

## КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ И ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА

УДК 615.32: 591.44

Э.В. Архипова, И.Г. Етобаева

### АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА СУХОГО ЭКСТРАКТА ЛАПЧАТКИ БЕЛОЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VITRO*

ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет», Улан-Удэ, Россия

Проведено исследование антиоксидантной активности экстракта лапчатки белой сухого. Антиоксидантную активность оценивали по отношению к супероксидным, NO-радикалам, по способности подавлять окисление ТБК-активных продуктов. Сухой экстракт лапчатки белой оказывает антиоксидантное действие. В эксперименте *in vitro* установлено, что с увеличением концентрации исследуемого экстракта происходит увеличение связывания радикалов, уменьшение содержания ТБК-активных продуктов.

**Ключевые слова:** экстракт, лапчатка белая, свободнорадикальное окисление, антиоксидантная активность

### ANTIOXIDANT PROPERTIES OF *POTENTILLA ALBA* L. DRY EXTRACT IN THE EXPERIMENT *IN VITRO*

E.V. Arkhipova, I.G. Yetobaeva

Buryat State University, Ulan-Ude, Russia

The study reviewed the antioxidant properties of the extract of *Potentilla alba* L. The effect of *Potentilla alba* L. on the rate of accumulation of lipid peroxidation, superoxide radicals binding, nitrogen oxide (NO) fixation and iron-binding capacity has been studied. It was found that the increase of *Potentilla alba* L. concentration leads to the increase of free radicals binding and the reduction of TBA active products. These effects are caused by flavonoids containing hydroxyl groups in the extracts which are traps for free radicals and metals ions because of not allowing them to start the cascade of free-radical reactions.

**Key words:** extract, *Potentilla alba* L., free-radical oxidation, antioxidant activity

#### ВВЕДЕНИЕ

Заболевания щитовидной железы являются актуальной проблемой здравоохранения в настоящее время. Из-за воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды, дефицита йода в воде, почве, продуктах питания, воздухе отмечается рост числа заболеваний щитовидной железы. Они сопровождаются повышенной, пониженной или эутиреоидной функциональной активностью с диффузным или узловым изменением органа. С функциональной точки зрения почти все заболевания щитовидной железы можно условно разделить на две группы: гипотиреоз и гипертиреоз [2].

На сегодняшний день очевидно, что генерация свободных радикалов является одним из универсальных патогенетических механизмов повреждения клетки. Важным звеном патогенеза гипотиреоза, как и многих других заболеваний, являются биохимические нарушения липидного обмена. Липиды являются основным компонентом клеточных и субклеточных структур и имеют относительно высокое содержание ненасыщенных жирных кислот, что делает их чувствительными к различным внешним воздействиям. Основной субстрат перекисного окисления липидов (ПОЛ) – ненасыщенные жирные

кислоты – является основным компонентом биологических мембран [9]. Таким образом, процессы ПОЛ широко распространены в организме. Особенно способствует активации ПОЛ наличие так называемых прооксидантов, таких, как активный кислород, супероксидный анион-радикал, перекись водорода, ионы  $Fe^{2+}$  в определенных дозах и др. Поскольку тиреоциты постоянно активно выделяют перекись водорода, необходимо присутствие эффективной системы защиты против действия перекиси водорода и свободных радикалов [1]. Особенность цепных реакций состоит в том, что свободные радикалы, реагируя с другими молекулами, не исчезают, а превращаются в другие свободные радикалы [6]. Установление роли окислительного стресса в развитии многих заболеваний свидетельствует о том, что эндогенная антиоксидантная система не обеспечивает в достаточной степени защиту клеток и тканей от повреждающего действия свободных радикалов. При патологических состояниях организма дисбаланс в антирадикальной системе может регулироваться природными и синтетическими антиоксидантами [4]. Поэтому оправдан поиск новых средств подавления прооксидантных процессов и активации реакции антиоксидации. Одним из таких растений является лапчатка белая

(*Potentilla alba* L.) семейства Розоцветных. Полезные свойства лапчатки белой обусловлены ее уникальным составом. Известно, что подземная часть растения содержит углеводы (крахмал), иридоиды, сапонины, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды (кверцетин), дубильные вещества (галлотанин) – до 17 % (максимум – в фазу цветения). Надземная часть (трава) содержит иридоиды, сапонины, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды (рутин), дубильные вещества – до 6 %. В листьях обнаружены фенолкарбоновые кислоты и их производные (п-кумаровая, эллаговая кислоты), флавоноиды (кверцетин, кемпферол, цианидин). Установлено, что трава лапчатки белой является концентратом микроэлементов (Mn, Zn, Cu, Se, Co, Fe, Si, Al). Также показано, что лапчатка белая содержит элементарный йод и анион йодистой кислоты [3, 5, 10].

