

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ *PADUS GRAYANAE* MAXIM И ИХ АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА

Исмаилов И.З. Email: Ismailov628@scientifictext.ru

*Исмаилов Исабек Зайлидинович – кандидат фармацевтических наук, доцент,
кафедра базисной и клинической фармакологии,
Кыргызская государственная медицинская академия им. И.К. Ахунбаева, г. Бишкек, Кыргызская Республика*

Аннотация: статья отражает результаты фитохимического анализа сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* на идентификацию и количественное определение содержания хлорогеновой и кофеиновой кислот методом ВЭЖХ. Сравнительный анализ хроматограмм, изучаемого препарата и стандартных образцов хлорогеновой и кофеиновой кислот, показал, что в образцах сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* содержание хлорогеновой кислоты - 10,7 мг/1г; кофеиновой кислоты – 0,95 мг/1г. В результате серии проведенных экспериментов в условиях *in vitro*, с использованием метода DPPH, изучены антиоксидантные свойства биологически активных веществ *Padus Grayanae Maxim*.

Ключевые слова: экстракт *Padus Grayanae Maxim*, хлорогеновая и кофеиновая кислоты, антиоксиданты.

STUDYING BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES *PADUS GRAYANAE* MAXIM AND THEIR ANTIOXIDANT FEATURES

Ismailov I.Z.

*Ismailov Isabek Zailidinovich - Associated professor, candidate of pharmaceutical sciences,
DEPARTMENT OF BASIC AND CLINICAL PHARMACOLOGY,
I.K. AKHUNBAEV KYRGYZ STATE MEDICAL ACADEMY, BISHKEK, KYRGYZ REPUBLIC*

Abstract: report reflects the results of phitochemical analysis of dry extract of *Padus Grayanae Maxim* for identification and qualitative determination of chlorogenic and caffeinic acids content by the HPLC method. Comparative analysis of chromatograms of investigational product and standard of samples of chlorogenic and caffeic acids showed that dry extract samples of *Padus Grayanae Maxim* containing 10,7mg./1gr. of chlorogenic acid; 0,95mg./1gr. of caffeic acid. As a result of a series of experiments conducted *in vitro* using the DPPH method, the antioxidant properties of the biologically active substances *Padus Grayanae Maxim* were studied.

Keywords: extract of *Padus Grayanae Maxim*, chlorogenic and caffeic acids, antioxidants.

УДК 615.014

Актуальность.

Лекарственные растения, как возобновляемый сырьевой ресурс, являются богатым потенциальным источником новых природных соединений, обладающих широким спектром фармакологической активности.

Систематические исследования в области фитотерапии способствовали тому, что за последнее десятилетие некоторые лечебно-профилактические средства растительного происхождения с иммуномодулирующим действием заняли одно из ведущих мест среди лекарств, применяющихся в клинической практике.

Как известно, фитопрепараты отличаются слабым алергизирующим действием, по сравнению с синтетическими соединениями, которые являются ксенобиотиками - веществами, чужеродными для организма. Препараты из растений, благодаря наличию в своем составе комплекса природных физиологически активных веществ, мягко воздействуют на организм в целом и корректируют его измененные функции. Природные биоактивные вещества взаимно дополняют и усиливают действие друг друга, и при этом во многих случаях происходит не просто фитотерапевтическое воздействие на тот или иной орган или систему органов, но и существенно повышается общая резистентность организма [1, 2, 3].

Сотрудниками кафедры базисной и клинической фармакологии КГМА в течение ряда лет проводилось изучение фармакологических свойств препаратов из надземных частей *Padus Grayanae Maxim*, сем. розоцветных, произрастающей на юге Японии и интродуцированной в Ботаническом саду НАН КР. По результатам проведенных исследований получен патент Российской Федерации «Средство, обладающее иммуномодулирующим действием» [4, 5].

Целью настоящего исследования явилось изучение биологически активных веществ *Padus Grayanae maxim* и их антиоксидантных свойств.

Материалы и методы

Объектом исследования служил сухой экстракт *Padus Grayanae maxim*, полученный методом лиофильной сушки водно-спиртового извлечения из надземных частей *Padus Grayanae Maxim* [6].

