

ФАРМАЦІЯ

О. С. Яремкевич, О. М. Федоришин

Національний університет “Львівська політехніка”,
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології
olena.s.yaremkevych@lpnu.ua

**ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИОКСИДАНТНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЕКСТРАКТІВ
ВІДКАСНИКА БЕЗСТЕБЛОВОГО (*Carlina acaulis* L.),
АРНІКИ ГІРСЬКОЇ (*Arnica montana* L.) ТА КАЛЕНДУЛИ ЛІКАРСЬКОЇ
(*Calendula officinalis* L.)**

<https://doi.org/10.23939/ctas2024.01.103>

Досліджено процеси пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та окисної модифікації протеїнів (ОМП) 40 % та 70 % водно-етанольних рослинних екстрактів (РЕ) кореня відкасника безстеблого (*Carlina acaulis* L.), суцвіть арніки гірської (*Arnica montana* L.) та календули лікарської (*Calendula officinalis* L.) на гепатоцитах печінки щура в умовах ініціювання вільнорадикального окиснення *in vitro*. Досліджувані РЕ зменшують утворення вільних радикалів у білках та ліпідах, що, очевидно, пов'язано з наявністю в екстрактах фенольних сполук, флавоноїдів та поліфенолів. Найкращі показники продемонстрували рослинні екстракти арніки та календули. Екстракт арніки у концентрації 40 % має кращі антиоксидантні властивості, ніж його 70 % екстракт.

Ключові слова: антиоксидантна активність; рослинний екстракт; перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ); окисна модифікація протеїнів (ОМП); *Carlina acaulis* L.; *Arnica montana* L.; *Calendula officinalis* L.

Вступ

Стрес супроводжує людину все життя. Проблема стресу і його впливу на різні функціональні системи організму впродовж багатьох років і сьогодні залишається актуальною для сучасної біології і медицини, особливо тепер, коли на людей впливає напружена ситуація, пов'язана з війною в Україні. Розрізняють евстрес і дистрес. Евстрес – це нормальний, помірний для організму стрес, що не порушує гомеостазу організму. На фізіологічному рівні дистрес, такий, що порушує гомеостаз, може стати причиною багатьох захворювань [1, 2] та виходить за межі адаптації. В результаті дистресу відбувається зсув редокс-рівноваги в організмі в бік утворення вільних радикалів і пероксидів ліпідів та протеїнів. У біологічних системах найактивнішими є вільні радикали та іон-радикали, у структурі яких є неспарені електрони і які утворюють так звані

активні форми кисню, азоту, сірки та хлору. Отже, центральне місце в метаболізмі організму, без сумніву, займають процеси біологічного окиснення. Вільнорадикальне окиснення – універсальний механізм, за допомогою якого контролюються найважливіші гомеостатичні фізико-хімічні параметри клітини: вибіркова проникність, в'язкість та цілісність клітинних мембран [3]. Завдяки вільним радикалам (ВР) здійснюється детоксикація чужорідних сполук, які потрапляють в організм. Безсумнівно, наявність ВР в організмі має важливе фізіологічне значення. Перебіг багатьох біологічних процесів неможливий без ВР. Вони відіграють важливу роль у транспортуванні електронів у дихальному ланцюзі, забезпечують цитотоксичну дію фагоцитів, синтез низки біологічно активних речовин, ротацію білкового й ліпідного компонентів біомембран, регуляцію процесу поділу клітин, модуляцію запрограмованої смерті клітин,

запобігання злоякісній трансформації клітин, виконують функцію між- і внутрішньоклітинних месенджерів та є найпершою і наймобільнішою ланкою в адаптаційній перебудові організму за екстремальних впливів [4].

Відомо, що унаслідок багатьох хронічних захворювань посилюється оксидативний стрес [5–7], в результаті якого активуються процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), окисна модифікація протеїнів (ОМП), деструкція нуклеїнових кислот та вуглеводів, що спричиняє істотні зміни в обмінних процесах клітини та клітинних мембран. Такі структурно-функціональні зміни цілісності мембрани супроводжуються дисбалансом ферментативної та неферментативної ланок антиоксидантного захисту клітини, зміною транспорту іонів Ca^{2+} [8] та вивільненням лізосомних ферментів, що призводить до загибелі клітини. Також ПОЛ та ОМП може призводити до інактивації мембранних ферментів, зокрема, глюкозо-6-фосфатази та Na/K-ATP ази [9], котра безпосередньо бере участь у підтриманні іонного гомеостазу. Окрім цього, за дії вільних радикалів можуть пошкоджуватись компоненти дихального ланцюга і ферменти матрикса у мітохондріях. Отже, пошкоджені процесами ПОЛ та ОМП мембрани клітини втрачають електророзбудливу функцію, енергетичний потенціал та контроль за іонними потоками і медіаторними функціями. Унаслідок цього виникають патологічні процеси в тканинах – запальні, нейродегенеративні, злоякісні, що призводять до загибелі клітини. Ініціатором цього процесу здебільшого є агресивний гідроксильний радикал (OH^\cdot) – акцептор атома водню від органічних сполук з утворенням вільного радикала ($\text{RH} + \text{OH}^\cdot \rightarrow \text{R}^\cdot + \text{H}_2\text{O}$) [10].