**Целью настоящего исследования** явилось определение антиоксидантных свойств сухого экстракта лапчатки белой.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В эксперименте использовали водный раствор сухого экстракта лапчатки белой. Определение антиокислительной активности проводилось с использованием липосом, полученных из куриного желтка, путем суспендирования с фосфатным буфером (pH 7,4) в соотношении 1 : 5 [7]. Антиокислительную активность (АОА) растительного лекарственного средства обнаруживали по методу, основанному на способности биологической жидкости тормозить накопление продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) в суспензии желточных липопропротеидов, взятой в качестве модельной системы окисления [7]. В модельной системе, содержащей липиды, внесение солей железа инициировало процесс свободнорадикального окисления ненасыщенных жирных кислот. За показатель антиокислительного действия взята концентрация половинного ингибирования ( $IC_{50}$ ), вызывающая уменьшение содержания продуктов ПОЛ (малонового диальдегида) в модельной системе в 2 раза, и значения параметров их АОА. В качестве средства (контроль) сравнения использовали ионол. Результаты исследования пересчитаны в процентах от контроля.

Изучение влияния сухого экстракта лапчатки белой на связывание супероксидных радикалов ( $OO^-$ ) проведено с использованием метода по Chen et al. [12]. Определяли количество окисленного тетразолия нитросинего в системе «феназин метасульфат – НАДФН». Оптическую плотность определяли на спектрофотометре СЕСИ CE 2011 при длине волны 560 нм. В качестве раствора сравнения использовали фосфатный буфер.

Исследование антирадикальной активности по отношению к NO-радикалам определяли по методу Govindarajan et al. (2003), заключающемся в связывании NO-нитропруссиды натрия с последующим определением на спектрофотометре остаточного содержания NO-реактивом Грисса [13]. Оптическую плотность определяли на спектрофотометре СЕСИ CE 2011 при длине волны 546 нм.

Для определения железосвязывающей способности сухого экстракта лапчатки белой использован метод, основанный на способности о-фенантролина связывать ионы железа (II) [8]. В модельную систему трис-HCl буфер (pH 7,0) и  $FeSO_4 \times 7H_2O$  добавляли исследуемые экстракты в концентрациях от 0,04 до 10 мг/мл, далее добавляли 0,5 мл о-фенантролина. Затем оценивали изменившуюся концентрацию железа спектрофотометрически при длине волны 510 нм. Железосвязывающую способность выражали в процентах по отношению к контролю, содержащему вместо раствора экстракта трис-HCl буфер. Также показателем выраженности железосвязывающей способности являлась концентрация половинного связывания ( $IC_{50}$ ).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выраженность антиокислительного действия сухого экстракта лапчатки белой *in vitro* определяли по концентрации половинного ингибирования, вызывавшей уменьшение содержания продуктов перекисного окисления липидов в реакционной системе в 2,0 раза.

**Таблица 1**  
Влияние экстракта лапчатки белой на скорость накопления ТБК-активных продуктов перекисного окисления липидов

Условия опыта	Концентрация, мг/мл	Содержание ТБК-активных продуктов (% от контроля)
Контроль	–	100,0
Экстракт лапчатки белой	0,8	88,2
	0,4	80,3
	0,2	62,2
	0,1	43,7
	0,05	19,2
	0,025	0

Из таблицы 1 видно, что экстракт лапчатки белой оказывает выраженное действие на скорость накопления ТБК-активных продуктов в модельной системе. Выявлено, что концентрации ТБК-активных продуктов в системе монотонно уменьшаются с увеличением концентрации экстракта лапчатки белой. Индекс антиокислительной активности экстракта лапчатки белой, рассчитанный по ТБК-тесту, составил 0,872 мг/мл. Эти данные позволяют заключить, что по отношению к скорости накопления продуктов перекисного окисления липидов выражено ингибирующее действие экстракта лапчатки белой сухого.

При определении влияния экстракта лапчатки белой сухого на связывание супероксидных радикалов ( $OO^-$ ) выявлено, что с увеличением концентрации экстракта лапчатки белой сухого происходит увеличение процента связывания радикалов.

Как видно из таблицы 2,  $IC_{50}$  для экстракта лапчатки белой сухого составил 0,250 мг/мл.