Методы исследования

Идентификация и количественное определение проводилось в отношении хлорогеновой и кофейновой кислот. Определение БАВ в сухом экстракте *Padus Grayanae Maxim* проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Анализ проводили на жидкостном хроматографе с насосом высокого давления с подачей растворителя от 0,1 до 5,0 см³/мин., обеспечивающим работу в режиме градиентного элюирования, оборудованном спектрофотометрическим детектором с переменной длиной волны и системой для сбора и обработки хроматографических данных.

Подготовка образца

1 г измельченного сырья помещают в плоскодонную колбу, добавляют 50 см³ 50%-ного этилового спирта, смесь нагревают на водяной бане при 55-60°C в течении 30 мин. Экстракцию повторяют пятикратно. Спиртовые экстракты, охлаждают, фильтруют и доводят объем до 250 см³ 50%-ным этанолом.

Условия хроматографического разделения:

- колонка Zorbax ODS, 5 мкм, 250 x 4,6 мм;
- предколонка – ODS, 5 мкм, 20 x 4,6 мм;
- объем инъекции 20 мкл;
- подвижная фаза: Градиентный режим, метанол – 1,5% уксусная кислота от (20 : 80) до (40 : 60) 60 минут;
- скорость потока: 1 см³/мин;
- температура колонки - 45°C
- длина волны: 275 нм.

Содержание действующих веществ вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_1 * m_0 * V_1 * P * 100}{S_0 * V_0 * m_1 * 100 * (100 - W)}$$

Где: S₁ = площадь основного пика на хроматограмме испытуемого образца;

S₀ = площадь основного пика на хроматограмме стандартного образца;

m₁ - масса навески препарата, в миллиграммах;

m₀ - масса навески стандартного образца, в миллиграммах;

V₁ – объем разведения испытуемого образца, в миллилитрах;

V₀ – объем разведения стандартного образца, в миллилитрах;

P - чистота стандартного образца, в процентах;

W – содержание влаги в испытуемом образце, в процентах

Приготовление раствора стандартного образца

Навески стандартного образца хлорогеновой и кофейновой кислот растворяют в 50% растворе этанола с помощью ультразвуковой бани в течение 5 минут. Концентрация раствора кофейновой и хлорогеновой кислот в растворе - 0,1 мг/мл.

Приготовление подвижной фазы: 7,1 мл ледяной уксусной кислоты наливаем в мерную колбу вместимостью 500 мл и доводим до метки водой для ВЭЖХ и перемешиваем.

Антиоксидантная активность тестируемого сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* изучалась в серии экспериментов *in vitro* методом DPPH на спектрофотометре Beckman coulter DU-520 UV-Visible (Scanning Spectrophotometer, США).

В качестве метода оценки антиоксидантной активности использовалась колориметрия свободных радикалов, основанная на реакции DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (C₁₈H₁₂N₅O₆, M = 394,33), растворенного в этаноле, с образцом антиоксиданта. Реакция контролируется по изменению оптической плотности обычными методами спектрофотометрии [7, 8, 9].

Антиоксидантную активность *Padus Grayanae Maxim* определяли по значению величины IC₅₀ (концентрация экстракта, при которой PI=50%, при данной начальной концентрации радикала DPPH и фиксированном соотношении объемов разведенных растворов).

Статистическую обработку данных проводили с использованием Microsoft Excel в версии 2013г. по формуле:

$$\text{Антиоксидантная активность} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100\%$$

Где:

A₀ – величина антиоксидантного поглощение DPPH раствора (контроль);

A₁ – антиоксидантная активность исследуемого раствора с DPPH реактивом.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведенных исследований было установлено, что в образцах сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* содержится: хлорогеновая кислота - 10,7 мг/1г; кофеиновая кислота – 0,95 мг/1г.

