

УДК 612.014.46+547.9/612:014

А.К. Кайынбаева, М.К. Мурзахметова, У.Е. Басыгараев, В.К. Турмухамбетова, А.Н. Аралбаева

Институт физиологии человека и животных КН МОН РК, Казахстан, г. Алматы

E-mail: aidaarsenkz\_@mail.ru

### **Антиоксидантные свойства вегетативных частей облепихи**

**Аннотация.** Статья посвящена исследованию в условиях *in vitro* антиоксидантных и мембранопротекторных свойств различных вегетативных частей облепихи, заготовленных в разные периоды. Как показали исследования, экстракты всех исследованных частей растения оказывают противоокислительный и мембраностабилизирующий эффекты, хотя степень выраженности действия различных экстрактов отличается друг от друга в связи с сезоном заготовки.

**Ключевые слова:** перекисное окисление липидов, осмотическая резистентность эритроцитов, экстракты, антиоксидантные и мембраностабилизирующие свойства.

Флора Казахстана широко представлена растениями, содержащими флавоноиды. В настоящее время продуктам содержащим полифенол уделяется большое внимание. В связи с этим особое значение приобретают исследования по выделению новых биологически активных полифенолов из местного растительного сырья и их использование для повышения устойчивости организма при влиянии факторов внешней среды [1, 2, 3]. Актуальным представляется проведение скрининга ряда природных биологически активных соединений, которые могут быть использованы для предотвращения повреждений организма при действии экстремальных факторов среды [4, 5]. В последние три-четыре десятка лет облепиха получила широкое распространение. Облепиха содержит целую «азбуку» витаминов. В состав облепихи входят витамины относящиеся, как к жирорастворимым, так и водорастворимым. В настоящей работе проведены исследования антиоксидантных и мембраностабилизирующих свойств водно-этанольных экстрактов листьев, стеблей и плодов облепихи, собранных в осенний период в Алматинской области. Проведение скрининга природного биологически активного соединения позволит его дальнейшее использование в качестве мер, предупреждающих или предотвращающих неблагоприятные

эффекты вредных для здоровья факторов окружающей среды.

### **Материалы и методы исследования**

Эксперименты были направлены на исследование влияния на состояние мембран клеток возрастающих концентраций водно-этанольных экстрактов листьев, стеблей облепихи, собранных в летний и осенний периоды, и плодов, собранных в осенний период, в п. Нарынкол Алматинской области. Опыты проведены на 20 взрослых (12-месячных) крысах-самцах массой 180-200 г.

Для приготовления экстрактов использовали 50% спирт, соотношение сухого вещества и экстрагента 1/10, экстракцию проводили в течение 20 часов. По окончании времени экстрагирования экстракт отфильтровывали для очистки от крупных частиц. Готовые фитоэкстракты хранили в холодильнике при температуре 4°C. Водно-этанольные экстракты облепихи в дальнейшем использовали для исследования мембраностабилизирующих свойств по влиянию на состояние мембран эритроцитов.

Об интенсивности **перекисного окисления липидов (ПОЛ)** в микросомах печени судили по содержанию ТБК-активных продуктов. Концен-

трацию малонового диальдегида (МДА) определяли по интенсивности развивающейся окраски в результате взаимодействия с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) по методу Н.О. Ohkawa e.a [6]. Для индукции процесса ПОЛ в мембранах применяли систему  $Fe^{2+}$  (0,02мМ)+аскорбат (0,5мМ). Окисление проводили в среде гомогенизации в термостатируемых ячейках при 37°C с постоянным перемешиванием, пробы отбирали через 60 мин. За накоплением малонового диальдегида (МДА), продукта ПОЛ, следили по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой, оптическую плотность измеряли при 532 нм. Для исключения влияния спирта при определении МДА определенные аликвоты спирта вводили в контрольные образцы. Расчет содержания продуктов, реагирующих с ТБК, проводили с учетом коэффициента молярной экстинкции МДА, равного  $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ . **Выделение эритроцитов.** Эритроциты получали, центрифугируя кровь 10 мин при 1000g. Плазму и клетки белой крови удаляли, а эритроциты дважды промывали средой, содержащей 150 мМ NaCl, 5 мМ  $Na_2HPO_4$  (pH-7,4). **Осмотическую резистентность эритроцитов (ОРЭ)** определяли, инкубируя в течение 20 мин при 37°C, в гипотоническом растворе хлористого натрия (0,4 г/100мл). Оптическую плотность измеряли при длине волны 540 нм. Уровень гемолиза клеток рассчитывали в процентах по отношению к 100% гемолизу, вызванному раствором  $Na_2CO_3$  в концентрации 0,1 г/100мл.

