

AGRIMONIA PILOSA — ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИСТОЧНИК БИОАНТИОКСИДАНТОВ

[М. А. Ханина¹](#), [М. Г. Ханина²](#), [А. П. Родин¹](#), [Ю. В. Лигостаева³](#)

¹ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет»
(г. Орехово-Зуево)

²ООО «МСД Фармасьютикалс» (г. Москва)

³ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава
России (г. Новосибирск)

Антиоксидантную активность суммарных извлечений, полученных из надземной части репейничка волосистого (экстрагент — вода очищенная, спирт этиловый 40 и 90 %), определяли по их способности ингибировать аутоокисление адреналина *in vitro* с использованием спектрофотометрического метода (СФ-56, при длине волны λ — 347 нм). Установлено, что наибольшей антиоксидантной активностью обладают извлечения, полученные с использованием 40 % спирта этилового из травы растения и морфологических частей (соцветий и листьев).

Ключевые слова: антиоксидантная активность, репейничек волосистый, биологически активные вещества — антиоксиданты прямого и непрямого действия.

Ханина Миниса Абдуллаевна — доктор фармацевтических наук, профессор, исполняющий обязанности заведующего кафедрой химии ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет», рабочий телефон: 8 (496) 425-78-75, e-mail: Khanina06@mail.ru

Ханина Марина Георгиевна — кандидат фармацевтических наук, менеджер по препарату ООО «МСД Фармасьютикалс» (Asthma Brand & Customer Manager MSD Pharmaceuticals), рабочий телефон: 8 (495) 916-71-00, e-mail: marina.khanina@merck.com

Родин Анатолий Петрович — кандидат медицинских наук, доцент кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет», рабочий телефон: 8 (496) 425-78-75, e-mail: RodinAP@Yandex.ru

Лигостаева Юлия Валерьевна — преподаватель кафедры фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 225-07-13, e-mail: benna89@mail.ru

Введение. В последнее десятилетие свободные радикалы и их роль в развитии заболеваний стали предметом многих исследований. Доказано, что они участвуют в развитии широкого спектра заболеваний. Проблема химической регуляции окислительного стресса и поиск биологически активных соединений (БАС), обладающих антиоксидантной активностью (АОА), находятся в центре внимания многих исследователей [1-3].

Известно, что любая клетка наделена системой защиты от активных форм кислорода (АФК) и продуктов перекисного окисления, которые способны нанести ей непоправимый вред. Значительная часть этой защитной системы локализована в митохондриях и пероксисомах. Установлено, что активация процессов перекисного окисления не только нарушает строение мембраны клетки, но и вызывает ее повреждение, неминуемо приводящее к нарушению деятельности связанных с мембранными структурами ферментных систем. Ингибирование избыточного свободно-радикального окисления играет особо важную роль в нормальной деятельности митохондрий, мембрана которых несет на своей поверхности комплексы ферментов, осуществляющих транспорт электронов, цикл трикарбоновых кислот и процессы фосфорилирования. Нормальная деятельность этих ферментных систем играет важную роль в осуществлении физиологических функций клетки, работа которой во многом определяется состоянием проницаемости, пассивного и активного транспорта, а также стабильностью мембраны митохондрий. Это позволяет заключить, что даже незначительные структурные и функциональные сдвиги в митохондриальных мембранах, возникшие вследствие усиления процессов перекисного окисления, могут существенно нарушать функции клетки. Вместе с тем биоантиоксиданты, ингибируя кислородозависимые процессы в мембране, способствуют сохранению ее целостности и обеспечивают нормальное функционирование клетки [4].

Антиоксидантами (АО) могут быть вещества растительного, животного происхождения, а также синтетические. Природные АО, как правило, подавляют реакции свободнорадикального окисления путем связывания свободных радикалов и образования стабильных химических соединений, создавая тем самым оптимальные условия для метаболизма и обеспечения нормального роста клеток и тканей [5]. По механизму действия АО делятся на АО прямого и непрямого действия. К АО прямого действия относятся антирадикальные (токоферолы, экранированные фенолы), разрушающие перекиси (тиоловые соединения), связывающие катализаторы (ионы с переменной валентностью), тушители (вещества, инактивирующие активные формы кислорода — каротиноиды). К АО непрямого действия относятся вещества, участвующих в синтезе в живом организме эндогенных прямых антиоксидантов или АО ферментов (селен, глутаминовая кислота) [6]. АО придают большое значение и рассматривают возможность использования их как геропротекторов [7].