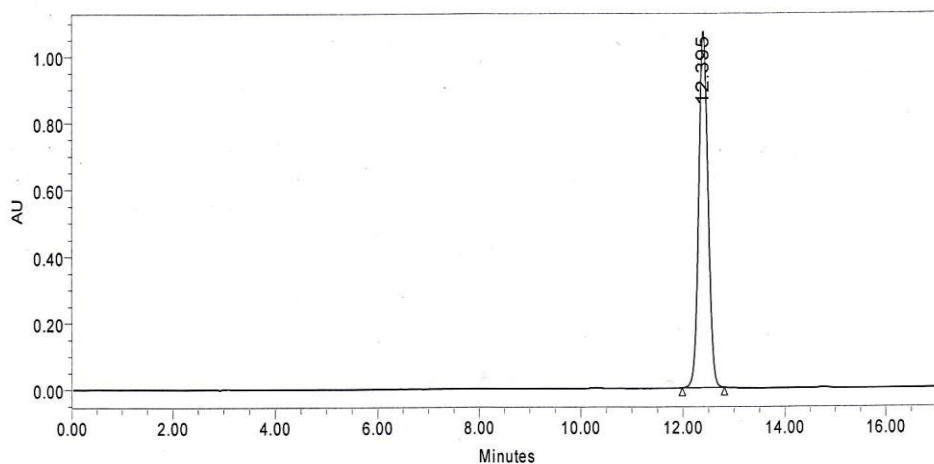


Рис. 1. Хроматограмма стандартного образца кофеиной кислоты

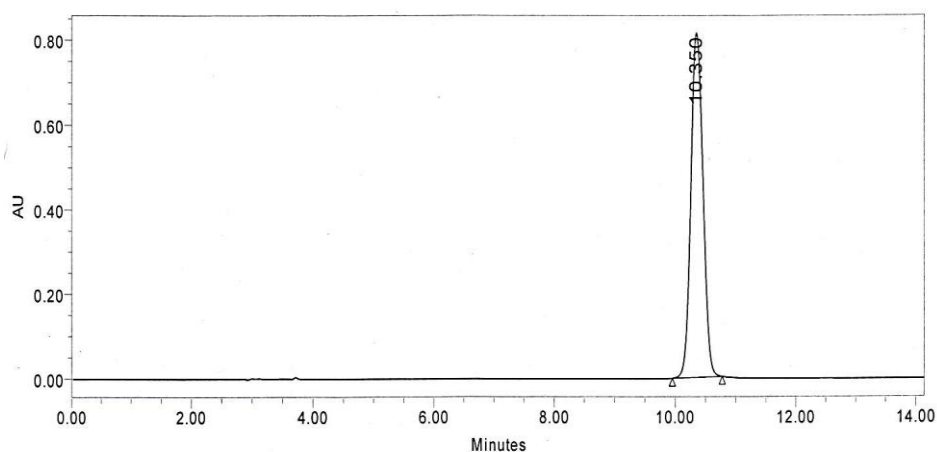


Рис. 2. Хроматограмма стандартного образца хлорогеновой кислоты

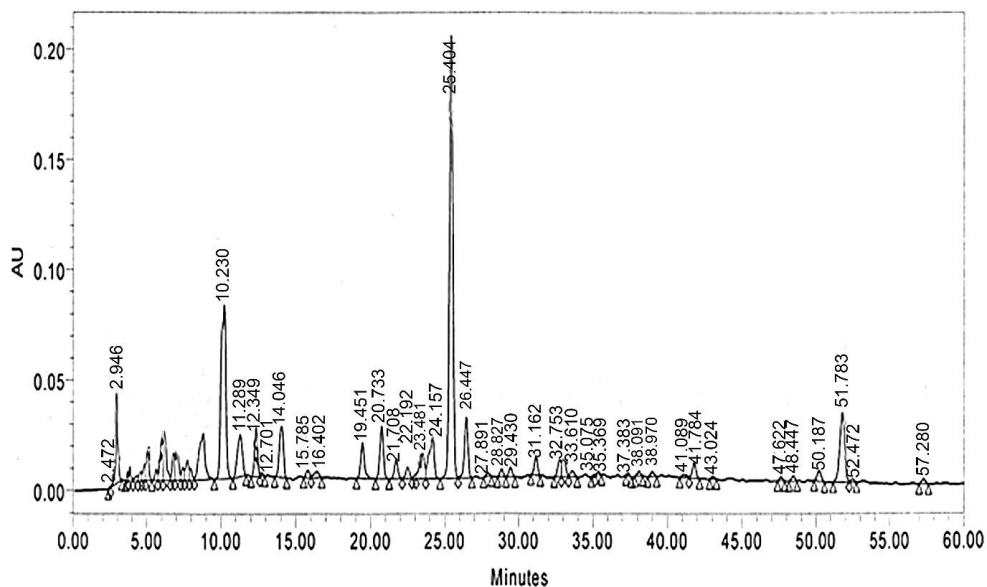


Рис. 3. Хроматограмма испытуемого образца экстракта *Radus Grayanae Maxim*

Результаты исследований также показали, что раствор изучаемого препарата содержит многочисленные пики, характерные для растительных экстрактов.

