

Сайбель О.Л.¹, Даргаева Т.Д.¹, Пупыкина К.А.², Петрова И.В.², Фархутдинов Р.Р.²ОЦЕНКА АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ТРАВЫ ЦИКОРИЯ ОБЫКНОВЕННОГО
(*CICHORIUM INTYBUS* L.)¹ ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», Москва, Россия² ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа, Россия

Проведено исследование антиоксидантной активности травы цикория обыкновенного методом регистрации хемилюминесценции. В результате проведённого исследования выявлена способность водных и спиртовых извлечений из травы цикория подавлять генерацию активных форм кислорода и перекисного окисления липидов в модельных системах, что характеризует их антиоксидантные свойства, которые наиболее выражены при введении водных извлечений травы цикория в концентрации 0,1 мг/мл.

Ключевые слова: *Cichorium intybus* L., антиоксидантные свойства, хемилюминесценция

ASSESSMENT OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF WITLOOF CHICORY HERB
(*CICHORIUM INTYBUS* L.)Saybel O.L.¹, Dargaeva T.D.¹, Pupykina K.A.², Petrova I.V.², Farkhutdinov R.R.²¹ All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia² Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

Problems of regulation of oxidative stress and the search for biologically active substances with antioxidant activity are the focus of researchers. Chicory (*Cichorium intybus* L.) is a plant containing various biologically active substances (hydroxycinnamic acid, flavonoids, coumarins, ascorbic acid, carotenoids, etc.), exhibiting antioxidant properties. The aim of our study was to evaluate the effect of aqueous and alcoholic extracts of chicory herbs on the processes of free radical oxidation in model systems in vitro using rapid method of determining antioxidant activity, based on the registration of chemiluminescence. A model system generating active oxygen species (ROS) was phosphate buffer with the addition of luminol solution and sodium citrate to initiate reactions involving the formation of ROS injected Fe^{2+} salt solution. Impact of extracts on lipid peroxidation was studied in chicken yolks homogenized in phosphate buffer. For initiation of oxidation reactions Fe^{2+} solution was used. Lipid peroxidation (LPO) processes were judged by the light intensity. The effect of aqueous and alcoholic extracts of common chicory herbs in various concentrations on the processes of free radical oxidation in the active forms of oxygen in the system (ROS) and LPO was researched. The study revealed the ability of the extracts of the chicory herb suppress the generation of ROS and LPO in model systems that characterizes their antioxidant properties, which are most pronounced when administered aqueous extracts of chicory herbs compared with alcohol in model systems at a concentration of 0.1 mg/ml.

Key words: *Cichorium intybus* L., antioxidant properties, chemoluminescence

Проблемы регуляции оксидативного стресса и поиск биологически активных веществ, обладающих антиоксидантной активностью, находятся в центре внимания исследователей. В норме скорость свободнорадикальных реакций относительно мала, что обусловлено сбалансированной работой системы антиоксидантной защиты организма. При её ослаблении возрастает продукция радикалов-инициаторов, возникает «синдром липидной пероксидации», способствующий повреждению мембран клеток, развитию различных заболеваний [3]. Перспективным в этом отношении является многолетнее травянистое растение цикорий обыкновенный (*Cichorium intybus* L.) семейства Астровых (*Asteraceae*), который содержит различные биологически активные вещества (оксикоричные кислоты, флавоноиды, кумарины, аскорбиновую кислоту, каротиноиды и др.), проявляющие антиоксидантные свойства [1, 4].

Целью исследования являлось изучение влияния водных и спиртовых извлечений из травы цикория на процессы свободнорадикального окисления (СРО) в модельных системах (МС) *in vitro* с использованием экспресс-метода определения антиоксидантной активности, основанного на регистрации хемилюминесценции (ХЛ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили образцы травы цикория, заготовленные в фазу цветения в 2014–2015 гг. Антиоксидантную активность извлечений определяли методом регистрации хемилюминесценции на приборе «Хемилюминомер ХЛМ-003» в системах, моделирующих процессы выработки активных форм кислорода (АФК) и перекисного окисления липидов (ПОЛ) [2].

