

## ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ АГАРИЦИНОВОЙ КИСЛОТЫ

© 2010 Е.О. Сергеева, А.Ю. Айрапетова, К.А. Айрапетова

Пятигорская государственная фармацевтическая академия

Поступила в редакцию 28.09.2010

Была изучена антиоксидантная активность агарициновой кислоты, полученной из плодового тела трутовика лекарственного. Эффективность антиоксидантного действия оценивали по степени ингибирования интенсивности перекисного окисления липидов липосом яичного лецитина в опытных образцах по отношению к контрольным. Установлено, что растворы агарициновой кислоты в диметилсульфоксиде и спирте этиловом 95% обладают способностью ингибировать процессы перекисного окисления липидов. Сравнительное изучение антиоксидантной активности агарициновой кислоты в системе липосом проводили в сравнении с раствором кверцетина.

Ключевые слова: *агарициновая кислота, трутовик лекарственный, антиоксидантная активность, перекисное окисление липидов, тиобарбитуровая кислота, свободные радикалы*

В результате неконтролируемого обществом научно-технического прогресса из года в год ухудшается экологическая обстановка, как в городах, так и в сельской местности. В продаже появляются тысячи бытовых и строительных изделий, лекарственных препаратов, сделанных из новых полимеров и других соединений, качественно отличающихся от природных. Налицо уже резкое ухудшение основных параметров здоровья населения. Падает рождаемость и продолжительность жизни. Известно, что свободные радикалы играют определенную роль в развитии многих заболеваний. Одним из наиболее негативных является формирование липидной перекисидации. Если свободные радикалы окисляют липиды, происходит образование опасной формы липидного пероксида. Окислительный стресс является важным патогенетическим фактором развития многих заболеваний и патофизиологических процессов (более 100), таких как воспаление, атеросклероз, канцерогенез, ишемическое и реперфузионное поражение тканей, диабет и т.д. [3-5]. Поддерживать организм в нормальном состоянии – значит сохранять необходимый баланс между свободными радикалами и антиокислительными силами, роль которых выполняют антиоксиданты. Многочисленные данные литературы свидетельствуют о том, что введение антиоксидантов при воспалительных

заболеваниях, сердечно-сосудистой патологии, токсических поражениях печени и т.д., позволяет заметно уменьшить интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) и другие последствия деструктивного действия свободных радикалов, а также снизить выраженность того или иного патологического процесса.

Одним из перспективных путей при разработке новых лекарственных средств является поиск новых биологически активных соединений среди природных объектов. Базидиомицетовые грибы являются источником получения ряда высокоэффективных соединений с противоопухолевой активностью, антибиотиков, антисклеротических препаратов. Уникальным объектом исследования по своему химическому составу является лиственничная губка, или трутовик лекарственный (*Fomitopsis officinalis* (Will.) Bond et Singer, сем. Polyporaceae). Плодовое тело гриба, паразитирующего на лиственнице, реже пихте накапливает до 10% по отношению к массе сырья агарициновой кислоты, до 80% смолистых веществ кислотного характера, эбуриковую кислоту, полисахариды и другие биологически активные соединения. По данным зарубежных авторов, агарициновая кислота ( $C_{19}H_{36}OH(COOH)_3$ ) проявляет противоопухолевое действие [1].

**Цель настоящего исследования:** изучение антиоксидантной активности (АОА) выделенной из плодового тела трутовика лекарственного агарициновой кислоты.

**Материалы и методика.** Для изучения антиоксидантной активности использовали образец агарициновой кислоты, выделенный из плодового тела трутовика лекарственного, собранного на лиственнице в Алтайском крае

*Сергеева Елена Олеговна, кандидат фармацевтических наук, преподаватель кафедры микробиологии и биохимии. E-mail: maklea@yandex.ru*

*Айрапетова Ася Юрьевна, кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры фармацевтической химии. E-mail: asyaprgfa@mail.ru*

*Айрапетова Карина Артуровна, аспирантка. E-mail: asgoodasitgets@mail.ru*

[4]. Кислота мало растворима в воде, растворима в спирте, диметилсульфоксиде.

Антиоксидантное действие агаризиновой кислоты было изучено *in vitro* на модели  $Fe^{2+}$ -индуцированного ПОЛ в липосомальной системе, полученной на основе фосфатидилхолина. Липосомы получали из яичного фосфатидилхолина при концентрации липидов 40 мг/мл [6]. Эффективность антиоксидантного действия оценивали по степени ингибирования интенсивности ПОЛ липосом в опытных образцах по отношению к контрольным. Интенсивность ПОЛ липосом измеряли по накоплению тиобарбитуровой кислоты (ТБК)-активных продуктов за 15 мин инкубации. Реакцию проводили на водяной бане при 37°C. В опытные образцы вносили соответствующие исследуемые фракции. В контрольные пробы добавляли только растворитель (спирт 60% или масло подсолнечное очищенное дезодорированное). Интенсивность поглощения ТБК-активных продуктов измеряли на спектрофотометре СФ-2000 при длине волны 532±2 нм [2]. Рассчитывали процент торможения ПОЛ по отношению к контрольной пробе. В качестве критерия для оценки антиоксидантной активности исследуемого соединения рассчитывали значение коэффициента  $I_{50}$ , который показывает концентрацию вещества в среде инкубации, вызывающую снижение интенсивности ПОЛ на 50%.