Перспективным является использование комплекса средств, содержащего в своем составе помимо натуральных биофлавоноидов и другие естественные АО, такие как витамины Е и С, являющиеся основными естественными АО организма человека, глутатион, селен, входящие в состав активного центра глутатионпероксидазы. Такой комплексный состав с включенными АО, действующий как в водной, так и липидной фазах, и влияющий на процессы липопероксидации и радикалообразования, является наиболее сбалансированным и перспективным в плане клинического применения [6-8]. Это обуславливает повышенный интерес к поиску профилактических и лечебных

антиоксидантных средств природного происхождения, основным преимуществом которых является их многостороннее и щадящее воздействие на организм, отсутствие или незначительность проявления побочных эффектов.

В этом плане представляет интерес репейничек волосистый (*Agrimonia pilosa*) — многолетнее травянистое растение, широко распространенное на территории России. Данное растение применяется в народной и традиционной медицине при различных заболеваниях, но наиболее часто при заболеваниях печени [9]. Растения рода репейничек (*Agrimonia* L.) включены в Британскую Травяную Фармакопею и применяются в качестве противовоспалительного и вяжущего средства [10].

Цель исследования: провести исследование на наличие и величину АОА суммарных извлечений (СИ) из надземной части репейничка волосистого.

Материалы и методы. Объектами исследования служили высушенные морфологические части травы репейничка волосистого, собранные в фазу цветения на территории Новосибирской области.

Методика получения СИ. Точную навеску от каждого образца сырья (около 1,0 г), просеянного сквозь сито с отверстиями диаметром 0,5 мм, помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл растворителя (вода очищенная, 40, 90 % спирт этиловый). Колбу присоединяют к обратному холодильнику, нагревают на водяной бане в течение 30 мин с момента закипания экстрагента. Содержимое колбы после тщательного перемешивания фильтруют через сухой бумажный фильтр в сухую колбу. Фильтр помещают в колбу с сырьем, и экстракцию повторяют еще дважды в описанных выше условиях. Полученные извлечения объединяют.

Методика определения АОА. АОА извлечений определяли по их способности ингибировать аутоокисление адреналина *in vitro* [11]. К 3 мл карбонат гидрокарбонатного буфера (pH = 10,65) добавляют 0,2 мл 0,1 % раствора адреналина гидрохлорида и определяют оптическую плотность раствора через 10 мин при длине волны 347 нм в кювете толщиной 10 мм на спектрофотометре СФ-56 (ОП1). Далее к 2 мл карбонат гидрокарбонатного буфера (pH = 10,65) добавляют 0,02 мл исследуемого извлечения и 0,2 мл 0,1 % раствора адреналина гидрохлорида и определяют оптическую плотность полученного раствора через 10 мин при длине волны 347 нм в кювете толщиной 10 мм на спектрофотометре СФ-56 (ОП2) (см. рис.). АОА рассчитывали по формуле:

$$\text{АОА} = (\text{ОП1} - \text{ОП2}) \times 100 / \text{ОП1}.$$

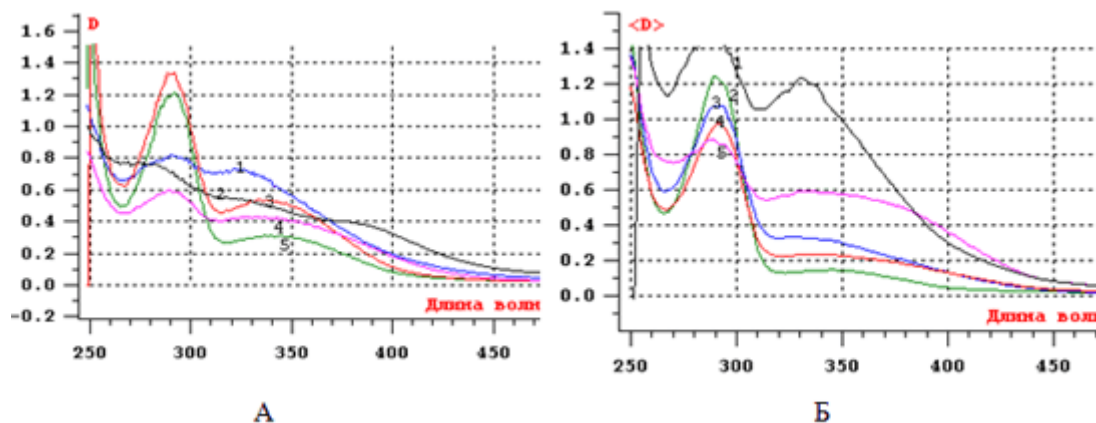
Величина АОА более 10 % свидетельствует о наличии выраженной антиоксидантной активности исследуемых извлечений.