В результате проведенного исследования видно, что в отношении NO-радикала экстракт лапчатки

Таблица 2

## Влияние экстракта лапчатки белой на связывание супероксидных радикалов

Условия опыта	Концентрация, мг/мл	Связывание супероксидных радикалов (% от контроля)	IC <sub>50</sub> , мг/мл
Контроль	–	–	–
Экстракт лапчатки белой	0,5	100	0,250
	0,1	55,5	
	0,025	45,2	
	0,005	21,9	
	0,01	0,65	

Таблица 3

## Влияние экстракта лапчатки белой на степень связывания NO

Условия опыта	Концентрации, мг/мл	Степень связывания NO (% от контроля)	IC <sub>50</sub> , мг/мл
Контроль	–	–	–
Экстракт лапчатки белой	4,0	100	0,155
	2,0	100	
	0,75	95,1	
	0,375	68,9	
	0,187	52,9	
	0,094	39,7	

белой сухой оказывает аналогичное действие: с увеличением концентрации исследуемого экстракта степень связывания NO радикала увеличивается. IC<sub>50</sub> для экстракта лапчатки белой составляет 0,155 мг/мл (табл. 3).

Также установлено, что при добавлении в реакционную среду экстракта лапчатки белой концентрация 50%-го связывания ионов двухвалентного железа составила 3 мг/мл. Железосвязывающую способность в отношении ионов двухвалентного железа экстракт лапчатки белой оказывает в довольно высокой концентрации.

## ВЫВОДЫ

Полученные результаты свидетельствуют о том, что сухой экстракт лапчатки белой является эффективным антиоксидантным средством, способным оказывать положительное влияние на этапы окислительных процессов. Данный эффект обусловлен химическим составом экстракта лапчатки белой, в котором присутствуют фенольные соединения, активно участвующие в процессе нейтрализации влияния свободных радикалов. Выявлено антирадикальное действие в отношении супероксидного (OO<sup>-</sup>) радикала и радикалов монооксида азота (NO), ионов двухвалентного железа, определена способность оказывать влияние на скорость накопления ТБК-активных продуктов в модельной системе. Таким образом, можно утверждать, что сухой экстракт лапчатки белой обладает выраженной антиоксидантной активностью, способной тормозить процесс окисления на различных его стадиях, разрушая цепочку, положившую начало ПОЛ, гася активные формы кислорода.

ЛИТЕРАТУРА  
REFERENCES

1. Абрамова Н.А., Фадеев В.В., Герасимов Г.А., Мельниченко Г.А. Зобогенные вещества и факторы (обзор литературы) // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. – 2006. – Т. 2, № 1. – С. 21–32.

Abramova NA, Fadeev VV, Gerasimov GA, Melnichenko GA (2006). Goitrogenic substances and factors (review of the literature) [Zobogennyye veshchestva i faktory (obzor literatury)]. *Klinicheskaya i eksperimentalnaya tireoidologiya*, 2 (1), 21–32.

2. Архипова Э.В. Влияние экстракта *Potentilla alba* L. и комплексного средства «Тиреотон» на течение экспериментального гипотиреоза: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.03.06. – Улан-Удэ, 2012. – 23 с.

Arkhipova EV (2012). Influence of *Potentilla alba* L. extract and complex remedy "Thyreoton" on the course of experimental hypothyroidism: abstract of dissertation of Candidate of Medical Sciences: 14.03.06 [Vliyanie jekstrakta *Potentilla alba* L. i kompleksnogo sredstva «Tireoton» na techenie jeksperimental'nogo gipotireoza], 23.

3. Башилов А.В. Использование *Potentilla alba* L. в качестве лекарственного растительного сырья в условиях республики Беларусь // Экологический вестник. – 2010. – № 3 (13). – С. 85–88.

Bashilov AV (2010). Using *Potentilla alba* L. as a crude herbal drug in the conditions of the Republic of Belarus [Ispol'zovanie *Potentilla alba* L. v kachestve lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ja v uslovijah respublik Belarus']. *Jekologicheskij vestnik*, 3 (13), 85–88.

4. Волобой Н.Л., Зверев Я.Ф., Брюханов В.М., Талаева О.С. и др. Антиоксидантный и прооксидантный эффекты арбутина и гидрохинона в эксперименте *in*

*vitro* // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – № 5. – С. 41–44.

Voloboy NL, Zverev YF, Bryukhanov VM, Talalayeva OS et al. (2011). Antioxidant and prooxidant effects of arbutin and hydroquinon in experiment *in vitro* [Antioksidantnyj i prooksidantnyj jeffekty arbutina i gidrohinona v jeksperimente in vitro]. *Bjulleten' sibirskoj mediciny*, 5, 41–44.

5. Гриценко О.М., Фитохимический состав лапчатки белой // Фармацевтический журнал. – 1977. – № 1. – С. 88–91.