Статистическая обработка данных. Результаты были статистически обработаны с использованием программы Microsoft Excel и GraphPad Prism 5,01, с учетом критерия Фишера-Стьюдента.

### Результаты исследований и их обсуждение

Эксперименты по влиянию возрастающих концентраций экстрактов листьев и стеблей облепихи собранных в начале июня на процессы перекисного окисления в гепатоцитах крыс в условиях *in vitro* системой  $Fe^{2+}$ -аскорбат показали, что экстракты различных частей облепихи дозозависимо снижают накопление малонового диальдегида (МДА) – продукта ПОЛ (рисунок 1 А). Тем не менее, необходимо отметить, что антиоксидантный эффект экстрактов стеблей облепихи более выражен по сравнению с экс-

трактом листьев. Значительное противоокислительное действие экстрактов листьев облепихи проявляется при концентрациях свыше 30 мкг, подавляя процессы перекисного окисления на 40-85%, тогда как экстракты стеблей ингибировали накопление продуктов ПОЛ на 65% при концентрации 20 мкг.

В ходе работы выявлено, что антиоксидантное действие экстрактов стеблей и листьев, собранных в июле проявляются в зависимости от концентрации. Экстракты листьев облепихи снижали интенсивность накопления МДА на 82% в концентрации 10 мкг, дальнейшее повышение концентрации привело к практически полному ингибированию процессов перекисного окисления, тогда как экстракт стеблей облепихи показал аналогичный эффект в концентрациях свыше 40 мкг (рисунок 1 Б).

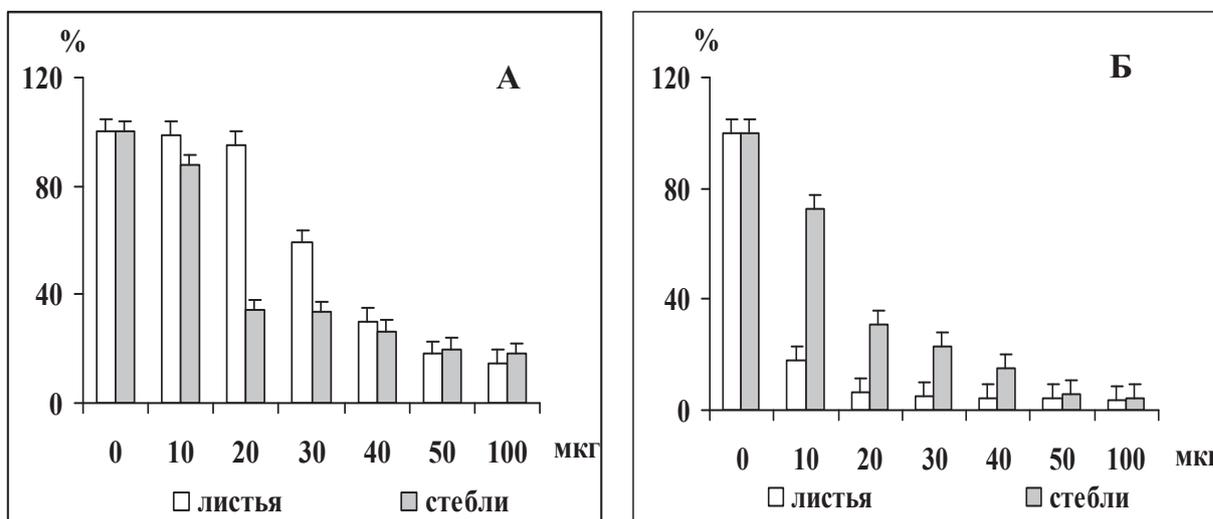
На рисунке 3 представлены результаты исследования влияния экстрактов различных частей облепихи (листьев, стеблей, плодов) заготовленных в осенний период.