В качестве МС, где генерировались АФК, использовали 10 мл фосфатного буфера (20 мМ KH_2PO_4 , 105 мМ KCl) с добавлением раствора люминола (10^{-5} М) и цитрата натрия (50 мМ). Величину pH полученного раствора доводили до 7,45 ед. титрованием насыщенным раствором едкого калия. Для инициирования реакций, сопровождающихся образованием АФК, вводили 1 мл 50 мМ раствора солей Fe^{2+} . Регистрация свечения продолжалась в течение 5 мин при постоянном перемешивании. ХЛ МС характеризовалась спонтанным свечением, быстрой вспышкой и развивающейся затем медленной вспышкой. Основными наиболее информативными характеристиками ХЛ служили светосумма свечения, определяющаяся по интенсивности излучения, и амплитуда максимального свечения [3].

Влияние исследуемых извлечений на ПОЛ изучали в липидах куриного желтка, сходных по составу с липидами крови. Липиды получали путём гомогенизирования куриного желтка в фосфатном буфере в соотношении 1:5 и последующим разбавлением в 20 раз, отбирали 10 мл. Добавление в систему 1 мл 50 мМ раствора Fe^{2+} вело к иницированию окисления ненасыщенных жирных кислот, что сопровождалось ХЛ. По интенсивности свечения судили о процессах ПОЛ. Окисление липидов инициировалось введением сернокислого железа, катализирующего окисление ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав липидов, и образование продуктов перекисного окисления. Уровень спонтанного свечения характеризует интенсивность перекисного окисления липидов до

введения катализатора; амплитуда быстрой вспышки отражает скорость окисления ионов Fe^{2+} и образования АФК и гидроперекисей липидов; длительность латентного периода коррелирует с антиоксидантной активностью изучаемого образца. Величина светосуммы свечения определяет способность липидов подвергаться окислению.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования свидетельствуют о существенном ингибирующем влиянии исследуемых образцов травы цикория на кинетику свободнорадикального окисления в системе АФК и ПОЛ.

При добавлении в модельную систему, где генерировались АФК, водных и спиртовых извлечений

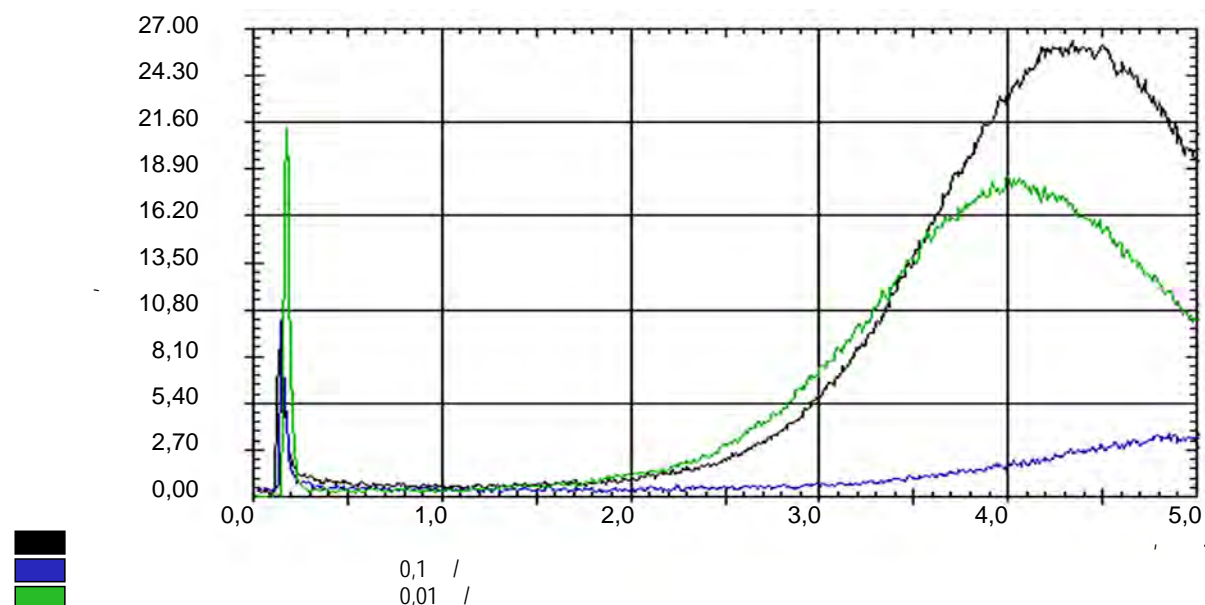


Рис. 1. Влияние водных извлечений травы цикория на процессы свободнорадикального окисления в модельной системе активных форм кислорода.