З огляду на це, уникнути різноманітних ускладнень у перебігу захворювань можна, забезпечивши своєчасне блокування пускового механізму патології, тобто зниження інтенсивності ПОЛ та ОМП в організмі за допомогою антиоксидантів.

Тому пошук нових лікарських препаратів для коригування стресу, а також комплексне використання антиоксидантів і засобів природного походження як стрес-коректорів має велике практичне значення [11, 12]. Останнім часом велику увагу приділяють вивченню антиоксидантної активності екстрактів лікарських рослин (ЛР), які

широко застосовують у народній та офіційній медицині, також у космецевтиці.

Фіторесурси природної флори України налічують багато цінних видів дикорослих ЛР, що містять унікальні біологічно активні речовини (БАР). Хімічна природа: БАР ЛР вирізняються м'якістю, на протигагу синтетичним сполукам, мають власну специфічну фізіологічну активність, порівняно із синтетичними аналогами. Найкращими рослинними антиоксидантами є фенольні сполуки, флавоноїди, каротиноїди, аскорбінова кислота тощо. В організмі людини флавоноїди беруть участь у окисно-відновних процесах, створюють потужний антиоксидантний захист проти руйнівної дії вільних радикалів. Важливими властивостями оксидантів із ЛР є виражений синергізм дії з антиоксидантними вітамінами, зокрема, з аскорбіновою кислотою, та здатність інгібувати в циклі арахідонової кислоти ферментну активність, пригнічуючи утворення АФК [13].

Ведучи пошук терапевтичних препаратів антистресової дії з метою використання антиоксидантів природного походження як стрес-коректорів, ми використали у дослідженнях екстракти трави відкасника безстеблового (*Carlina acaulis* L.), арніки гірської (*Arnica montana* L.) та календули лікарської (*Calendula officinalis* L.).

Препарати *Carlina acaulis* характеризуються широким спектром фармакологічних властивостей. У міцних відварах їх здавна застосовують від лихоманки, шкірних висипів, рваних ран для швидкого загоєння, для лікування і профілактики багатьох застудних захворювань. Корінь ЛР також застосовують як дієтичну добавку до тваринного корму для стимуляції апетиту та як засіб від кишкових паразитів. Обмеженими є результати дослідження *in vitro* на коренях *Carlina acaulis* для ширшого використання в офіційній медицині [14, 15].

Багатогранний хімічний склад відкасника безстеблового визначає його достатню фармакологічну дію [16]. Досліджено також бензил-2-фурацителен (оксид карліну), який є основною частиною ефірної олії із коренів ЛР та має дезінфікувальну дію [17]. Екстракти з кореня ЛР мають цінні БАР та можуть бути використані під час виготовлення продукції хімічної, фармацевтичної, косметичної, харчової та інших галузей промисловості [18, 19].

Арніка гірська (*Arnica montana* L.) є ендеміком Європи, трапляється на території України в Карпатах, найчастіше у Закарпатті. Офіційно визнана сучасною медициною, має багатий склад БАР, її еколого-біологічні особливості досі вивчають [20]. З лікувальною метою збирають різні частини рослини: суцвіття, кореневища, коріння і листя.

Arnica montana є джерелом сесквітерпенів, етерних олій, терпеноїдів, сесквітерпенових лактонів, флавоноїдів і фенольних кислот, особливо хлорогенових кислот [21], виявляє антисептичну, протизапальну, антибактеріальну, антисклеротичну, протигрибкову та антиоксидантну дію [22, 23]. Мазі та водно-спиртові екстракти арніки проявляють протизапальну, бактерицидну [24], протиневралгічну, протиревматичну, антисептичну, протиподразнювальну і ранозагоювальну дію [25]. Також препарати арніки використовують місцево для лікування фурункулів, синців, контузій, набряків, гематом, укусів комах, болю в суглобах (зокрема унаслідок ревматичних захворювань), розтягнень, флебітів, тромбозів, болю у м'язах [26].