Результаты исследований. Фитохимические исследования надземной части *Agrimonia pilosa* показали наличие веществ как прямого (аскорбиновая кислота, каротиноиды, флавоноиды, полифенольные соединения, фенолкарбоновые и гидроксикоричные кислоты, кумарины), так и непрямого (хлорофиллы, селен, глутаминовая кислота, ионы с переменной валентностью — Mn, Fe, Cr, Co, Ni и др.) механизма антиоксидантного действия [12–15]. Для установления наличия АОА и ее величины проведены сравнительные исследования АОА СИ из морфологических частей травы *Agrimonia pilosa*, полученных при экстракции водой очищенной, спиртом этиловым (с концентрацией спирта 40 и 90 %). Сравнительный анализ АОА СИ из морфологических частей и травы *Agrimonia pilosa* показал, что наибольшую АОА проявляют извлечения, полученные спиртом этиловым 40 % (см. табл.). Наибольшую АОА проявляют соцветия и листья,

наименьшую — стебли.

АОА СИ из морфологических частей надземной части *Agrimonia pilosa*

№ п/п	Эстрагент	Исследуемые образцы			
		Вся надземная часть	Листья	Стебли	Соцветия
1	Вода очищенная	42,61 ± 0,31	84,32 ± 0,23	20,62 ± 0,14	85,43 ± 0,15
2	Спирт этиловый 90 %	68,73 ± 0,23	75,88 ± 0,18	44,38 ± 0,21	84,10 ± 0,32
3	Спирт этиловый 40 %	81,42 ± 0,45	80,31 ± 0,31	68,45 ± 0,16	85,67 ± 0,23



Электронные спектры поглощения 0,1 % раствора адреналина гидрохлорида и СИ из травы и морфологических частей надземной части *Agrimonia pilosa* (водных — А и этанольных — Б) в карбонат гидрокарбонатном буфере (рН = 10,65); А: 1 — СИ из травы, 2 — СИ из листьев, 3 — 0,1 % раствор адреналина гидрохлорид, 4 — СИ из соцветия, 5 — СИ из стеблей; Б: 1 — 0,1 % раствор адреналина гидрохлорид, 2 — СИ из стеблей, 3 — СИ из травы, 4 — СИ из листьев, 5 — СИ из соцветия

Обсуждение результатов и выводы. Высокие показатели АОА суммарных извлечений из *Agrimonia pilosa* обеспечиваются всем комплексом БАС (флавоноиды, кумарины, гидроксикоричные кислоты, дубильные вещества, ионы с переменной валентностью — Cu, Ag, Hg, Si, Sb, Bi, Cr, Br, I, Mn, Fe, Co, Ni, каротиноиды, аминокислоты), которые по механизму действия являются антиоксидантами прямого и непрямого действия. При исследовании АОА СИ из всей надземной части растения и морфологических частей установлено, что наибольшей АОА обладают извлечения, полученные с использованием 40 % спирта этилового из надземной части растения и морфологических частей (соцветий и листьев).

Список литературы

1. Плотников М. Б. Антирадикальная активность композиций дигидрокверцетина с липоевой кислотой и арабингалактаном / М. Б. Плотников, А. В. Сидехменова, А. Ю. Шаманаев // Биоантиоксидант: тез. докл. IX Международной конф., Москва, 29 сентября — 2 октября 2015. — М.: РУДН, 2015. — С. 148.
2. Долматова Л. С. Ранозаживляющая активность экстракта из дальневосточных видов голотурий зависит от его антиоксидантных свойств / Л. С. Долматова, О. А. Уланова // Биоантиоксидант : тезисы докл. IX Международной конф., Москва, 29 сентября — 2 октября 2015. — М. : РУДН, 2015. — С. 61.
3. Сравнительная оценка антиоксидантных свойств водных экстрактов танинсодержащих лекарственных растений / Е. И. Рябина [и др.] // Вестн. ВГУ.

