

ВИВЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ ЕКСТРАКТІВ З НАДЗЕМНОЇ ЧАСТИНИ БУРЯКА ЗВИЧАЙНОГО

І.В.Сенюк

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: буряк звичайний; флавоноїди; антиоксидантна активність; вільнорадикальні процеси; перекисне окиснення ліпідів; ТБК-активні продукти

*Під час попередніх фармакологічних досліджень вперше доведена наявність антиексудативної активності екстрактів з надземної частини буряка звичайного (*Beta vulgaris*). Оскільки одним з ключових механізмів запалення є активація ПОЛ клітинних мембран, проведені експерименти щодо з'ясування впливу досліджуваних екстрактів на перебіг зазначеного процесу. Порівняльний аналіз експериментальних даних дозволив визначити найбільш активний за антиоксидантною дією екстракт, умовно названий "Беугепатин". Встановлено дозозалежний характер ефекту. У досліджах *in vitro* та *in vivo* беугепатину була встановлена умовно терапевтична доза беугепатину. Доведено, що дія екстракту "Беугепатин" перевищує активність препарату порівняння — відомого антиоксиданту вітаміну Е. Антиоксидантний ефект дослідженого екстракту зумовлений вмістом поліфенольних сполук (біофлавоноїдів та кумаринів), які входять до складу сировини.*

Використання рослин з лікувальною метою належить важливе місце у терапії різних захворювань. Лікарські препарати, одержані з рослинної сировини, складають близько третини від загального обсягу препаратів, що випускаються сучасною фарміндустрією. Ефективність лікування рослинами перевірена народним досвідом та медичною практикою. Наявність певних переваг фітопрепаратів над синтетичними лікарськими засобами (широкий вибір терапевтично активних інгредієнтів у лікарських рослинах, можливість їх комбінованого використання, низька частота побічних ефектів) сприяє їх широкому використанню у клінічній практиці [6, 9, 10].

При виборі об'єкту досліджень нашу увагу привернула овочева культура буряк звичайний (*Beta vulgaris*), а саме її надземна частина (гичка), яка являє собою сільськогосподарські відходи. Буряк звичайний посідає одне з перших місць за площею культивування в Україні, що є великою сировин-

ною базою для промислового використання у виробництві лікарських засобів. Багаторічний досвід народної медицини свідчить, що буряк як цілюща рослина покращує травлення, функцію шлунково-кишкового тракту, печінки, нирок, проявляє сечогінну, легку проносну, антисклеротичну, протицинготну, протизапальну та знеболюючу дію. Аналіз вітчизняної та іноземної літератури дозволив узагальнити відомості щодо фармакологічних властивостей окремих груп біологічно активних речовин (БАР), які входять до складу надземної частини буряка звичайного [10, 11].

Первинне фармакологічне дослідження протизапальної активності екстрактів, виділених з буряка звичайного, дозволило виявити окремі екстракти з виразним пригнічувальним впливом на ексудативні прояви у вогнищі запалення [5]. Одним з ключових патогенетичних механізмів запалення є активація перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) клітинних мембран, яка призводить до

процесу цитолізу і подальшого прояву ексудації та альтерації [1]. Тому у більшості відомих антифлогістиків, що використовуються у сучасній медицині, протизапальний ефект поєднується з антиоксидантною активністю [4].

Потужними антиоксидантами є сполуки поліфенольної будови, які широко представлені в рослинному світі. До їх числа належать флавоноїди і кумарини. Флавоноїди нетоксичні і є синергістами аскорбінової кислоти, що сприяє їх взаємному захисту від руйнування і забезпечує високий біологічний ефект [9, 12].

Наявність у складі діючих речовин екстрактів з буряка звичайного поліфенольних сполук визначило вивчення протіокиснювальної активності екстрактів, що проявляють доведений виразний протизапальний ефект.

Матеріали та методи

Як об'єкти дослідження використовували сухі екстракти з гички буряка звичайного, умовно позначені шифрами 1, 4, та 8.

Екстракт буряка звичайного №1 був одержаний з висушеної надземної частини рослини шля-

Таблиця 1

Результати вивчення впливу деяких екстрактів з гички буряка звичайного на інтенсивність процесів пероксидації в умовах тетрахлорметанового гепатиту (n = 5)

Умови досліджу	Концентрація у гомогенаті печінки ТБК-АП, ммоль/г	Довірчий інтервал при P≤0,05	Антиоксидантна активність, %
Контрольна патологія	64,0±3,5**	55,5÷72,5	—
Інтактний контроль	40,3±2,5	34,2÷46,4	
Тварини, ліковані екстрактом №1	27,8±6,1*	12,9÷42,7	56,6
Тварини, ліковані екстрактом №4	48,5±4,6	37,2÷59,8	24,2
Тварини, ліковані екстрактом №8	39,4±4,3*	28,9÷49,9	38,5
Тварини, ліковані вітаміном Е	28,2±5,4*	15,0÷41,4	55,8

Примітки:

- 1) * — розбіжність по відношенню до тварин контрольної патології статистично достовірна (P≤0,05);
- 2) ** — розбіжність по відношенню до тварин інтактного контролю статистично достовірна (при P≤0,05);
- 3) n — кількість тварин у кожній групі.