Статус перспективного об'єкта для дослідження має також календула лікарська (*Calendula officinalis* L.), навіть попри те, що її здавна використовує офіційна медицина. РС переважно слугують висушені суцвіття (квітки), у них значний ресурс, є можливість культивування [27]. Якість сировини регламентується за вмістом флавоноїдів згідно з Державною фармакопеею України та Європейською фармакопеею.

Унікальний склад суцвіття рослини володіє багатьма лікувальними властивостями (протизапальною, протимікробною дією), запобігає розвитку пролежневих ран, допомагає швидкому загоєнню шкірного покриву (порізи, тріщинки, судинні сіточки, заїди). Також календула має в'язучу, жовчогінну і спазмолітичну дію, є стабілізатором підвищеного артеріального тиску, стимулятором роботи серцевого м'яза, антикоагулянт, седативним препаратом. Широко застосовують у косметичній олію з календули для лікування опіків, зокрема у маленьких дітей.

Основними БАР *Calendula officinalis* є фенольні сполуки (таніни, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди) та терпеноїди (етерна олія). Сапоніни містяться у всіх органах рослини, а

насіння збагачене жирною олією і алкалоїдами. Згідно із результатами досліджень, траву, листя і суцвіття розглядають як перспективні джерела для виробництва нових лікарських засобів з антимікробною та антиоксидантною дією. Корені використовують як джерело інуліну тощо [28]. Поєднуючи різні групи БАР у різних лікарських формах, виготовлених на основі календули, можна забезпечити високий антиоксидантний потенціал препаратів на їх основі.

Ураховуючи величезний комплекс природних антиоксидантів, які входять до складу вищезгаданих рослин, підбір спеціальних умов їх екстрагування, надзвичайно актуальні дослідження нових препаратів та харчових добавок з екстрактів відкасника безстеблового, арніки гірської та календули лікарської на процеси біологічного окиснення для підвищення стресостійкості та корекції метаболічних порушень в організмі тварин та людини. Дослідження антиоксидантної дії екстрактів рослинної сировини актуальне і дасть можливість оцінити ступінь їх ефективності.

Мета цієї роботи – одержання екстрактів з лікарської сировини в лабораторних умовах та дослідження їх антиоксидантних властивостей.

Матеріали та методи досліджень

Об'єктом досліджень були кореневища відкасника безстеблового (*Carlina acaulis* L.), суцвіття арніки гірської (*Arnica montana* L.) та календули лікарської (*Calendula officinalis* L.).

Методика одержання екстрактів. У дослідженнях використовували рослинну сировину (РС), зібрану в природних місцях зростання (Сколівський район, Львівська область). Висушували траву згідно зі стандартними вимогами заготівлі лікарських трав – в темному, сухому і добре провітрюваному місці. Висушену рослинну сировину подрібнювали в ступці та просіювали через сито із діаметром отворів 3,0 мм та поміщували в екстрактори. Екстракцію здійснювали методом мацерації у співвідношенні сировина : екстрагент – 1:10 за температури екстракції 20 °С протягом семи діб з періодичним перемішуванням. Як екстрагент використано водно-спиртовий розчин з вмістом етилового спирту 40 % та 70 %. Після закінчення екстрагування екстракт відфільтровували.

Приготування гомогенату печінки щура.

До 0,5 г розмороженої та подрібненої тканини печінки щура додавали 5 мл калій-фосфатного буфера. До 0,3 мл одержаного гомогенату додавали 0,3 мл досліджуваних екстрактів, а у контроль – відповідні їм розчинники. Для індукції ПОЛ додавали 0,3 мл 2,8 % розчину FeSO_4 та через 10 хв – 0,3 мл 4 % розчину H_2O_2 й інкубували 2 год. Реакцію зупиняли за допомогою 1,2 мл 40 % трихлороцтової кислоти, яка одночасно осаджує білки, після чого виконували центрифугування упродовж 10 хв за 5000 обертів/хв. Контрольні зразки містили відповідні екстрагенти без діючої речовини. Визначення обох показників оксидативного стресу здійснювали в одній пробі – вміст ТБК-активних продуктів визначали в супернатанті, а КГ – в осаді за методикою В. І. Луцка [29].