Серия: химия, биология, фармация. — 2011. — № 1. — С. 52-56.

4. Козина Л. С. Антиоксидантное действие пептидных препаратов эпифиза и мелатонина / Л. С. Козина // Клини. и эксперим. исследования. — 2007. — № 1 (8). — С. 140-143.
5. Хавинсон В. Х. 35-летний опыт исследований пептидной регуляции старения / В. Х. Хавинсон, В. Н. Анисимов // Успехи геронтологии. — 2009. — Т. 22, № 1. — С. 11-23.
6. Окунев И. В. Антиоксиданты : эффективность природных и синтетических соединений в комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний / И. В. Окунев, Н. С. Сапронов // Обзоры по клини. фармакологии и лекарственной терапии. — 2004. — Т. 3, № 3. — С. 2-16.
7. Букатин М. В. К вопросу применения биологических антиоксидантов природного происхождения в клинической практике / М. В. Букатин, О. Ю. Овчинникова // Фундамент. исследования. — 2006. — № 6. — С. 29-30.
8. Растения в комплексной терапии опухолей / Е. Д. Гольдберг [и др.]. — М. : Изд-во РАМН СО, 2008. — 232 с.
9. Растительные ресурсы России. Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. — СПб. ; М. : Товарищество научных изданий КМК, 2010. — Т. 3. — С. 185-187.
10. British Herbal Pharmacopoeia. — 1996. — 212 p.
11. Патент № 2144674 Российская Федерация. Способ определения антиоксидантной активности супероксиддисмутазы и химических соединений / Сирота Т. В. ; заявитель и патентообладатель ; приоритет от 24.02.1999 ; опубл. 20.01.2000 ; Бюл. № 16. — 7 с.
12. Сорбция природных биологически активных веществ на нанодиадах / Р. И. Валов [и др.] // Фармация. — 2010. — № 6. — С. 28-31.
13. Ханина М. Г. Элементный состав *Agrimonia pilosa* Ledeb / М. Г. Ханина, М. А. Ханина, А. П. Родин // Химия растительного сырья. — 2010. — № 2. — С. 99-104.
14. Аминокислоты *Agrimonia pilosa* Ledeb., *Arctium tomentosum* Mill / М. Г. Ханина [и др.] // Вестн. уральской мед. академической науки. — 2011. — № 3/1. — С. 77-78.
15. Ханина М. Г. Элементы надземной части *Agrimonia pilosa* led. [Электронный ресурс] / М. Г. Ханина, М. А. Ханина, А. П. Родин // Медицина и образование в Сибири : сетевое научное издание. — 2012. — № 4. — Режим доступа : (http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=764). — Дата обращения : 01.10.2015.

AGRIMONIA PILOSA AS THE PERSPECTIVE SOURCE OF BIOANTIOXIDANTS

[*M. A. Khanina¹, M. G. Khanina², A. I. Rodin¹, Y. V. Ligostayeva³*](#)

¹SEI HE of Moscow region «Moscow state regional humanitarian institute» (Orekhovo-Zuyevo)

²JSC «MSD Pharmaceuticals» (Moscow)

³SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health» (Novosibirsk)

Antioxidatic activity of cooperative extraction received from aerial part of agrimonia pilosa (extractant — water cleared alcohol of ethyl 40 and 90%), was determined by their ability to inhibit an autoxidation of in vitro adrenaline with usage of spectrophotometric method (SF-56, at wavelength λ — 347 nanometers). It is established that the greatest antioxidant activity the extraction received with usage of 40% of alcohol of plant, ethyl from grass, and morphological parts (inflorescences and leaves) possess.

Keywords: antioxidant activity, agrimonia pilosa, biologically active agents — antioxidants of direct and indirect action.