Gritsenko OM (1977). Phytochemical composition of *Potentilla alba* L. [Bjulleten' sibirskoj mediciny]. *Farmaceuticheskij zhurnal*, 1, 88–91.

6. Захарова И.Н. Творогова Т.М., Скоробогатова Е.В. Применение антиоксидантных препаратов в педиатрической практике // Трудный пациент. – 2010. – № 3. – С. 33–36.

Zakharova IN, Tvorogova TM, Skorobogatova EV (2010). Using antioxidant agents in pediatric practice [Primenenie antioksidantnyh preparatov v pediatricheskoj praktike]. *Trudnyj pacient*, 3, 33–36.

7. Клебанов Г.И., Теселкин Ю.О., Владимиров Ю.А. Ингибирование антиокислительной активности плазмы крови азидом натрия // Биофизика. – 1988. – Т. 33, № 3. – С. 512–516.

Klebanov GI, Tesyolkina YO, Vladimirov YA (1988). Inhibition of blood plasma antioxidant activity by sodium azide [Ingibirovanie antiokislitel'noj aktivnosti plazmy krovi azidom natrija]. *Biofizika*, 33 (3), 512–516.

8. Лопухин Ю.Н., Владимиров Ю.А., Молоденков М.И. Регистрация составных частей хемилюминесценции сыворотки крови в присутствии ионов двухвалентного железа // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1983. – Т. 95. – С. 61–63.

Lopukhin YN, Vladimirov YA, Molodenkov MI (1983). Registration of components of blood serum chemiluminescence in the presence of ferrous ions [Registracija sostavnyh chastej hemiljuminescencii

syvorotki krovi v prisutstvii ionov dvuhvalentnogo zheleza]. *Bjul. jeksperim. biol. i med.*, 95, 61–63.

9. Родионова Т.И., Костенко М.А. Изменения перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности плазмы у больных с тяжелой формой диффузного токсического зоба // Проблемы эндокринологии. – 2003. – Т. 49, № 5. – С. 42–45.

Rodionova TI, Kostenko MA (2003). Changes of lipid peroxidation and antioxidant activity in blood plasma of patients with toxic diffuse goiter [Izmenenija perekisnogo okislenija lipidov i antioksidantnoj aktivnosti plazmy u bol'nyh s tjazhelej formoj diffuznogo toksicheskogo zoba]. *Problemy jendokrinologii*, 49 (5), 42–45.

10. Семенова Е.Ф., Химический состав лапчатки белой. Химия и компьютерное моделирование // Бутилеровские сообщения. – 2001. – № 5. – С. 32–34.

Semenova EF (2001). Chemical composition of *Potentilla alba* L. Chemistry and computerised modeling [Himicheskij sostav lapchatki beloju. Himija i komp'juternoe modelirovanie]. *Butlerovskie soobshhenija*, 5, 32–34.

11. Смык Г.К. Лапчатка белая – эффективное средство для лечения заболеваний щитовидной железы // Фармацевтический журнал. – 1975. – № 2. – С. 58–62.

Smyk GK (1975). *Potentilla alba* L. – the effective remedy for the treatment of thyroid gland diseases [Lapchatka belaja – jeffektivnoe sredstvo dlja lechenija zabolevanij shhitovidnoj zhelezy]. *Farmaceuticheskij zhurnal*, 2, 58–62.

12. Chen AS, Taguchi T, Sakai K, Kikuchi K et al. (2003). Antioxidant activities of chitinobiose and chitinotriose. *Biol. Pharm. Bull.*, 26, 1326–1330.

13. Govindarajan R, Rastogi S, Vijayakumar M (2003). Studies on the antioxidant activities of *Desmodium gageniticum*. *Biol. Pharm. Bull.*, 26, 1424–1427.

14. Matkowski A (2006). Free radical scavenging activity of extracts obtained from cultivated plants of *Potentilla alba* L. and *Waldsteinia geoides* L. *Herba polonica*, 52 (4), 44–46.

#### Сведения об авторах Information about the authors

**Архипова Эржена Владимировна** – кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры терапии медицинского института Бурятского государственного университета (670002, г. Улан-Удэ, ул. Октябрьская, 36а; e-mail: arhipova15@mail.ru)  
**Arkhipova Erzhena Vladimirovna** – Candidate of Medical Sciences, Senior Lecturer of Buryat State University (Oktyabrskaya str., 36a, Ulan-Ude, Russia, 670002; e-mail: arhipova15@mail.ru)

**Етобаева Инна Георгиевна** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры фармакологии и традиционной медицины медицинского института Бурятского государственного университета  
**Yetobaeva Inna Georgievna** – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of Buryat State University