хом водного екстрагування. Проведений фітохімічний аналіз екстракту надав можливість виявити такі діючі речовини: кумарини (умбеліферон, ізоскопалетин, скопалетин, дафноретин); флавоноїди (похідні флавонолу та флавонолу); оксикоричні кислоти (хлорогенова та неохлорогенова кислоти); вуглеводи: фруктоза, глюкоза, сахароза, а також полісахаридний комплекс нерегулярної будови, який складається з залишків глюкози, галактози, арабінози, рамнози, галактуронової кислоти та арабіногалактину; органічні кислоти (щавлева, яблучна, лимонна); вільні амінокислоти (аланін, валін, гліцин, тирозин, аспарагін, глутамін, лейцин, ізолейцин, аспарагінова кислота, α-аміномасляна кислота); бетаїн та бетанін, а також вітаміни (віт. С та віт. групи В). Екстракт №4, виділений з висушеної гички буряка шляхом екстракції 30% спиртом. Технологія екстрагування дозволила зменшити вміст полісахаридів та підвищити вміст поліфенольних сполук (кумаринів, флавоноїдів та оксикоричних кислот). Екстракт №8 — індивідуальна речовина, виділена з гички буряка звичайного (бетаїн).

При відтворенні модельної патології *in vivo* стимуляцію ПОЛ викликали внутрішньоочеревинним уведенням білим щурам масою 120-150 г класичного гепатотоксину тетрахлорметану (25% олійний розчин вводили у розрахунку

0,2 мл на 100 г маси тварини). Тварини були розділені на 5 груп, у кожній з яких було по 5 тварин: перша група — тварини інтактного контролю; друга група — тварини контрольної патології; третя, четверта та п'ята групи — тварини, яким вводили відповідно екстракти №1, 4, 8 у дозі 100 мг/кг на фоні ураження печінки CCl₄ [2]. Екстракти вводили за 1 год до ін'єкції гепатотоксину. Через 24 год щурів, які перебували в стані легкого ефірного наркозу, декапітували. У тканині печінки визначали рівень ТБК-активних продуктів (ТБК-АП). Інтенсивність вільнорадикальних процесів оцінювали за концентрацією ТБК-АП у гомогенатах печінки, яку визначали реакцією з тіобарбітуровою кислотою [3]. Як препарат порівняння був використаний вітамін Е у дозі ЕД₅₀ (50 мг/кг).

Розрахунок антиоксидантної активності проводили за формулою:

$$C = E \cdot 641, A = 100 \left(1 - \frac{C}{C_0}\right),$$

де: C — концентрація ТБК-АП дослідної проби, ммольМДА/г тканини печінки;

E — екстинкція дослідної проби;

A — антиоксидантна активність екстрактів;

C₀ — концентрація ТБК-АП контрольної проби, ммольМДА/г

тканини печінки; 641 — розрахунковий коефіцієнт.

Для оцінки залежності "доза-ефект" найбільш активного ек-

тракту "Беугепатин" використовували моделі *in vitro* та *in vivo*. Антиоксидантну активність в умовах *in vitro* вивчали за методом визначення спонтанного гемолізу за Jager [7]. Беугепатин додавали у реакційне середовище в різних дозах (10, 50, 100 та 200 мг/кг). За ступенем гемолізу визначали вплив досліджуваного екстракту на перекисну резистентність еритроцитів.

Вивчення вираженості антиоксидантної активності *in vivo* екстракту беугепатину в залежності від дози (10, 50, 100 та 200 мг/кг) проводили в умовах тетрахлорметанового гепатиту [3]. Як препарат порівняння був використаний вітамін Е у дозі ЕД₅₀. Інтенсивність вільнорадикальних процесів оцінювали за концентрацією ТБК-АП у гомогенатах печінки щурів.

Результати та їх обговорення

Результати вивчення антиоксидантних властивостей препаратів, виділених з гички буряка звичайного, представлені у табл. 1.