Методика визначення вмісту ТБК-активних продуктів (ТБКАП). У взятих зразках реакцією малонового діальдегіду (МДА) з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) визначали вміст ТБКАП перекисного окиснення ліпідів. За високої температури в кислому середовищі МДА реагує з ТБК, утворюючи забарвлений триметиновий комплекс із максимумом поглинання $\lambda=532$ нм. До 2 мл супернатанту додавали 1,5 мл 0,8 % розчину ТБК в 0,01М HCl ($\text{pH}=2,5$) та інкубували на водяній бані за 95–100 С протягом 60 хв. Після охолодження додавали 3 мл бутанолу, центрифугували впродовж 10 хв за 5000 обертів/хв. Екстинкцію вимірювали у верхньому бутаноловому шарі за $\lambda=532$ нм на спектрофотометрі ULAB 108 UV. Кількість білка у пробах визначали за методом Лоурі (Lowry, 1951). Розрахунок виконували за формулою:

$$[\text{ТБКАП}] = \frac{E \cdot V_1 \cdot V_2}{\varepsilon \cdot V \cdot C} \text{ мкмоль / мгбілка, (1)}$$

де E – екстинкція дослідної проби; Σ – мілімолярний коефіцієнт екстинкції ($\Sigma = 156 \text{ см}^2/\text{мкмоль}$); V_1 – об'єм бутанолу, мл; V_2 – об'єм проби, мл; V – об'єм супернатанту, мл; C – концентрація білка в супернатанті, мкмоль.

Методика визначення вмісту карбонільних груп (КГ) протеїнів. Ступінь ОМБ визначали за кількістю утворених додаткових КГ у бічних ланцюгах амінокислот, вміст яких визначали в реакції з 2,4-динітрофенілгідрaziном (ДНФГ). Для

визначення вмісту КГ білків до одержаних осадів, після центрифугування гомогенатів, додавали 1 мл 1 % розчину ДНФГ на 2М HCl . Суміш розтирали та інкубували 1 год за кімнатної температури, після чого центрифугували 10 хв за 5000 об./хв. Осад тричі промивали 1 мл суміші етанолу та етилацетату (1:1) і центрифугували в попередньому режимі. Промитий осад розчиняли протягом 45 хв у 3 мл 50 % розчині сечовини. Нерозчинений матеріал відділяли центрифугуванням у попередньому режимі. В супернатантах визначали вміст КГ протеїнів на спектрофотометрі ULAB 108 UV за довжини хвилі $\lambda=370$ нм (поглинанням світла 2,4-дифенілгідразонами). Обчислювали вміст КГ за формулою:

$$[\text{КГ}] = \frac{\Delta D \cdot V_{\text{проби}}}{E_{370} \cdot C} \text{ нмоль / мгбілка, (2)}$$

де ΔD – значення різниці оптичних густин дослідної та контрольної проб ($\Delta D = D_{\text{досл.}} - D_{\text{контр.}}$); $V_{\text{проби}}$ – об'єм проби (3 мл); E_{370} – коефіцієнт молярної екстинкції ДНФГ ($22000 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$); C – концентрація загального білка, мг/мл.

Статистичний аналіз. Дані дослідження обробляли статистично з урахуванням середнього арифметичного M та стандартної похибки SE у вигляді ($M \pm SE$) за $n=5$. Відмінності між експериментальними даними визначали за допомогою тесту Тьюкі однофакторного аналізу (ANOVA), згідно із яким відмінності вважали достовірними, якщо $p < 0,05$ [30]. Результати подано у вигляді діаграм.

Результати досліджень та їх обговорення

Виконавши дослідження ПОЛ та ОМП (рис. 1–4), ми встановили, що порівняно з контролем за дії усіх досліджуваних екстрактів спостерігається значне (>50 %) зниження вмісту ТБКАП та утворення КГ протеїнів. Це підтверджує високі антиоксидантні властивості отриманих екстрактів.

Як видно з діаграм, найефективнішими серед досліджуваних 40 % та 70 % етанольних екстрактів щодо показників оксидативного стресу виявились арніка та календула. Під впливом цих екстрактів у концентрації 40 % спостерігається зниження вмісту ТБКАП на 95,8 % для арніки та на 91,5 % для календули ($p \leq 0,005$), а вмісту КГ протеїнів – на 93,1 % та на 90,3 % відповідно,

порівняно із контролем ($p \leq 0,001$). За впливу 70 % екстрактів спостерігається зниження вмісту ТБКАП на 86,7 % для арніки та на 95,9 % для календули ($p \leq 0,001$), а вмісту КГ протеїнів – на 85 % та на 93,9 % відповідно порівняно з контролем ($p \leq 0,001$). Менш виражену, хоча й високу антиоксидантну активність порівняно з

контролем проявив відкасник у концентрації 40 % та 70 %. За дії відкасника у концентрації 40 % вміст ТБКАП становив ($69,6 \pm 10,3$) %, а КГ протеїнів – ($38,6 \pm 5,0$) % ($p \leq 0,001$). Застосування відкасника у концентрації 70 % сприяло зниженню вмісту ТБКАП на 57,6 % та КГ протеїнів – на 70,7 % відповідно ($p \leq 0,001$).