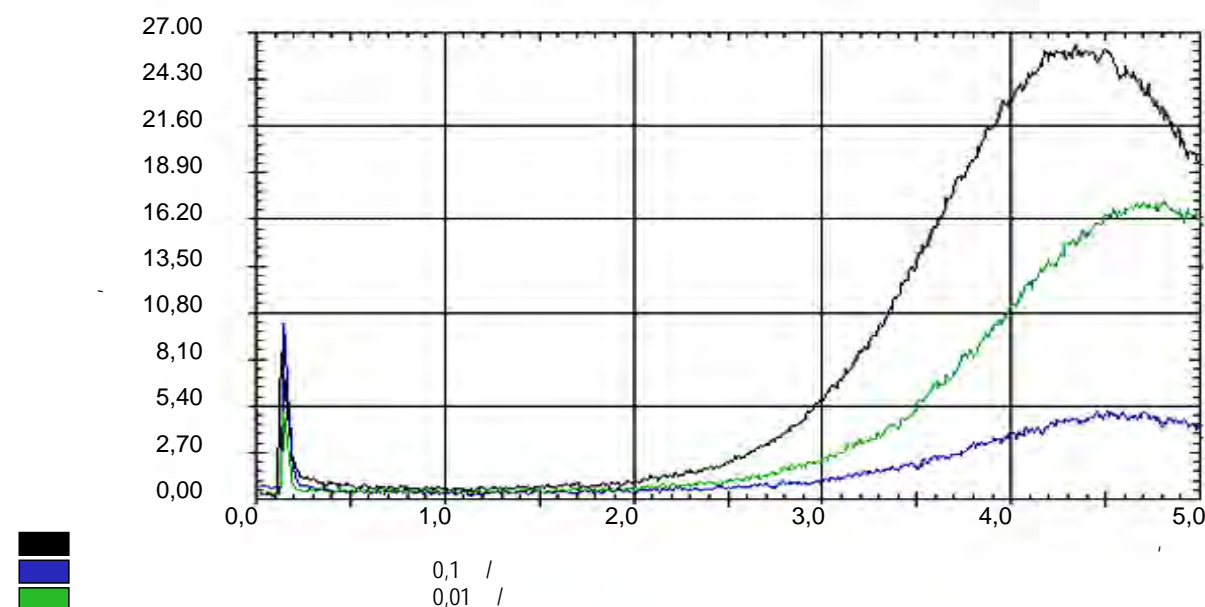


Рис. 2. Влияние спиртовых извлечений травы цикория обыкновенного на процессы свободнорадикального окисления в модельной системе активных форм кислорода.

травы цикория уменьшалась амплитуда быстрой вспышки, удлинялся латентный период, медленная вспышка начиналась позже и угасала раньше, значение максимальной светимости снижалось (рис. 1, 2). Вследствие этого самая показательная характеристика хемилюминесценции – светосумма свечения – была меньшей, по сравнению с контролем (табл. 1).

В таблице 1 приведены данные о влиянии травы цикория обыкновенного на ХЛ модельных систем АФК.

Угнетение ХЛ зависело от концентрации извлечений, добавляемых в модельную систему (0,01 мг/мл; 0,1 мг/мл), при этом, чем она была больше (0,1 мг/мл), тем сильнее подавлялось свечение, что свидетельствовало о дозозависимом эффекте исследуемых экстрактов, и для водного извлечения наблюдалась более выраженная антиоксидантная активность.

При внесении водных и спиртовых извлечений травы цикория в МС желточных липопропротеидов в минимальной дозе 0,01 мг/мл не наблюдалось явного уменьшения амплитуды вспышек и снижения значений максимальной светимости, по сравнению с контролем, а в концентрации 0,1 мг/мл уровень свечения МС подавлялся, отмечалось более выраженное уменьшение амплитуды быстрой и медленной вспышек, увеличение длительности латентного периода, снижение значений максимальной светимости (рис. 3). Следовательно, водные и спиртовые экстракты травы цикория могут рассматриваться как антиоксиданты перекисного окисления липидов, но более активным антиоксидантным действием обладают водные извлечения травы цикория.