Аналіз експериментальних даних показав, що через добу вміст ТБК-АП у тканині печінки щурів контрольної групи вірогідно збільшувався у 1,6 рази у порівнянні з інтактною групою. Рівень ТБК-реактивних, близький до значень інтактних тварин, залишався при лікуванні екстрактом №8. Використання екстракту №4 приводи-

Таблиця 2

Результати вивчення антиоксидантної активності бевугепатину в умовах *in vivo* (n = 5)

Умови досліджу	Доза, мг/кг	Концентрація у гомогенаті печінки ТБК-АП, ммоль/г	Довірчий інтервал при P≤0,05	Антиоксидантна активність, %
Контрольна патологія	—	85,7±5,4**	72,5÷98,9	—
Інтактний контроль	—	42,6±3,5*	34,1÷51,1	—
Тварини, ліковані бевугепатином	10	48,1±3,2	40,3÷55,9	24,0
	50	39,3±2,1**	34,2÷34,2	38,1
	100	27,99±1,8***	23,59÷32,39	57,0
	200	36,1±2,2	30,7÷41,5	35,8
Тварини, ліковані вітаміном Е	50	32,4±4,3*	21,9÷42,9	42,8

Примітки:

- 1) * — розбіжність по відношенню до тварин контрольної патології статистично достовірна (P≤0,05);
- 2) ** — розбіжність по відношенню до тварин інтактного контролю статистично достовірна (P≤0,05);
- 3) *** — розбіжність по відношенню до вітаміну Е статистично достовірна (P≤0,05);
- 4) n — кількість тварин у кожній групі.

ло до невірідного зниження вмісту ТБК-АП у 1,3 рази у порівнянні з групою нелікованих тварин, однак до перевищення вмісту аналогічного показника інтактних тварин у 1,2 рази.

Найбільш значним було пригнічення процесів пероксидації при введенні тваринам екстракту №1 — зменшення вмісту ТБК-АП по відношенню до контрольної групи у 2,3 рази, яке носило вірогідний характер. Одержані ре-

зультати дозволили порівняти антиоксидантну активність екстракту №1 з ефектом природного антиоксиданта — вітаміна Е.

Таким чином, дослідження антиоксидантної активності та порівняльний аналіз експериментальних даних дозволили визначити найбільш терапевтично ефективний із досліджуваних екстрактів, отриманих з гички буряка звичайного. Цей екстракт являє собою сумарний водний екстракт

(екстракт №1), умовно названий “Бевугепатин”. Виходячи з вищевказаного, доцільно було у наступній серії дослідів вивчити вплив зазначеного екстракту на окремі показники ПОЛ *in vitro* та *in vivo* в залежності від дози.

Результати експериментів *in vitro* показали, що більш ефективним при моделюванні пероксидного гемолізу виявилось додавання до реакційного середовища бевугепатину у дозі 100 мг/кг. Введення бевугепатину у такій дозі стримувало вихід позаеритроцитарного гемоглобіну, обумовлений порушенням цілісності еритроцитарних мембран. При збільшенні дози до 200 мг/кг спостерігалась тенденція до зниження антигемолітичної активності бевугепатину. Визначену активність бевугепатину можна порівняти з такою у вітаміну Е (31,3% та 33,6%, відповідно) (рис.). Цілком імовірно, що підвищення стійкості мембран еритроцитів до окисного руйнування бевугепатину обумовлено його антиоксидантними властивостями.

У дослідях *in vivo* (табл. 2) встановлено, що у дозі 100 мг/кг бевугепатин виявляє максимальний антиоксидантний ефект (57%), який перевищує антиоксидантний ефект вітаміну Е (42,8%). У дозах 10 мг/кг та 50 мг/кг бевугепатин гальмує вільнорадикальні процеси відповідно на 24% та 38,1%. Виразність дії бевугепа-