Как видно из рисунка, экстракты листьев и стеблей, собранных в осенний период не проявляют существенных антиоксидантных свойств. Экстракты листьев и стеблей существенно снижают интенсивность процессов ПОЛ (до 65% и 84%) при действии концентрации 100 мкг, тогда как в диапазоне концентраций от 10 – 100 мкг их противоокислительный эффект проявлялся незначительно. По сравнению с экстрактами листьев и стеблей облепихи, собранных в октябре, антиоксидантное действие экстрактов плодов растения более выражено. Следует отметить дозозависимое влияние плодов облепихи на процессы накопления продуктов ПОЛ.

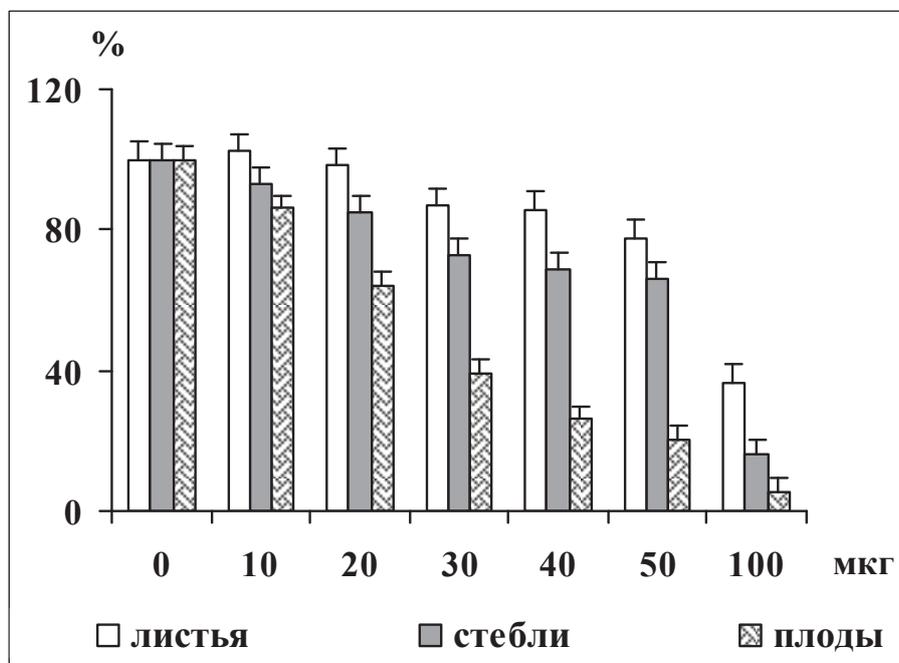
В результате исследований действия экстрактов различных вегетативных частей облепихи, собранных в разные периоды на состояние мембран эритроцитов выявлено, что мембраностабилизирующие свойства экстрактов проявляются дозозависимо. Следует отметить, что экстракты листьев, собранных в летний период, оказывают наибольший антигемолитический эффект по сравнению с экстрактами стеблей. В частности, экстракт листьев, собранных в июне снижает осмотический гемолиз эритроцитов до 47% в диапазоне концентраций 10-200 мкг, тогда как при влиянии различных концентраций экстракта стеблей степень гемолиза снизилась до 35% (рисунок 1-А). Исследование мембрано-

стабилизирующих свойств экстрактов листьев и стеблей, собранных в июле, показало аналогичную тенденцию. Таким образом при действии экстрактов листьев и стеблей уровень гемоллиза

снижился на 10% и 6% – при 10 мкг, на 20% и 19% – при 20 мкг, на 30% и 24,5% – при 50 мкг, на 43% и 31% – при 100 мкг, на 76,5% и 52% – при 200 мкг соответственно (рисунок 1-Б).



