

Рис. 1. Изменение оптической плотности адреналина в присутствии сборов

Поэтому фенольные соединения способны гасить цепные свободнорадикальные процессы [1].

С этой целью мы провели сравнительное изучение антиоксидантной активности семи различных сборов, составленных на кафедре фармакогнозии БГМУ и рекомендованных для лечения сердечно-сосудистых заболеваний. В прописи сборов включено лекарственное растительное сырье, разрешенное к применению в медицине на территории РФ.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Антиоксидантную активность сборов мы изучали с использованием нескольких методик.

Во-первых, об антиоксидантной активности сборов судили по их способности ингибировать аутоокисление адреналина *in vitro* и тем самым предотвращать образование активных форм кислорода (методика 1) [2]. Обнаружено, что в процессе аутоокисления адреналина в щелочной среде при комнатной температуре интенсивно нарастает поглощение с максимумом при 347 нм. Установлено, что появление этого продукта окисления адреналина значительно опережает по времени образование адrenoхрома (480 нм). Поэтому предлагается использовать определение данного вещества для измерения антиоксидантной активности различных видов лекарственного растительного сырья и препаратов на их основе. Для этого к 2 мл бикарбонатного буфера (pH = 10,65) добавляли 0,1 мл

0,1% раствора адреналина гидрохлорида и определяли оптическую плотность через 10 минут при длине волны 347 нм в кювете толщиной 10 мм на спектрофотометре СФ-46 (ОП₁). Далее к 2 мл бикарбонатного буфера (pH = 10,65) добавляли 0,03 мл исследуемого сбора в виде настоя и 0,1 мл 0,1% раствора адреналина гидрохлорида и определяли оптическую плотность через 10 минут при длине волны 347 нм в кювете толщиной 10 мм на спектрофотометре СФ-46 (ОП₂) (рис. 1).

Антиоксидантную активность (АОА) рассчитывали по формуле:

$$АОА = (ОП_1 - ОП_2) \cdot 100 / ОП_1$$

Величина АОА более 10% свидетельствует о наличии антиоксидантной активности. При расчете антиоксидантной активности также учитывалось то, что экстракты имели свою собственную окраску, которая поглощает определенную длину волны в видимой области спектра (табл. 1).

Таким образом, оказалось, что все исследованные сборы методом 1 обладают высокой антиокислительной активностью.

Для определения антиоксидантной активности методом 2 мы использовали экспресс-метод на культуре клеток. Так, инфузории вида *Paramecium Caudatum* рекомендованы рядом исследователей для ориентировочной оценки антиоксидантного, мембраностабилизирующего, адаптогенного действия как индивидуальных, так и комплексных растительных препаратов. Парамеции являются

Таблица 1

Антиоксидантная активность исследуемых сборов*, %

Активность	Настой сбора ГБ	Настой сбора ПИ	Настой сбора А	Настой сбора НМК	Настой сбора И	Настой сбора ИТ	Настой сбора ИБС
АОА, %	92,6 ± 4,1	85,4 ± 3,35	81,2 ± 3,12	74,3 ± 2,11	83,2 ± 4,1	74 ± 3,02	67,1 ± 2,57

* В таблице представлены средние значения шести измерений

Таблица 2

Оценка активности растительных сборов с использованием парameций*

Объект исследования		Настой сбора ГБ	Настой сбора ПИ	Настой сбора А	Настой сбора НМК	Настой сбора И	Настой сбора ИТ	Настой сбора ИБС
Время остановки парameций, мин.	В 14% этаноле	6,9	8,1	5,4	3,2	6,1	5,8	6,8
	в 3% перекиси водорода	2,4	3,5	7,3	5,4	3,5	4,2	4,2
Лизирующая концентрация клеточных ядов, %	этанола	21	27	21	21	21	21	21
	перекиси водорода	9	9	6	3	6	6	6
Оценка активности		умеренно-активный	высоко-активный	умеренно-активный	слабо-активный	умеренно-активный	умеренно-активный	умеренно-активный

* В таблице представлены средние значения шести измерений

чувствительными биообъектами, что связано с наличием ресничек, расположенных по всей поверхности их тела и выполняющих роль хеморецепторов, реагирующих на растворенные химические вещества. По способности повышать толерантность парameций к клеточным ядам под воздействием исследуемых веществ можно опосредованно судить об их адаптогенной активности. Парameции находятся в постоянном движении, поэтому легко наблюдать малейшие изменения в движении под воздействием яда. Кроме того, разрушение структурных связей мембраны химическими веществами приводит к лизису клеток, что также можно фиксировать [3].

В качестве ядов при изучении мембраностабилизирующей активности использовали этанол различной концентрации, а антиоксидантной — раствор перекиси водорода.