В таблице 2 приведены данные о влиянии травы цикория обыкновенного на ХЛ модельных систем ПОЛ.

Таблица 1
Влияние извлечений из травы цикория обыкновенного на светосумму модельной системы, генерирующей активные формы кислорода

Опыт	Светосумма, %		Максимальная светимость, %	
	спиртовое извлечение	водное извлечение	спиртовое извлечение	водное извлечение
Контроль	100	100	100	100
Концентрация 0,01 мг/мл	55,1	78,3	65,8	70,3
Концентрация 0,1 мг/мл	20,3	13,3	19,4	13,7

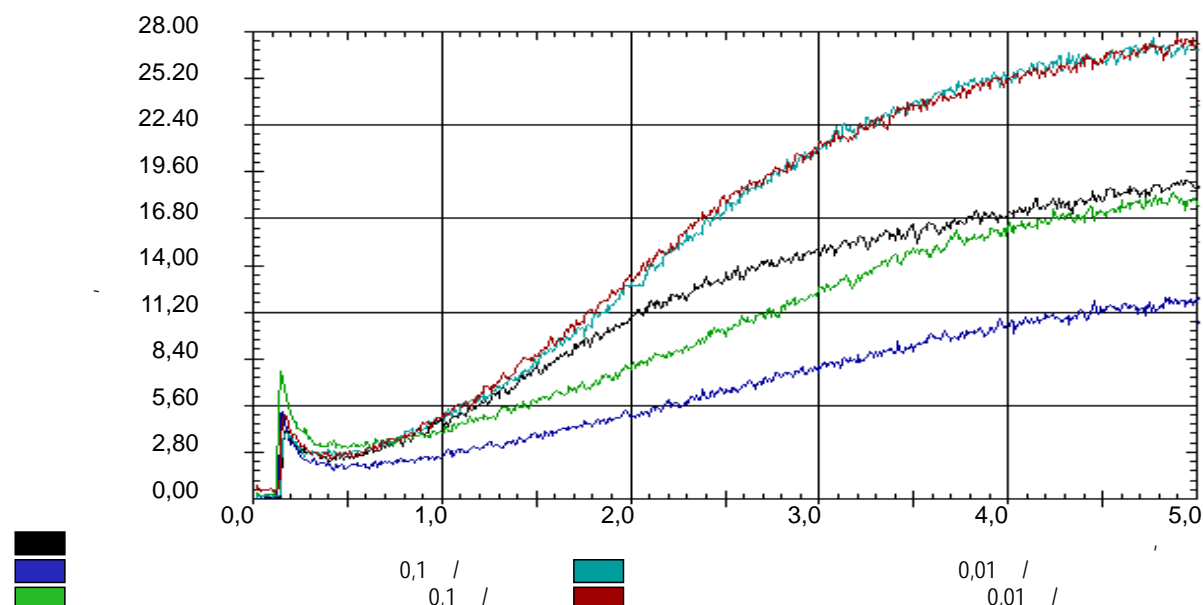


Рис. 3. Влияние водных и спиртовых извлечений травы цикория обыкновенного на процессы СРО в модельной системе ПОЛ.

Таблица 2
Влияние извлечений травы цикория обыкновенного на светосумму модельной системы, генерирующей перекисное окисление липидов

Опыт	Светосумма, %		Максимальная светимость, %	
	спиртовое извлечение	водное извлечение	спиртовое извлечение	водное извлечение
Контроль	100	100	100	100
Концентрация 0,01 мг/мл	137,2	136,2	144,8	144,9
Концентрация 0,1 мг/мл	88,7	56,9	95,9	63,3

ВЫВОДЫ

1. Изучено влияние водных и спиртовых извлечений из травы цикория обыкновенного в различных концентрациях на процессы свободнорадикального окисления в системе активных форм кислорода и перекисного окисления липидов.

2. Выявлена способность исследуемых образцов травы цикория подавлять генерацию активных форм кислорода и перекисного окисления липидов в модельных системах, что характеризует их антиоксидантные свойства, которые наиболее выражены при введении водных извлечений травы цикория, по сравнению со спиртовыми, в модельные системы активных форм кислорода, перекисного окисления липидов и в концентрации 0,1 мг/мл.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Зузук Б.М., Куцик Р.В. Цикорий дикий (цикорий обыкновенный) *Cichorium intybus* L. (Аналитический обзор) [Электронный ресурс] // Провизор. – 2002. – № 22. – Режим доступа: http://www.provisor.com.ua/archive/2002/N22/art_27.php.