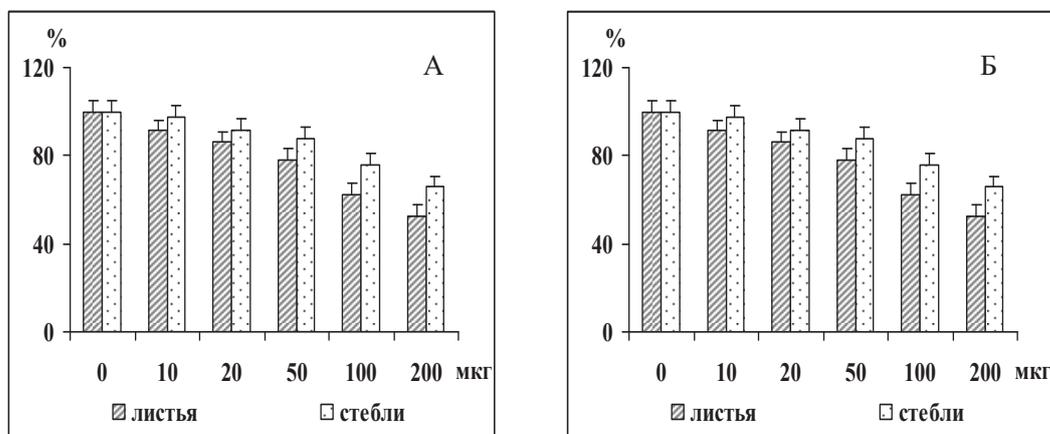
По оси абсцисс: концентрация фитоксактракта, мкг/мг белка, по оси ординат: интенсивность процессов ПОЛ, %  
**Рис. 1** – Влияние экстрактов листьев и стеблей облепихи собранных в июне (А) и июле (Б) на процессы ПОЛ в микросомах печени



По оси абсцисс: концентрация фитоксактракта, мкг/мг белка, по оси ординат: интенсивность процессов ПОЛ, %  
**Рис. 2** – Влияние экстрактов различных частей облепихи собранных в октябре на мембраны гепатоцитов

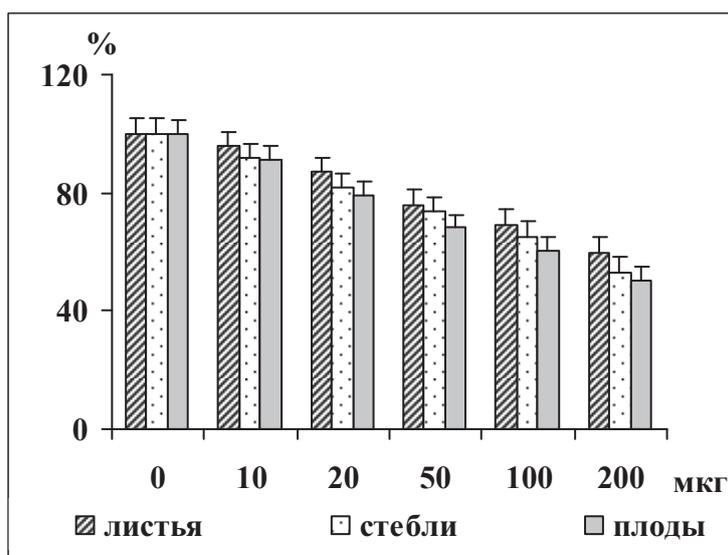
В результате исследований действия экстрактов различных вегетативных частей облепихи, собранных в разные периоды на состояние мембран эритроцитов выявлено, что мембраностабилизирующие свойства экстрактов проявляются дозозависимо. Следует отметить, что экстракты листьев, собранных в летний период, оказывают наибольший антигемолитический эффект по сравнению с экстрактами стеблей. В частности, экстракт листьев, собранных в июне снижает осмотический гемолиз эритроцитов до 47% в диапазоне концентраций

10-200 мкг, тогда как при влиянии различных концентраций экстракта стеблей степень гемолиза снизилась до 35% (рисунок 1-А). Исследование мембраностабилизирующих свойств экстрактов листьев и стеблей, собранных в июле, показало аналогичную тенденцию. Таким образом при действии экстрактов листьев и стеблей уровень гемолиза снизился на 10% и 6% – при 10 мкг, на 20% и 19% – при 20 мкг, на 30% и 24,5% – при 50 мкг, на 43% и 31% – при 100 мкг, на 76,5% и 52% – при 200 мкг соответственно (рисунок 1-Б).