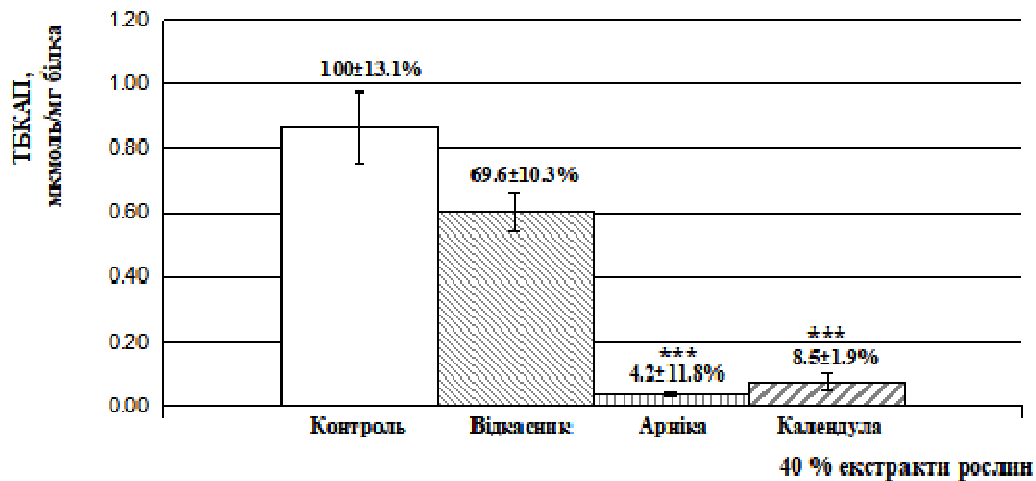


Рис. 1. Вміст ТБКАП у гомогенаті печінки щура за дії 40 % екстрактів рослин (***) – $p \leq 0,005$; $M \pm m$; $n=5$)

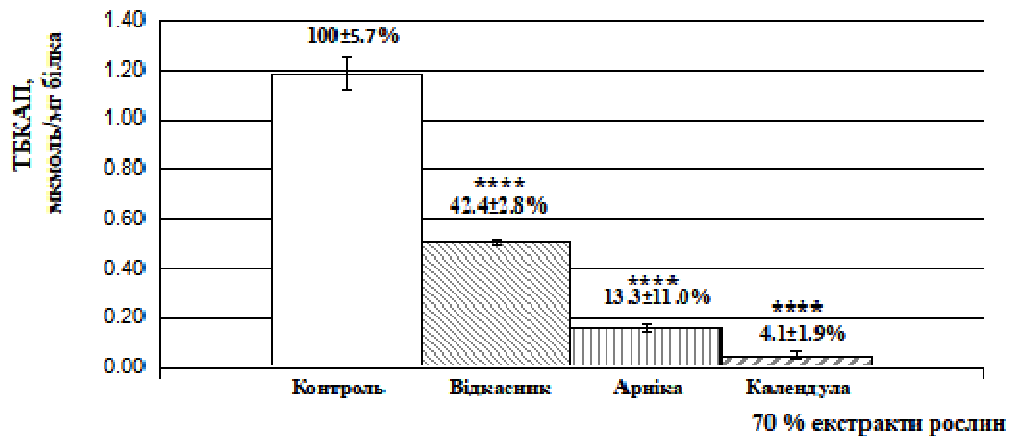


Рис. 2. Вміст ТБКАП у гомогенаті печінки щура за дії 70 % екстрактів рослин (**** – $p \leq 0,001$; $M \pm m$; $n=5$)

Наші дослідження підтвердили наявність у РС антиоксидантів різної природи.