Zuzuk BM, Kutsik RV. (2002). Witloof chicory (common chicory) *Cichorium intybus* L. (Analytical review). [Tsikoriy dikiy (tsikoriy obyknovenny) *Cichorium intybus* L. (Analiticheskiy obzor)]. *Provizor*, (22). Available at: http://www.provisor.com.ua/archive/2002/N22/art_27.php.

2. Муллагулов Р.Т., Козлов В.Н., Пономарева Л.Ф. Изучение антиоксидантной активности лекарственных трав методом хемилюминесценции в опытах *in vitro* // Вестник Волжского университета им. В.Н. Татищева. – 2012. – № 1. – С. 231–234.

Mullagulov RT, Kozlov VN, Ponomareva LF. (2012). Study of antioxidant activity of medicinal herbs using chemiluminescence in *in vitro* experiments [Izuchenie antioksidantnoy aktivnosti lekarstvennykh trav metodom khemilyuminesentsii v opytakh *in vitro*]. *Vestnik Volzhskogo universiteta im. V.N. Tatishcheva*, (1), 231–234.

3. Фархутдинов Р.Р. Тевдорадзе С.И. Методики исследования хемилюминесценции биологического материала на хемилюминометре ХЛ-003 // Методы оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ лечебного и профилактического назначения: Сб. докл. науч.-практ. семинара. – М.: Изд-во РУДН, 2005. – С. 147–154.

Farkhutdinov RR, Tevdoradze SI. (2005). Methods of studying chemiluminescence of biological material using chemiluminometer CL-003 [Metodiki issledovaniya khemilyuminesentsii biologicheskogo materiala na khemilyuminometre KhL-003]. *Metody otsenki antioksidantnoy aktivnosti biologicheskii aktivnykh veshchestv lechebnogo i profilakticheskogo naznacheniya* ^ *Sbornik dokladov nauchno-prakticheskogo seminara*. Moskva, 147–154.

4. Street RA, Sidana J, Prinsloo G. (2013). *Cichorium intybus*: traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology evidence-based. *J. Complement. Altern. Med.*, (15). doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/579319>.

Информация об авторах Information about the authors

Сайбель Ольга Леонидовна – кандидат фармацевтических наук, руководитель Центра химии и фармацевтической технологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (117216, г. Москва, ул. Грина, 7; тел. (495) 388-45-66; e-mail: olster@mail.ru)

Saybel Olga Leonidovna – Candidate of Pharmaceutical Sciences, Head of the Center for Chemistry and Pharmaceutical Technologies of All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (117216, Moscow, ul. Grina, 7; tel. (495) 388-45-66; e-mail: olster@mail.ru)

Даргаева Тамара Дарижаповна – доктор фармацевтических наук, профессор, главный научный сотрудник отдела стандартизации и сертификации ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (e-mail: dvnslava@rambler.ru)

Dargaeva Tamara Darizhapovna – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Chief Research Officer at the Department of Standardization and Certification of All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (e-mail: dvnslava@rambler.ru)

Пупыкина Кира Александровна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3; тел./факс (347) 271-22-85; e-mail: pupykinaka@gmail.com)

Pupykina Kira Alexandrovna – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor at the Department of Pharmacognosy with the Course of Botany and Basic Phytotherapy of Bashkir State Medical University (450000, Ufa, ul. Lenina, 3; tel./fax (347) 271-22-85; e-mail: pupykinaka@gmail.com)

Петрова Ирина Владимировна – младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: petrovaiv@gmail.com)

Petrova Irina Vladimirovna – Junior Research Officer of the Central Research Laboratory of Bashkir State Medical University (e-mail: petrovaiv@gmail.com)

Фархутдинов Рафагат Равильевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий Центральной научно-исследовательской лабораторией ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: farkhutdinov@mail.ru)

Farkhutdinov Rafagat Ravilyevich – Doctor of Medical Sciences, Head of the Central Research Laboratory of Bashkir State Medical University (e-mail: farkhutdinov@mail.ru)