К культуре парameций добавляли испытуемый сбор в виде настоя в пороговой концентрации и

выдерживали в хроническом опыте 24—72 часа, т.е. период, когда формируются защитные механизмы, затем создали патологическую модель повреждения мембран парameций 14%-ным раствором этанола и 3%-ным раствором перекиси водорода, засекая время полной их остановки (методика 2). Повышая далее процентное содержание ядов, фиксировали концентрацию, вызывающую лизис парameций. Контролем служили интактные клетки парameций. Биологическую активность определяют по шкале, предложенной автором методики (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Таким образом, в целом обе методики дают объективные результаты, согласно которым все исследуемые прописи сборов в той или иной степени обладают достаточно высокой антиоксидантной активностью, особенно прописи сборов ГБ, ПИ, И и А (рис. 2).

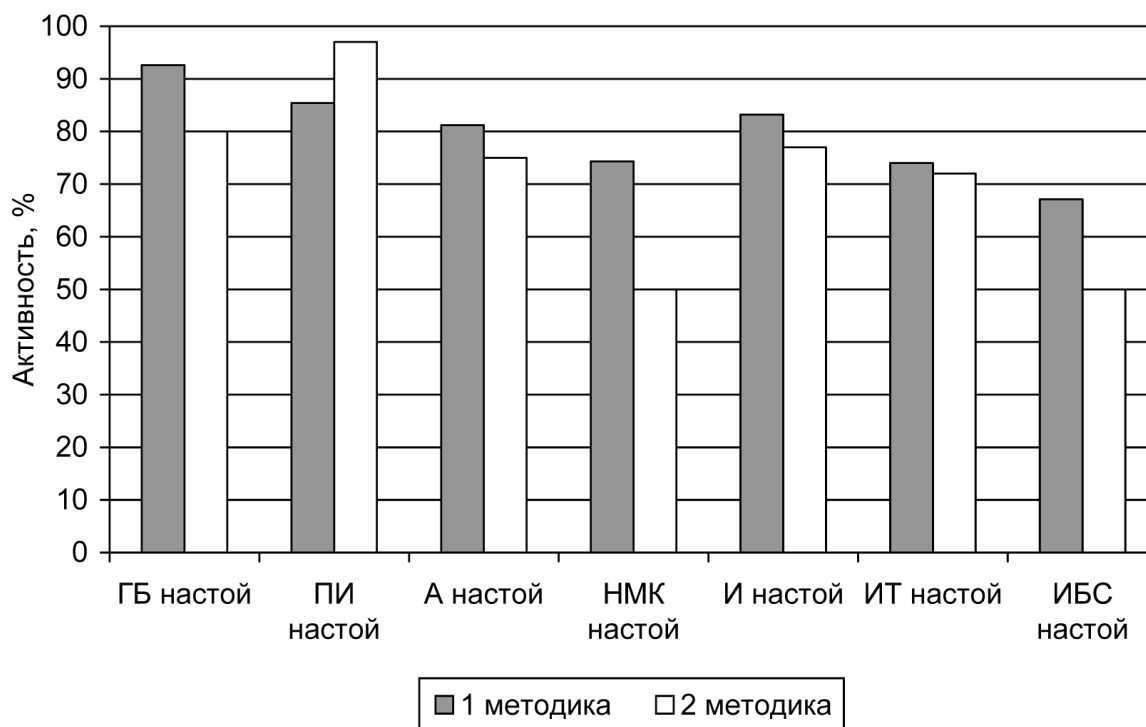


Рис. 2. Сравнительные данные методик 1—2 антиоксидантной активности сборов

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Можно сделать вывод, что данные методы изучения антиоксидантной активности можно использовать в скрининговых исследованиях лекарственных растений и препаратов на их основе:

- для сравнительных исследований по установлению антиоксидантной, мембраностабилизирующей, адаптогенной активности растительных и природных объектов;
- при изучении возможности рационального сочетания различных фитокомпозиций для усиления суммарного эффекта;
- для биофармацевтических исследований по установлению влияния технологических факторов и вспомогательных веществ на биологическую доступность фитопрепаратов из лекарственного растительного сырья.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Свободнорадикальное окисление и старение / Хавинсон В.Х., Баринов В.А., Арутюнян А.В. и др. — С-Пб: «Наука», 2003. — 327с.
2. Сирота Т.В. Способ определения антиоксидантной активности супероксиддисмутазы и химических соединений. Заявка № 99103192 (003673), приоритет от 24.02.1999.
3. Использование экспресс-методов оценки биологической активности на культуре клеток при разработке фитопрепаратов адаптогенного действия / Степанова Э.Ф., Андреева И.Н., Огай М.А. и др. // Фармация на современном этапе — проблемы и достижения. Научные труды НИИФ, том XXXIX, часть 1, М.: — 2000, С. 299—302.