

А.О. Сапиева¹, А.С. Зейнульдина¹, А.М. Габбасова¹,
А.Т. Казбекова^{1*}, Т.С. Сейтеметов¹, С.М. Адекенов²

¹Медицинский университет «Астана», Астана, Казахстан;

²АО «Научно-производственный холдинг «Фитохимия», Караганда, Казахстан

*Автор для корреспонденции: ainagul880@gmail.com

Изучение антиоксидантной активности растительных метаболитов и композитов на их основе

Одной из актуальных проблем при разработке современных лекарственных препаратов является приготовление водорастворимых форм субстанции, разработанных на основе растительного сырья. В работе изучена антиоксидантная активность *in vitro* растительных терпеноидов, флавоноидов и соответствующих композитов на их основе. В результате выполненных исследований нами установлено, что относительно высокую антиоксидантную активность *in vitro* проявил композит Pb/SE, содержащий в своем составе флавоноид пиностробин, а также сумму экстрактивных веществ солодки голой. Данный результат может быть обусловлен антиоксидантным эффектом флавоноида пиностробина, который содержится в исследованном композите. Механизм может заключаться в протекании процесса связывания свободных радикалов и хелатированием металлов переменной валентности, что способствует ингибированию перекисных процессов. Следует также отметить, что композит Leu/PVP (леукомизин/поливинилпирролидон), проявивший антиоксидантный эффект, менее выражен по сравнению с антиоксидантным свойством композита Pb/SE.

Ключевые слова: терпеноиды, флавоноиды, композит, биологически активные соединения, антиоксидантная активность.

Введение

В настоящее время одной из проблем в аспекте разработки современных высокоэффективных лекарственных средств является приготовление и изучение водорастворимых форм субстанции на основе биологически активных растительных веществ, большинство из которых не растворимы в воде, что является определенной проблемой при проведении фармакологических исследований природных соединений и субстанции на их основе. Также многие антиоксидантные и гепатопротекторные препараты являются синтетическими, которые могут вызвать аллергические реакции, что обуславливает актуальность в фармакотерапии и профилактике заболеваний свободно-радикальной природы применение средств растительного происхождения.

На наш взгляд, одним из перспективных направлений при разработке водорастворимых лекарственных форм можно рассматривать решение проблемы направленного синтезано-композитов на основе природных соединений с соответствующими комплексообразователями [1]. Также актуален вопрос изучения адекватности метода определения биологической активности объекта, в частности, антиоксидантной и антирадикальной, поэтому широко применяются различные способы оценки эффекта исследования объектов *in vitro* и *in vivo*.

Одной из актуальных задач в решении указанной выше проблемы является ингибирование перекисных процессов в организме с помощью экзогенных антиоксидантов, которые нейтрализуют эндогенные свободные радикалы [2, 3]. Одним из самых основных и с точки зрения медицины наиболее полезных свойств большинства изученных флавоноидов является их способность нейтрализовать свободные радикалы, которые образуются в ходе многих физиологических, в частности, перекисных процессов в организме [4].

Цель настоящей работы заключается в исследовании антиоксидантной активности *in vitro* растительных терпеноидов, флавоноидов и соответствующих композитов на их основе.

Материалы и методы

Образцы всех изученных механокомпозитов на основе терпеноидов и флавоноидов разработаны и предоставлены АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия». Экспери-

ментальные исследования по оценке антиоксидантной активности выполнены на кафедре общей и биологической химии НАО «Медицинский университет "Астана"».

В данном исследовании изучение антиоксидантной активности растительных терпеноидов, флавоноидов и композитов на их основе выполнено *in vitro* с применением метода определения железо-восстанавливающей антиоксидантной способности исследуемого объекта, называемого FRAP-методом [5]. Указанный способ основан на установлении потенциальной железо-восстанавливающей способности исследуемого объекта, которая оценивалась спектрофотометрическим методом на Agilent Cary 60. Определение антиоксидантного эффекта *in vitro* растворов представленных образцов выполнено в сравнении с растворами аскорбиновой кислоты, которая проявляет выраженное антиоксидантное свойство.