Арніка багата на діоксикарбонові кислоти. Серед них, зокрема, кофейна та хлорогенова кислоти. Перша із них має відновні властивості, тому, введена в організм, вона бере активну участь в окисно-відновних реакціях. Окрім того, вона виявляє антибактеріальну, протигрибкову, анти-

оксидантну активність. А хлорогеновим та іншим фенолкарбоновим кислотам притаманна жовчогінна, сечогінна, капіляррозміцнювальна, проти-запальна, антиоксидантна та мембранопротекторна дія. Також арніка багата на флавоноїди. Це група антиоксидантних сполук, що складається із флавонолів, антоціанів, флаванолів, ізофлавоноїдів та флавонів. Найефективнішими серед

них є кверцетин, лутеолін, кемпферол, катехін та катехінгалат. Особливо кверцетин і лутеолін є потенційними інгібіторами ксантиноксидази, яка бере участь у процесах оксидативного ушкодження [31]. Однією із найважливіших фенольних речовин, виділених із суцвіть арніки, є кверцетин – найпоширеніша агліконова сполука флавонових глікозидів. Кверцетин має гепато- та радіопротекторну, протипухлинну, імуностимулювальну дію, інгібує активність ферменту 5'-ліпоксигенази [КФ 1.99.2.1], котрий є інгібітором

лейкотриєнів. Протиокиснювальні властивості кверцетину пов'язані із його здатністю нейтралізувати в організмі вільні радикали та зв'язувати надлишок іонів металів змінної валентності. Важливою групою флавоноїдів є антоціани, якими багата арніка і календула. Завдяки своїй антиоксидантній активності антоціани пригнічують негативний вплив вільних радикалів, які прискорюють старіння організму. Вони захищають клітини від окисного стресу і мутацій ДНК, які сприяють утворенню онкологічного процесу.

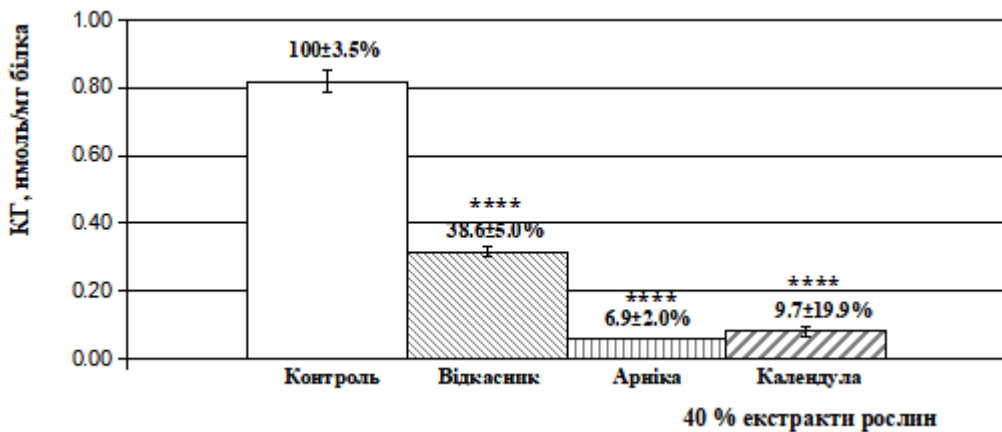


Рис. 3. Вміст карбонільних груп протеїнів у гомогенаті печінки щура за дії 40 % екстрактів рослин (****- $p \leq 0,001$; $M \pm m$; $n=5$)

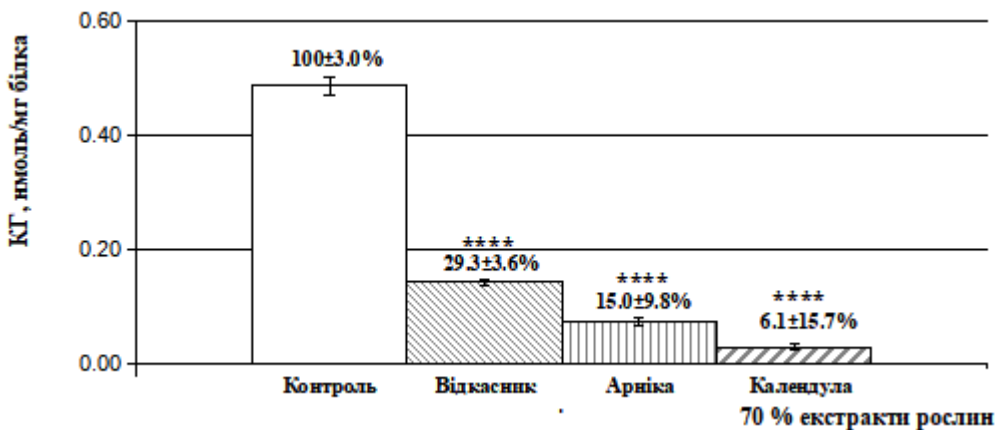


Рис. 4. Вміст карбонільних груп протеїнів у гомогенаті печінки щура за дії 70 % екстрактів рослин (****- $p \leq 0,001$; $M \pm m$; $n=5$)