**Результаты и обсуждение.** В табл. 1 представлены данные о влиянии раствора агаризиновой кислоты в диметилсульфоксиде (ДМСО) и спирте этиловом 95% на накопление ТБК-активных продуктов (в %) в соответствующих концентрациях. Концентрация агаризиновой кислоты в спирте этиловом 95%, при которой продукция свободных радикалов была подавлена в наибольшей степени, составила  $5,0 \cdot 10^{-4}\%$ , а при растворении агаризиновой кислоты в ДМСО, концентрация, при которой была практически полностью остановлена выработка свободных радикалов составила  $6,25 \cdot 10^{-4}\%$  (снижена на 87%). Таким образом, исследуемое соединение обладает способностью ингибировать образование ТБК-активных продуктов в используемой системе, что свидетельствует о наличии у него антиоксидантной активности. Для сравнения снижения накопления перекисных соединений в

опыте с агаризиновой кислотой был исследован кверцетин. Данные представлены в табл. 2.

**Таблица 1.** Влияние агаризиновой кислоты на интенсивность  $Fe^{2+}$ -индуцированного ПОЛ в суспензии липосом из яичного лецитина

Концентрация агаризиновой кислоты в ДМСО в среде инкубации, %	Снижение ПОЛ (%)
$6,25 \cdot 10^{-4}$	86,9
$1,25 \cdot 10^{-3}$	74,5
$2,5 \cdot 10^{-3}$	15,3
$5,0 \cdot 10^{-3}$	35,0
$1,0 \cdot 10^{-2}$	89,8
$2,0 \cdot 10^{-2}$	46,7
Концентрация агаризиновой кислоты в спирте этиловом 95% в среде инкубации, %	Снижение ПОЛ (%)
$10^{-4}$	39,6
$2,5 \cdot 10^{-4}$	42,2
$5,0 \cdot 10^{-4}$	44,7
$10^{-3}$	41,7
$2,0 \cdot 10^{-3}$	15,3

**Таблица 2.** Влияние кверцетина на интенсивность  $Fe^{2+}$ -индуцированного ПОЛ в суспензии липосом из яичного лецитина

Концентрация кверцетина в среде инкубации, %	Снижение ПОЛ (%)
$3,04 \cdot 10^{-5}$	20,9
$1,52 \cdot 10^{-4}$	10,2
$3,04 \cdot 10^{-4}$	43,9
$1,52 \cdot 10^{-3}$	41,7
$3,04 \cdot 10^{-3}$	94,4
$1,52 \cdot 10^{-2}$	98,7

Как следует из табл. 2, кверцетин практически полностью подавляет накопление продуктов перекисидации в концентрации  $1,52 \cdot 10^{-2}$  (торможение на 98,7%). Для сравнения эффективности антиоксидантного действия были построены графики зависимости процента снижения интенсивности ПОЛ от разведения в среде инкубации и рассчитаны коэффициенты  $I_{50}$ , значения которых приведены в табл. 3.

**Таблица 3.** Значения коэффициента  $I_{50}$  исследуемых фракций в системе  $Fe^{2+}$ -индуцированного ПОЛ липосом

Исследуемое соединение	Агаризиновая кислота в ДМСО	Агаризиновая кислота в спирте этиловом 95%	Кверцетин
Значение коэффициента $I_{50}$ , %	$3,04 \cdot 10^{-2}$	0,29	$1,9 \cdot 10^{-3}$

**Выводы:** результаты исследований позволили установить наличие АОА агарициновой кислоты. Наибольшая антиоксидантная активность в системе липосом на модели  $Fe^{2+}$ -индуцированного ПОЛ, выявлена у агарициновой кислоты в ДМСО, по сравнению со спиртовым раствором. Установленное снижение накопления перекисных соединений изучаемой кислоты было исследовано в сравнении с кверцетином.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Белова, Н.В. Перспективы использования биологически активных соединений высших базидиомицетов в России // Экол. и фитопатол. 2004. Т. 38, №2. С. 1-4.
2. Владимиров, Ю.А. Определение антиоксидантной активности методами хемилюминесценции / Ю.А. Владимиров, О.Б. Любимов, Д.Ю. Измайлов // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: материалы 9 Междунар. съезда «Фитофарм 2005» и конф. молодых учёных Европейск. Фитохимич. о-ва «Растения и Здоровье» 22-25 июня 2005 г. – СПб., 2005. С. 67-73.
3. Макаров, В.Г. Антиоксиданты и реакционно-активные формы кислорода. Их роль и механизм действия / В.Г. Макаров, М.Н. Макарова // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: материалы 8 Междунар. съезда «Фитофарм 2004». Миккели 21-23 июня 2004 г. – СПб., 2004. С. 121-132.
4. Патент № 2330676 РФ. Способ получения агарициновой кислоты / А.Ю. Айрапетова, П.А. Цуканова, М.В. Гаврилин, Т.А. Шаталова /Опубл. 10.08.08. 8 с.
5. Марков, Х.М. Оксидативный стресс и дисфункция эндотелия / Х.М. Марков // Пат. физиол. и эксперим. терапия. 2005. №4. С. 5-9.
6. Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. 392 с.

## STUDYING THE ANTIOXIDATIC ACTIVITY OF AGARICINIC ACID

© 2010 E.O. Sergeeva, A.Yu. Ayrapetova, K.A. Ayrapetova

Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy

Antioxidatic activity of agaricinic acid received from a fruit body of tinder fungus medicinal has been studied. Efficiency of antioxidant action estimated on a degree of inhibition of intensity lipids peroxide oxidation intensity of liposomes from an egg lecithine in experimental models in relation to control. It is established, that solutions of agaricinic acid in a dimethylsulfoxide and alcohol of ethyl 95% possess ability to inhibit processes of lipids peroxide oxidation. Comparative studying of antioxidant activity of agaricinic acid in system of liposomes spent in comparison with a solution of quercetinum.

Key words: *agaricinic acid, tinder fungus medicinal, antioxidant activity, lipids peroxide oxidation, thiobarbituric acid, free radicals*