Определение железо-восстанавливающего потенциала — FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power assay) органических соединений. К 0,1 мл спиртового раствора исследуемого образца в диапазоне концентраций 0,25; 0,5; 0,75; 1,0 мг/мл добавляется 0,25 мл фосфатного буфера (0,2 М, рН 6,6) и 0,25 мл 1 % раствора гексацианоферрата (III) калия. Реакционная смесь инкубируется в течение 20 мин при температуре 50 °С, далее реакция останавливается добавлением 0,25 мл 10 % раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУ). Смесь центрифугируют в течение 10 мин (3000 об./мин.). Верхний слой объемом 0,5 мл смешивается с 0,5 мл дистиллированной воды и 0,1 мл 0,1 % FeCl₃. Измерение оптической плотности производится на спектрофотометре Agilent Cary 60 при 700 нм. Для количественной оценки антиоксидантной активности полученные экспериментальные данные исследуемых объектов сравнивали с соответствующей активностью указанного антиоксиданта.

Результаты и обсуждение

В процессе выполнения настоящего исследования сделан вывод о том, что в качестве показателя антиоксидантного эффекта исследуемого объекта может быть изучена динамика оптической плотности рабочего раствора в зависимости от изменения концентрации исследуемого объекта. В частности, рост величины показателя оптической плотности исследуемого рабочего раствора указывает на соответствующее проявление антиоксидантной активности анализируемого образца, содержащего потенциально биологически активные вещества, аналогично эффекту аскорбиновой кислоты. В выполненных экспериментах в качестве стандарта применена аскорбиновая кислота. Результаты полученных данных приведены в таблице.

В результате выполненных исследований установлено, что относительно высокую антиоксидантную активность *in vitro* проявил композит Pb/SE, содержащий в своем составе флавоноид пиностробин, а также сумму экстрактивных веществ солодки голой (см. табл.). На основании полученных результатов мы считаем, что указанный объект может быть рекомендован для дальнейших исследований антирадикальной активности *in vitro* и антиоксидантной активности *in vivo* в эксперименте методом острой гипоксии [6].

Т а б л и ц а

Изменение оптической плотности растворов композитов на основе терпеноидов и флавоноидов в зависимости от концентрации соответствующего раствора исследуемого объекта*

№	Образцы*	Величина оптической плотности при концентрации (мг/мл)			
		0,25 мг/мл	0,5 мг/мл	0,75 мг/мл	1 мг/мл
1	20E-2 HP B-ЦД	0,0952 ± 0,002	0,0802 ± 0,003	0,0849 ± 0,001	0,0848 ± 0,002
2	20E-Na ₂ GA	0,0806 ± 0,003	0,0772 ± 0,002	0,0802 ± 0,001	0,0799 ± 0,001
3	Pb/PVP	0,0821 ± 0,005	0,0862 ± 0,010	0,0896 ± 0,002	0,1015 ± 0,010
4	Pb/ Na ₂ GA	0,1838 ± 0,030	0,1475 ± 0,010	0,1351 ± 0,003	0,1505 ± 0,007
5	Pb/SE	0,3307 ± 0,030	0,4100 ± 0,020	0,4316 ± 0,040	0,5146 ± 0,001
6	Leu/β-ЦД 1:10	0,1051 ± 0,002	0,0986 ± 0,010	0,1221 ± 0,030	0,1570 ± 0,100
7	Leu/ GA	0,1203 ± 0,010	0,1151 ± 0,009	0,1128 ± 0,010	0,1138 ± 0,010
8	Leu/ PVP	0,2452 ± 0,100	0,2594 ± 0,100	0,4322 ± 0,090	0,4206 ± 0,100
9	Leu/ PEG	0,1060 ± 0,004	0,1105 ± 0,002	0,1711 ± 0,100	0,1158 ± 0,020
10	Leu/Na ₂ GA 1:10	0,1224 ± 0,001	0,1478 ± 0,009	0,1361 ± 0,010	0,1389 ± 0,030
11	Pb	0,5991 ± 0,10	1,1114 ± 0,10	1,0977 ± 0,20	1,3556 ± 0,10
12	Leu	0,1151 ± 0,01	0,1179 ± 0,02	0,1046 ± 0,01	0,1115 ± 0,02
13	20E	0,1322 ± 0,01	0,1385 ± 0,01	0,1413 ± 0,004	0,1539 ± 0,01
14	AK	0,734 ± 0,0007	0,819 ± 0,0092	0,929 ± 0,0799	1,020 ± 0,0058