Цікаво, що 70 % екстракт календули проявляє більші антиоксидантні властивості, ніж його 40 % екстракт. Це, очевидно, пов'язано з тим, що найбільше флавоноїдів вивільняє водно-етанольний розчин вищої концентрації. В організмі лю-

дини флавоноїди зумовлюють значний антиоксидантний ефект, беручи участь в окисно-відновних процесах. Їх фенольна структура забезпечує здатність протидіяти процесам пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), а також утво-

ривати хелатні комплекси з металами. Флавоноїди інгібують активність ферментів у циклі арахідонової кислоти і, тим самим, пригнічують утворення АФК. Доведено синергетичну дію флавоноїдів із антиоксидантними вітамінами, зокрема, з аскорбіновою кислотою [32]. Одними із напоширеніших і ефективних антиоксидантів вважають також каротиноїди. Суцвіття *C. officinalis* містять каротиноїди (приблизно 3 % у перерахунку на суху масу), зокрема каротин та лікопін, а також ксантофіли (оксигеновмісні похідні каротину) – віолаксантин, рубіксантин, цитроксантин, флавоксантин, лютеїн, неуроспорин, хризантемаксантин, зеаксантин, флавохром [33–35].

На відміну від арніки та календули, відкасник має дещо меншу антиоксидантну активність. Зниження рівня ПОЛ та ОМБ у дослідженні пояснюється лише наявністю у корінні інуліну. Показано [36], що інулін зменшував концентрацію у крові малонового альдегіду (вторинного продукту ПОЛ) та збільшував активність ферменту каталази, що належить до антиоксидантної системи захисту клітини від вільних радикалів.

Система антиоксидантного захисту (АОЗ) на рівні усього організму представлена ензиматичною та неензиматичною ланками. Ми досліджували РС лише неензиматичної ланки, визначаючи концентрацію ТБКАП та КГ протеїнів. Своєю чергою, ензиматична складова містить ферменти, які забезпечують знешкодження вільних радикалів. Основні антиоксидантні ферменти – супероксиддисмутаза (СОД) і каталаза. СОД нейтралізує супероксидний іон-радикал, трансформуючи його у воду і пероксид водню. А пероксид водню знешкоджується ферментом АОЗ каталазою. Головним фактором підтримання внутрішньоклітинного редокс-гомеостазу є також відновлений глутатіон (GSH). Він безпосередньо інактивує активні форми кисню і функціонує як кофактор і косубстрат GSH-залежних ферментів.

Введення екзогенних антиоксидантів із харчовими продуктами та фармпрепаратами допомагає ендогенним антиоксидантам в нейтралізації оксидативного стресу та збільшує захисну активність системи. Унікальність природних антиоксидантів полягає у тому, що вони проявляють свою захисну дію спільно, тому зниження вмісту одного призводить до порушення в роботі всієї системи АОЗ загалом. Дефіцит як ендогенних, так

і екзогенних антиоксидантів – одна із причин численних хронічних та дегенеративних патологій, оскільки кожен із них є речовиною, унікальною за структурою та антиоксидантною функцією, і незамінний у процесах посиленого генерування вільних радикалів [37]. У цьому аспекті дослідження антиоксидантних властивостей складових фітоекстрактів на організм в умовах стресових ситуацій різної етіології завжди будуть актуальними.

Висновки

Отримано 40 % та 70 % водно-етанольні екстракти з ЛР – відкасника безстеблового (*Carlina acaulis* L.), арніки гірської (*Arnica montana* L.), календули лікарської (*Calendula officinalis* L.).

Всі отримані екстракти за двома показниками оксидативного стресу мають високі антиоксидантні властивості, і, відповідно, здатні зменшувати утворення вільних радикалів у протеїнах та ліпідах.

Екстракти арніки та календули на гепатоцитах печінки щура в умовах ініціювання вільнорадикального окиснення *in vitro* показали найкращі антиоксидантні властивості за двома показниками оксидативного стресу, зменшуючи рівень ТБКАП та КГ протеїнів більше ніж на 50 % порівняно з контролем.