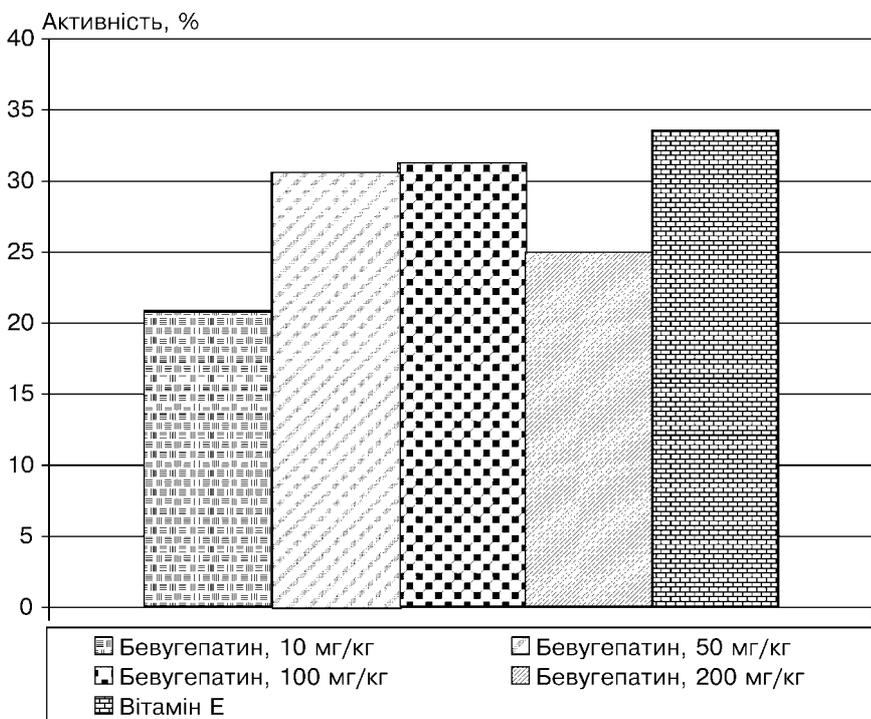


Рис. Вплив бевугепатину на перекисну резистентність еритроцитів

Таблиця 3

Дозозалежний характер антиексудативної та антиоксидантної активності екстракту “Бевугепатин”

Доза бевугепатину, мг/кг	Антиексудативна активність, %	Антиоксидантна активність, %
100	63,3	57,0
200	30,0	35,8

тину у дозі 10 мг/кг та 50 мг/кг не досягає рівня активності вітаміну Е (42,8%). Для бевугепатину у дозі 200 мг/кг виразність гальмуючого впливу до накопичення ТБК-АП у печінці мала тенденцію до зниження. Ймовірно, збільшення дози рослинного екстракту, який містить у своєму складі різні сполуки фенольної природи (похідні флавонолу та флавонону, оксикоричні кислоти, флавоноглікозиди), призводить до протилежного біологічного ефекту. Ця дозозалежна закономірність була простежена також при вивченні протизапальної активності [5]. Як видно з табл. 3, найактивніша протизапальна активність була у дозі 100 мг/кг, а з підвищенням дози (200 мг/кг) анти-

ексудативна активність знижувалась, що ймовірно, пов'язано з інтенсифікацією ПОЛ, деструкцією клітинних мембран та посиленням ексудативних проявів.

Гальмуюча дія на процеси ПОЛ бевугепатину полягає у тому, що останній містить поліфенольні сполуки (біофлавоноїди та кумарини), а також значну кількість аскорбінової кислоти. Флавоноїди проявляють антиоксидантну активність за рахунок наявності в їх структурі рухомого атома гідрогену, який використовується для ліквідації вільних радикалів — ініціаторів ПОЛ. Аскорбінова кислота, у свою чергу, здатна викликати антиоксидантний ефект завдяки існуванню її у двох формах (окисненій та відновленій), тим

самим вона може виступати “пасткою” для вільних радикалів [8].

ВИСНОВКИ

1. У результаті дослідження антиоксидантної активності екстрактів з надземної частини буряка звичайного виявлено найбільш активний екстракт (№1), що являє собою сумарну водну витяжку з гички та умовно названий “Бевугепатин”.

2. Проведено вивчення антиоксидантної активності “Бевугепатина” в різних дозах для визначення залежності “доза-ефект”.

3. Доведено, що з підвищенням дози “Бевугепатину” посилюються процеси ПОЛ, що при запальних проявах може позначатися посиленням ексудації та збільшенням набряку.

ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиокислительный гомеостаз в норме при патологии. — К.:Чернобыльинтеринформ, 1997. — Ч. 1. — 420 с.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації. / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.
3. Дроговоз С.М., Сальникова С.И., Скакун Н.П., Слышков В.В. Методические рекомендации по экспериментальному изучению желчегонной, холеспазмолитической, холелитиазной и гепатопротекторной активности новых лекарственных средств. Издание официальное. — К.: ФК МЗ Украины, 1994.
4. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К. //Успехи современной биологии. — 1997. — Е. 117, №2. — С. 155-171.
5. Сенюк І.В. //Вісник фармації. — 2007. — №2 (50). — С. 62-65.
6. Соколов С.Я. Фитотерапия и фитофармакология: Руковод. для врачей. — М.: ООО “Медицинское информационное агентство”, 2000. — 976 с.
7. Строев Е.А., Макарова В.Г. Практикум по биологической химии. — М.: Высш. школа, 1986. — С. 208-211.
8. Berkson В.М. //Med. Klin. — 1999. — Oct. 15. — Vol. 94. — Suppl. 3. — P. 84-89.
9. Hughes J.M., Ceay C. Fruit and Vegetable Consumptions by Yong Persons Aged 4-18 Years Total Dially Number of Portion //Proc. Nutr. Soc. (2001).
10. Middleton E.Jr. //Adv. Exp. Med. Biol. — 1998. — Vol. 439. — P. 175-182.
11. Kanner J., Ceranit R. //J. of Agricultural Food Chemistry. — 2001. — Vol. 49 (11). — P. 5178-5185.
12. Luper S. //Altern. Med. Rev. — 1998. — Vol. 3. — P. 410-421.

Адреса для листування: 61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12. Тел. (057) 706-30-99. Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 11.07.2007 р.