* *Примечание.* 20E-2 HP B-ЦД (экдистерон / 2-гидроксипропил-β-циклодекстрин);
 20E-Na₂GA (экдистерон/динатриевая соль глицирризиновой кислоты);
 Pb/PVP (пиностробин/поливинилпирролидон);
 Pb/Na₂GA (пиностробин/динатриевая соль глицирризиновой кислоты);
 Pb/SE (пиностробин/сумма экстрактивных веществ солодки голой);
 Leu/β-ЦД 1:10 (леукомизин / β — циклодекстрин 1:10);
 Leu/ GA (леукомизин / глицирризиновая кислота);
 Leu/ PVP (леукомизин / поливинилпирролидон);
 Leu / PEG (леукомизин / полиэтиленгликоль);
 Leu / Na₂GA 1:10 (леукомизин / динатриевая соль глицирризиновой кислоты 1:10);
 Pb — пиностробин;
 Leu — леукомизин;
 20E — экдистерон;
 АК — аскорбиновая кислота.

Вместе с тем следует отметить, что аддукт Pb/SE уступает антиоксидантному эффекту аскорбиновой кислоты, которая обладает выраженным антиоксидантным свойством. В научной литературе отмечается, что леукомизин также проявляет умеренную антирадикальную активность при изучении *in vitro* на основе анализа динамики свободнорадикальных процессов [7]. Также следует указать на установленную определенную антиоксидантную активность *in vitro* аддукта Leu/PVP (леукомизин / поливинилпирролидон), которая уступает активности анализируемого аддукта состава пиностробин/сумма экстрактивных веществ солодки голой, поэтому данный объект следует рассматривать как потенциально биологически активное вещество в аспекте дальнейшего изучения антиоксидантной и антирадикальной активности *in vitro* и *in vivo*.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что антиоксидантный эффект *in vitro* композита флавоноида пиностробина с экстрактом солодки голой (Pb/SE), в котором присутствует глицирризиновая кислота, обусловлен антиоксидантным эффектом пиностробина, который содержится в исследованном композите [8]. Механизм может заключаться в протекании процесса связывания свободных радикалов и хелатированием металлов переменной валентности, что ингибирует перекисные процессы.

Следует также отметить другой композит Leu/PVP (леукомизин/ поливинилпирролидон), проявляющий антиоксидантный эффект, который менее выражен по сравнению с антиоксидантным свойством композита пиностробин /сумма экстрактивных веществ солодки голой (Pb/SE). Вместе с тем мы рассматриваем указанный объект в качестве перспективного композита в аспекте изучения на антиоксидантную и антирадикальную активность *in vitro* с дальнейшим исследованием в эксперименте *in vivo*.

Заключение

На основании полученных результатов нами сделаны следующие выводы:

1. Изучение FRAP методом *in vitro* антиоксидантной активности ряда композитов, содержащих в своем составе различные индивидуальные органические соединения, показало антиоксидантную активность композита пиностробин/сумма экстрактивных веществ солодки голой (Pb/SE).
2. Для установления потенциального антиоксиданта в данном ряду изученных композитов, содержащих в своем составе органические соединения, в частности, в ряду флавоноидов целесообразно исследовать также антирадикальную активность *in vitro* указанных объектов с применением 1,1-дифенил-2-пикрилгидразилрадикала (DPPH).
3. Изучение гепатопротекторного эффекта композита флавоноида пиностробина с экстрактом солодки голой в эксперименте *in vivo* путем применения четыреххлористого углерода актуально для создания новых лекарственных препаратов и будет способствовать развитию отечественной фармацевтической промышленности.

Список литературы

- 1 Adekenov S.M. Compounds Based on Pinosrobin Oxime / S.M. Adekenov, G.M. Baysarov, A.N. Zhabayeva, L.P. Suntsova, A.V. Dushkin // Russ. J. Bioorg. Chem. — 2022. — Vol. 48. — P. 1373–1378. <https://doi.org/10.1134/S1068162022070019>