Методика идентификации и установленные количественные параметры содержания хлорогеновой и кофейновой кислот в экстракте *Padus Grayanae Maxim* могут быть использованы при разработке АНД для изучаемого фитопрепарата.

Далее нами были изучены антиоксидантные свойства биологически активных веществ, содержащихся в сухом экстракте *Padus Grayanae Maxim*. в условиях *in vitro* с использованием метода DPPH.

Полученные данные позволили установить, что средняя антиоксидантная активность растительного экстракта *Padus Grayne Maxim* равна $IC_{50}^{DPPH} = 51,2$ мкг/мл.

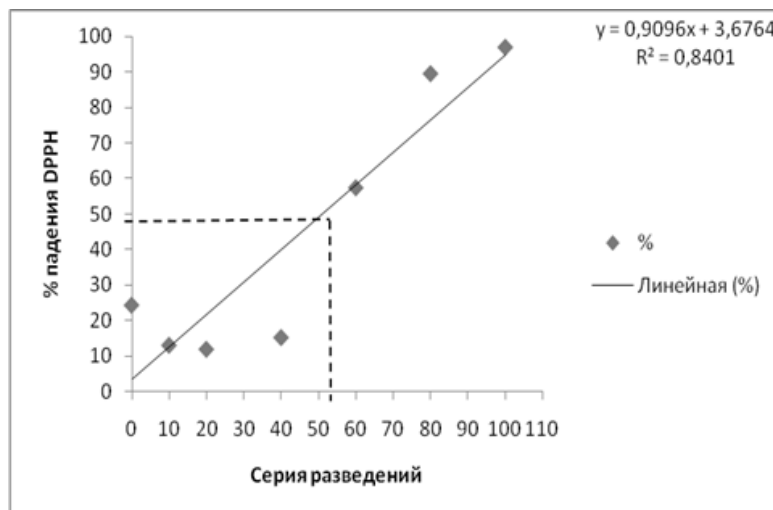


Рис. 4. Среднее значение IC_{50}^{DPPH} в экстракте *Padus Grayanae Maxim*

Выводы

1. В исследуемых образцах сухого экстракте *Padus Grayanae Maxim* содержание хлорогеновой кислоты составило 10,7 мг/1г; кофейновой кислоты – 0,95 мг/1г.

2. Результаты экспериментов в условиях *in vitro* с использованием метода DPPH показали, что сухой экстракт *Padus Grayanae Maxim* можно отнести к препаратам, обладающим умеренно выраженными антиоксидантными свойствами.

Список литературы

1. Вайс Р.Ф., Финтельманн Ф. Фитотерапия. Руководство. М.: Медицина, 2004. 534 с.
2. Путьрский И.Н., Прохоров В.Н. Универсальная энциклопедия лекарственных растений. Минск: Книжный дом; М.: Махаон, 2000.
3. Лопатина К.А., Корепанов С.В. Возможность использования фитосборов в комплексной терапии онкологических заболеваний // Сибирский онкологический журнал, 2008. Прил. 1. С. 80-82.
4. Средство, обладающее иммуномодулирующим действием // Патент РФ на изобретение № 2038089 от 27.06.1995 г.
5. Исмаилов И.З., Зурдинов А.З. О новом оригинальном фитопрепарате с иммуномодулирующей активностью // Сборник тезисов 2-го съезда Российского Научного общества фармакологов «Фундаментальные проблемы фармакологии». Москва, 2003. часть 1. С. 216.
6. Исмаилов И.З. Разработка технологии получения сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* // Наука, техника и образование (Москва), 2016. № 10 (28). С.100-102.
7. Blois M.S. Antioxidant determination by the use of a stable free radical // Nature, 1958. V. 26. P. 1198–1200.
8. Roginsky V. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food // Food Chem. 2005. Vol. 92. № 2. P. 235–254.
9. Hager T.J. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blackberry products // J. Agric. and Food Chem. 2008. Vol. 56. № 3. P. 689–695.