По оси абсцисс: концентрация фитоконцентра, мкг/мг белка, по оси ординат: степень гемолиза, %

**Рис. 3** – Влияние экстрактов листьев и стеблей облепихи, собранных в июне (А) и июле (Б), на осмотическую резистентность эритроцитов



По оси абсцисс: концентрация фитоконцентра, мкг/мг белка, по оси ординат: степень гемолиза, %

**Рис. 2** – Влияние экстрактов различных частей облепихи, собранных в октябре, на состояние эритроцитарных мембран

На рисунке 2 представлены результаты исследований влияния экстрактов различных вегетативных частей облепихи, собранных в осенний период, на состояние мембран эритроцитов. Из рисунка видно, что антигемолитический эффект всех экстрактов проявляется в зависимости от концентрации. Тем не менее, основываясь на полученные данные, мембранопротекторные свойства экстрактов различных вегетативных частей облепихи, собранных в осенний период можно расположить следующим образом: плоды > стебли > листья.

Анализируя результаты исследований можно заключить, что экстракты всех вегетативных частей облепихи обладают антиоксидантными и мембраностабилизирующими свойствами. Следует обратить внимание на ярко выраженные противоокислительные и мембранопротекторные свойства экстрактов листьев и стеблей облепихи, собранных в июле, по сравнению с экстрактами листьев, стеблей и плодов, заготовленных в июне и октябре. Таким образом, исходя из полученного результата, можно рекомендовать применение листьев и стеблей, заготовленных в летнее время, и плодов в качестве антиоксидантного и мембраностабилизирующего средства.

## Литература

1. Bajpai M, Pande A, Tewari SK, Prakash D. Phenolic contents and antioxidant activity of some food and medicinal plants // *Int J Food Sci Nutr*. 2005. – 56(4):287-91.
2. Prakash D, Suri S, Upadhyay G, Singh BN. Total phenol, antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants // *Int J Food Sci Nutr*. 2007. – 58(1):18-28.
3. Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémisy C. and Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability // *Am.J.Clin.Nutrition*. – 2004. – Vol. 79.- № 5. – P.727-747.
4. Ratnam D.V., Ankola D.D., Bhardwaj V., Sahana D.K., Kumar M.N. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective // *J. Control Release*. – 2006. – Vol. 113, № 3. – P. 189-207.
5. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease // *Int J Biochem Cell Biol*. – 2007. – Vol.39, № 1. – P. 44-84.
6. Ohkawa H.O. Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // *Anal.Biochem*. – 1979. – Vol. 95. – N 2. – P. 351-358.

А.К. Қайыңбаева, М.К. Мырзахметова, У.Е. Басығараев, В.К. Тұрмұхамбетова, А.Н. Аралбаева  
**Шырғанақтың әртүрлі вегетативті бөліктерінің антиоксидантты қасиеттері**

Мақалада шырғанақтың түрлі мезгілдерде даярланған әртүрлі вегетативті бөліктерінің антиоксидантты қасиеттерін *in vitro* жағдайында зерттеу нәтижелері баяндалған. Зерттеулеріміз нәтижесінде өсімдіктің барлық бөліктерінен алынған экстрактілер антиотықтырғыштық және мембранатұрақтандырушы әсер көрсетті. Дегенмен өсімдіктің әртүрлі бөліктерінен алынған экстрактілердің оң эффектісінің көріну дәрежесі дайындалу мерзіміне байланысты өзгеріп отырды.

А.К.Кайынбаева, М.К. Murzahmetova, U. E. Basygaraev, V.K. Turmuhambetova, A.N. Aralbaeva  
**Antioxidative properties of vegetative parts of *hyppophae rhamnoides***

There are showed the results of *in vitro* studies of antioxidative and membranoprotective properties of various vegetative parts of *Hyppophae rhamnoides*, prepared in different seasons in article. Studies' results showed that extracts of all investigated parts of a plant render antioxidative and membranestabilizing effects, though the degree of expressiveness of action of various extracts differs from each other in connection with a season of preparation.