About authors:

Khanina Minisa Abdullayevna — doctor of pharmaceutical science, professor, acting head of pharmacology and pharmaceutical disciplines chair at SEI HE of Moscow region «Moscow state regional humanitarian institute», office phone: 8 (496) 425-78-75, e-mail: Khanina06@mail.ru

Khanina Marina Georgiyevna — candidate of pharmaceutical science, manager on preparation at JSC «MSD Pharmaceuticals» (Asthma Brand & Customer Manager MSD Pharmaceuticals), office phone: 8 (495) 916-71-00, e-mail: marina.khanina@merck.com

Rodin Anatoly Petrovich — candidate of medical science, assistant professor of pharmacology and pharmaceutical disciplines chair at SEI HE of Moscow region «Moscow state regional humanitarian institute», office phone: 8 (496) 425-78-75, e-mail: RodinAP@Yandex.ru

Ligostayeva Julia Valerievna — teacher of pharmacognosy and botany chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 225-07-13, e-mail: benna89@mail.ru

List of the Literature:

1. Plotnikov M. B. Anti-radical activity of compositions of dihydroquercetin with Acidum lipoicum and arabinogalactan / M. B. Plotnikov, A. V. Sidekhmenova, A. Y. Shamanayev // Bioantioxidant : theses of The IX International conf., Moscow, on September 29 — on October 2, 2015. — M. : RFUR, 2015. — P. 148.
2. Dolmatov L. S. Wound healing activity of extract from Far East species of holothurians depends on its antioxidant feature / L. S. Dolmatov, O. A. Ulanov // Bioantioxidant : theses

- of The IX International conf., Moscow, on September 29 — on October 2, 2015. — M.: RFUR, 2015. — P. 61.
3. Comparative assessment of antioxidatic properties of water extracts tannin containing herbs / E. I. Ryabinina [et al.] // Bulletin of VSU. Series : chemistry, biology, pharmacy. — 2011. — N 1. — P. 52-56.
 4. Kozina L. S. Antioxidatic action of peptide preparations of an epiphysis and melatonin / L. S. Kozina // Clin. and exper. researches. — 2007. — N 1 (8). — P. 140-143.
 5. Havinson V. H. 35 years' experience of researches of a peptide regulation of aging / V. H. Havinson, V. N. Anisimov // Achievements of gerontology. — 2009. — Vol. 22, N 1. — P. 11-23.
 6. Okunevich I. V. Antioxidants : efficiency of natural and synthetic bonds in complex therapy of cardiovascular diseases / I. V. Okunevich, N. S. Saprionov // Reviews on clin. pharmacology and medicinal therapy. — 2004. — Vol. 3, N 3. — P. 2-16.
 7. Bukatin M. V. Application of biological antioxidants of natural parentage in clinical practice / M. V. Bukatin, O. Y. Ovchinnikova // Fundam. researches. — 2006. — N 6. — P. 29-30.
 8. Plants in complex therapy of tumors / E. D. Goldberg [et al.]. — M. : Publishing house of the SB RAMS, 2008. — 232 P.
 9. Vegetable resources of Russia. Wild-growing floral plants, their component structure and biological activity. — SPb. ; M. : Association of scientific publications KMK, 2010. — Vol. 3. — P. 185-187.
 10. British Herbal Pharmacopoeia. — 1996. — 212 p.
 11. Patent N 2144674 Russian Federation. Way of determination of antioxidatic activity of superoxide dismutase and chemical compounds / Sirota T. V. ; applicant and patent holder ; priority of 24.02.1999 ; publ. 20.01.2000; Bulletin N 16. — 7 p.
 12. Sorption of natural biologically active agents on nanodiamonds / R. I. Valov [et al.] // Pharmaceutics. — 2010. — N 6. — P. 28-31.
 13. Khanina M. G. Element structure of Agrimonia pilosa Ledeb / M. G. Khanina, M. A. Khanina A. P. Rodin // Chemistry of vegetable raw materials. — 2010. — N 2. — P. 99-104.
 14. Agrimonia pilosa Ledeb amino acids., Arctium tomentosum Mill / M. G. Khanina [et al.] // Bulletin of Ural medical academic science. — 2011. — N 3/1. — P. 77-78.
 15. Khanina M. G. Elements of aerial part of Agrimonia pilosa ledeb. [electron resource] / M. G. Khanina, M. A. Khanina, A. P. Rodin // Medicine and education in Siberia : online scientific publication. — 2012. — N 4. — Access mode : (http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=764). — Access date : 01.10.2015.