- 2 Сейдахметова Р.Б. Антиоксидантная активность природных флавоноидов и их производных / Р.Б. Сейдахметова, М.А. Романова, Г.М. Мукушева, Т.С. Сейтеметов, С.М. Адекенов // Иммунопатология, аллергология, инфектология. — 2018. — № 2. — С. 32–35.
- 3 Казбекова А.Т. Антиоксидантная и гепатопротекторная активность природных соединений и их производных: моногр. / А.Т. Казбекова. — Караганда: Гласир, 2021. — 121 с.
- 4 Барабой В.А. Биоантиоксиданты / В.А. Барабой. — Киев: Книга плюс, 2006. — 462 с.
- 5 Макарова Н.В. Сравнительные исследования содержания фенольных соединений, флавоноидов и антиоксидантной активности яблок разных сортов / Н.В. Макарова, Д.Ф. Валиулина, О.И. Азаров, А.А. Кузнецов // Химия растительного сырья. — 2018. — № 2. — С. 115–122.
- 6 Сейтеметова А.Ж. Природные фенольные соединения — перспективный источник антиоксидантов / А.Ж. Сейтеметова, С.М. Адекенов. — Алматы: КазгосИНТИ, 2001. — 165 с.
- 7 Rodnova Ye. A. Interaction of Pinostrobin Oxime and Leucomizin with reactive oxygen species in model systems / Ye.A. Rodnova, V.V. Ivanov, V.S. Chuchalin, A.N. Melentiyeva, L.I. Arystan, Z.T. Shulgau, S.M. Adekenov // Bulletin of Siberian Medicine. — 2011. — Vol 10, No 5. — P. 95–100. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2011-5-95-100>
- 8 Казбекова А.Т. Корреляция антиоксидантной активности производных пиностробина и растительных экстрактов / А.Т. Казбекова, Г.А. Атажанова, М. Кудайберген, А.Ж. Сейтеметова, Г.К. Мукушева, С.М. Адекенов // Валеология. — 2015. — № 3. — С. 76–78.

А.О. Сапиева, А.С. Зейнульдина, А.М. Габбасова,
А.Т. Казбекова, Т.С. Сейтеметов, С.М. Адекенов

Өсімдік метаболиттері және олардың негізінде алынған композиттердің антиоксиданттық белсенділігін зерттеу

Қазіргі кездегі дәрілік препараттарды алудың келелі мәселелерінің бірі — өсімдік шикізаттарының негізінде алынған субстанциялардың суда еритін түрлерін дайындау. Жұмыста өсімдік терпеноидтарының, флавоноидтардың және олардың негізіндегі сәйкес композиттердің *in vitro* антиоксиданттық белсенділігі зерттелді. Жүргізілген зерттеулердің нәтижесінде біз құрамында флавоноид пиностробин бар Pb/SE композитін, сондай-ақ жалаң мия сығындыларының қосындысы *in vitro* салыстырмалы түрде жоғары антиоксиданттық белсенділік көрсеткенін анықтадық. Бұл нәтиже зерттеуге алынған композиттің құрамындағы флавоноид пиностробиннің антиоксиданттық әсерінен болуы мүмкін. Осы процестің механизмі бос радикалдардың байланысы және ауыспалы валенттілігі бар металдардың хелаттануы нәтижесінде асқын тотығу процесінің тежелуінен болуы ықтимал. Сондай-ақ, Leu/PVP (лейкомизин/поливинилпирролидон) композиті Pb/SE композитінің антиоксиданттық қасиетімен салыстырғанда азырақ байқалатын антиоксиданттық әсер көрсеткенін атап өткен жөн.

Кілт сөздер: терпеноидтар, флавоноидтар, композит, биологиялық белсенді қосылыстар, антиоксиданттық белсенділік.

A.O. Sapieva, A.S. Zeynuldina, A.M. Gabbasova,
A.T. Kazbekova, T.S. Seytembetov, S.M. Adekenov

Study of antioxidant activity of plant metabolites and composites based on them

One of the urgent problems in the development of modern pharmaceuticals is the preparation of water-soluble forms of substance developed on the basis of plant raw materials. In this work the *in vitro* antioxidant activity of plant terpenoids, flavonoids and corresponding composites based on them was studied. As a result of our studies, we have found that the Pb/SE composite containing the flavonoid pinostrobin, as well as the sum of licorice extractives naked, showed relatively high antioxidant activity *in vitro*. This result may be due to the antioxidant effect of flavonoid pinostrobin, which is contained in the studied composite. The mechanism may lie in the process of free radical binding and chelation of metals of variable valence, which contributes to the inhibition of peroxide processes. It should also be noted the Leu/PVP composite (leucomisin / polyvinylpyrrolidone), which showed an antioxidant effect that is less pronounced compared to the antioxidant property of the Pb/SE composite.

