокий вміст поліфенолів – до 12 %. Тому для вивчення антиоксидантної активності було б доцільніше застосовувати досліджуваний екстракт у високих дозах. Для скринінгу антиоксидантної активності були обрані дози 25, 50 та 100 мг/кг, що відповідають 0,05; 0,01 та 0,05 LD₅₀. В якості препарату порівняння був використаний вітчизняний антиоксидант флавоноїдного складу – силібор, який вводився в дозі 25 мг/кг (ЕД₃₀). Антиоксидантну активність розраховували за вмістом ТБК-активних продуктів у тканині печінки щурів.

Аналіз експериментальних даних показав (табл. 2), що екстракт з листя Сливи звичайної чинив виразну антиоксидантну дію, пригнічуючи накопичення ТБК-активних продуктів перекисного окиснення ліпідів на 32,46 % у дозі 50 мг/кг та на 34,16 % в дозі 100 мг/кг.

Найвищу активність щодо гальмування процесів ПОЛ екстракт з листя Сливи звичайної виявив у дозі 25 мг/кг. Антиоксидантна активність досліджуваного екстракту в зазначеній дозі становила 53,05 %, що приблизно вдвічі вище за активність, яку виявив препарат порівняння.

Силібор у дозі 25 мг/кг не виявляв за умов модельної патології яскраво вираженої антиоксидантної активності достовірно, але в незначній мірі (на 23,13 %), знижуючи накопичення ТБК-активних сполук у тканині печінки.

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать про наявність виразної антиоксидантної активності у субстанції екстракту з листя Сливи звичайної.

Аналіз експериментальних даних дозволив визначити ефективну дозу екстракту з листя Сливи звичайної. На підставі отриманих даних встановлено, що в умовах гострого тетрахлорометанового гепатиту в дозі 25 мг/кг досліджуваний екстракт виявляє виразніші антиоксидантні властивості, ніж силібор, перевищуючи активність препарату порівняння у 2,3 рази.

ВИСНОВКИ

Встановлено, що екстракт з листя Сливи звичайної, основним діючим компонентом якого є комплекс сполук поліфенольної природи, виявляє виразну антиоксидантну активність, пригнічуючи процес спонтанного перекисного окиснення ліпідів в умовах in vitro. Доведено, що екстракт з листя Сливи перевищує антиоксидантну активність α-токоферолу.

Виявлено, що в умовах in vivo при тетрахлорометановому ураженні печінки екстракт з листя Сливи звичайної виявляє виразні антиоксидантні властивості. Було виявлено перевагу екстракту з листя Сливи звичайної перед препаратом порівняння силібором за значенням ізоефективної дози.

Встановлено, що найбільш потужний антиоксидантний ефект досліджувана субстанція виявляє в дозі 25 мг/кг та перевищує за виразністю дії вітчизняний гепатопротектор силібор у 2,3 рази.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Белов Н. В. Книга садовода / Н. В. Белов. – Мн: Харвест, 2006. – 320 с.
2. Витковский В. Л. Плодовые растения мира / В. Л. Витковский. – С.Пб.: Лань, 2003. – 592 с.

3. Гмірін С. В. Сумісна дія ксенобіотиків на стан антиоксидантної системи організму // Укр. біохім. журн. – 1999. – Т. 71. – С. 103-106.
4. Гудковский В. А. Антиокислительный комплекс плодов и ягод и его роль в защите живых систем от окислительного стресса и заболеваний / В. А. Гудковский // Сб. науч. тр. ВНИИ садоводства. – Мичуринск, 2001. – № 1. – С. 76-88.
5. Гудковский В. А. // Садоводство и виноградарство. – 1999. – № 2. – С. 2-6.
6. Дегтярева И. И. Заболевания органов пищеварения. – К.: Демос, 2000. – 321с.
7. Логинов А. С., Матюшин Б. Н. Свободные радикалы в хронической патологии печени // Архив патол. – 1991. – Т. 53, № 6. – С. 75-79.
8. Майер К. П. Гепатит и последствия гепатита: [практич. руковод.] / Пер. с нем. под ред. А. А. Шептулина. – М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 2000. – С. 157-310.
9. Подымова С. Д. Болезни печени. – М.: Медицина, 1999. – 447 с.
10. Подымова С. Д. // Матер. науч.-практ. конф.: Механизмы алкогольных поражений печени и их фармакологическая коррекция эссенциальными фосфолипидами: [Алкогольная болезнь печени. Пути фармакологической коррекции]. – М., 1999. – С. 1-6.
11. Сейфула Р. Д., Борисова И. Г. Проблемы фармакологии антиоксидантов // Фармакол. и токсикол. – 1990. – Т. 53, № 6. – С. 3-10.
12. Скаун Н. П., Шманько В. В., Степанова Н. Ю. Использование биофлавоноидов для профилактики отрицательного действия тетрациклина на печень // Антибиотики и мед. биотехнол. – 1985. – № 6. – С. 452-455.
13. Стальная И. Д., Гавришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. – 1977. – С. 66-68.
14. Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевания печени и желчных путей: [практич. руководство] / Пер. с англ. под ред. З. Г. Апросиной, Н. А. Мусина. – М.: Ботер, Медицина, 1999. – 964 с.

УДК 615.322+57.016.6

А. Л. Загайко, И. В. Сеньук, Л. В. Ленчик, Р. М. Галимуллин

ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА ИЗ ЛИСТЬЕВ СЛИВЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

Установлена выраженная антиоксидантная активность экстракта из листьев Слив обыкновенной, основным действующим компонентом которого является комплекс соединений полифенольной природы. Доказано, что экстракт из листьев Слив обыкновенной превышает по антиоксидантной активности α -токоферол.

Ключевые слова: экстракт Слив обыкновенной; полифенольные соединения; антиоксидантная активность

UDC 615.322+57.016.6

A. L. Zagayko, I. V. Senyuk, L. V. Lenchyk, R. M. Galimullin

STUDY OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE EXTRACT FROM PLUM ORDINARY LEAVES

Pronounced antioxidant activity of the extract from plum ordinary leaves has been ascertained, the main active component of which is a complex of polyphenolic compounds. It is proved that the extract from plum leaves possesses a higher antioxidant activity than α -tocopherol.

Key words: extract from plum leaves; polyphenolic compounds; antioxidant activity

Адреса для листування:
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.
E-mail: citochrom@gmail.com.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 17.01.2014 р.