Keywords: terpenoids, flavonoids, composite, biologically active compounds, antioxidant activity.

References

- 1 Adekenov, S.M., Baysarov, G.M., Zhabayeva, A.N., Suntsova, L.P., & Dushkin, A.V. (2022). Complex Compounds Based on Pinostrobin Oxime. *Russ. J. Bioorg. Chem.*, 48; 1373–1378. <https://doi.org/10.1134/S1068162022070019>.
- 2 Seydakhmetova, R.B., Romanova, M.A., Mukusheva, G.M., Seytembetov, T.S., & Adekenov, S.M. (2018). Antioksidantnaia aktivnost prirodnikh flavonoidov i ikh proizvodnykh [Antioxidant activity of natural flavonoids and their derivatives]. *Immunopatologiia, allergologiia, infektologiia — Immunopathology, allergology, infectology*, 2; 32–35 [in Russian].
- 3 Kazbekova, A.T. (2021). *Antioksidantnaia i gepatoprotektivnaia aktivnost prirodnikh soedinenii i ikh proizvodnykh: monografiia* [Antioxidant and hepatoprotective activity of natural compounds and their derivatives: monograph]. Karaganda: Glasir [in Russian].
- 4 Baraboi, V.A. (2006). *Bioantioksidanty* [Bioantioxidants]. Kiev: Kniga Plus [in Russian].
- 5 Makarova, N.V., Valiulina, D.F., Azarov, O.I., & Kuznetsov, A.A. (2018). Sravnitelnye issledovaniia sodержaniia fenolnykh soedinenii, flavonoidov i antioksidantnoi aktivnosti yablok raznykh sortov [Comparative studies of the content of phenolic compounds, flavonoids and antioxidant activity of apples of different varieties]. *Khimiia rastitelnogo syria — Chemistry of plant raw materials*, 2; 115–122 [in Russian].
- 6 Seitembetova, A.J. & Adekenov, S.M. (2001). *Prirodnye fenolnye soedineniia — perspektivnyi istochnik antioksidantov* [Natural phenolic compounds — a promising source of antioxidants]. Almaty: KazgosINTI [in Russian].
- 7 Rodnova, Ye.A., Ivanov, V.V., Chuchalin, V.S., Melentiyeva, A.N., Arystan, L.I., Shulgau, Z.T. & Adekenov, S.M. (2011). Interaction of Pinostrobin Oxime and Leukomizin with reactive oxygen species in model systems. *Bulletin of Siberian Medicine*, 10(5); 95–100. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2011-5-95-100>.
- 8 Kazbekova, A.T., Atazhanova, G.A., Kudaibergen, M., Seytembetova, A.J., Mukusheva, G.K. & Adekenov, S.M. (2015). Korreliatsia antioksidantnoi aktivnosti proizvodnykh pinostroбина i rastitelykh ekstraktov [Correlation of antioxidant activity of pinostrobin derivatives and plant extracts]. *Valeologiia — Valeology*, 3; 76–78 [in Russian].

Information about the authors

Sapieva Ardak Onalbekovna — Candidate of chemical science, associated professor, head of department of general and biological chemistry, Medical University «Astana», Astana, Kazakhstan; e-mail: sapieva.a@amu.kz;

Zeynuldina Aizhan Saipidenovna — Candidate of chemical science, associated professor of department of general and biological chemistry, Medical University «Astana», Astana, Kazakhstan; e-mail: Zeynuldina.a@amu.kz;

Gabbasova Anara Meiramovna — Candidate of chemical science, associated professor of department of general and biological chemistry, Medical University «Astana», Astana, Kazakhstan; e-mail: gabbasova.a@amu.kz;

Kazbekova Ainagul Talgatovna — Candidate of medical science, associated professor of internal diseases, Medical University «Astana», Astana, Kazakhstan; e-mail: ainagul880@gmail.com;

Seytembetov Talgat Sultanovich — Doctor of chemical science, professor of department of general and biological chemistry, Medical University «Astana», Astana, Kazakhstan; e-mail: stalgat49@mail.ru;

Adekenov Sergazy Mynzhasarovich — Doctor of chemical science, professor, academic of National Academy of Science, general director of JSC «Scientific and Production Holding “Phytochemistry”», Karaganda, Kazakhstan; e-mail: info@phyto.kz.