Екстракт арніки у концентрації 40 % виявив дещо кращі антиоксидантні властивості, ніж його 70 % екстракт.

Виявлена висока антиоксидантна активність отриманих екстрактів свідчить про доцільність їх застосування в умовах вільнорадикального стресу, але для встановлення механізму їх дії необхідно виконати додаткові дослідження на активність системи антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази. Отже, екстракти відкасника безстеблового (*Carlina acaulis* L.), арніки гірської (*Arnica montana* L.) та календули лікарської (*Calendula officinalis* L.) є перспективними для подальшого вивчення та використання їх сировини як джерела біологічних активних речовин для розроблення нових функціональних продуктів.

References

1. Rabasa, C., Dickson, S. L. (2016). Impact of stress on metabolism and energy balance. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 9, 71–77. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2016.01.011>

2. Gupta, R. K., Patel, A. K., Shah, N., Choudhary, K. A., Jha, U. K., Yadav, U. C., Gupta, P. K., & Pakuwal, U. (2014). Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: A Review. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(11), 4405–4409. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.11.4405>
3. Petersen, R. C. (2017). Free-radicals and advanced chemistries involved in cell membrane organization influence oxygen diffusion and pathology treatment. *AIMS Biophysics*, 4(2), 240–283. <https://doi.org/10.3934/biophy.2017.2.240>
4. Buchko, O., Havryliak, V., Yaremkevych, O., Konechna, R., & Ohorodnyk, N. (2019). Metabolic processes in the organism of animals under the action of plant extract. *Regul. Mech. Biosyst.*, 10(2), 149, 3–12. <https://doi.org/10.15421/021922>
5. Bhatti, J. S., Sehrawat, A., Mishra, J., Sidhu, I. S., Navik, U., Khullar, N., Kumar, S., Bhatti, G. K., & Reddy, P. H. (2022). Oxidative stress in the pathophysiology of type 2 diabetes and related complications: Current therapeutics strategies and future perspectives. *Free Radical Biology and Medicine*, 184(1), 114–134. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.03.019>
6. Barrera, G. (2012). Oxidative stress and lipid peroxidation products in cancer progression and therapy. *ISRN Oncol*, 137289.
7. Simonian, N. A., & Coyle, J. T. (1996). Oxidative stress in neuro-degenerative diseases. *Annu. Rev. Pharmacol Toxicol*, 36, 83–106.
8. Ray, P. D., Huang, B. W., & Tsuji, Y. (2012). Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal*, 24(5), 981–90.
9. Srikanthan, K., Shapiro, J. I., & Sodhi, K. (2016). The Role of Na/K-ATPase Signaling in Oxidative Stress Related to Obesity and Cardiovascular Disease. *Molecules*, 21(9), 1172. <https://doi.org/10.3390/molecules21091172>
10. Shapoval, H. S. (2003). Mechanisms of antioxidant protection of the body under the action of active forms of oxygen. *Ukraine biochem. journal*, 75(2), 5–13.
11. Mizutani, T., & Masaki, H. (2014). Anti-photoaging capability of antioxidant extract from *Camellia japonica* leaf. *Experimental Dermatology*, 23(1), 23–26. <https://doi.org/10.1111/exd.12395>
12. Ahn, K. (2017). The worldwide trend of using botanical drugs and strategies for developing global drugs. *Biochemistry & Molecular Biology Reports*, 50(3), 111–116. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2017.50.3.221>
13. Chekman I. S. (2000). Flavonoyidy – kliniko-farmakolohichnyy aspekt. *Fitoterapiya v Ukrayini*, No. 2, 3–5.
14. Pavela, R., Maggi, F., Petrelli, R., Cappellacci, L., Buccioni, M., Palmieri, A., Canale, A., & Benelli, G. (2020). Outstanding insecticidal activity and sublethal effects of *Carlina acaulis* root essential oil on the housefly, *Musca domestica*, with insights on its toxicity on human cells. *Food Chem. Toxicol.*, 136, 111037. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.111037>
15. Dordevica, S., Tadica, V., Petrovic, S., Kucic-Markovic, Je., Dobric, S., Milenkovic, M., & Hadzifejzovice, N. (2012). Bioactivity assays on *Carlina acaulis* and *C. acanthifolia* root and herb extracts. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 7(3), 1213–1222.
16. Strzemska, M., Wójciak-Kosiora, M., Sowaa, I., Załuskib, D., & Verpoortec, R. (2019). Historical and traditional medical applications of *Carlina acaulis* L. – A critical ethnopharmacological review. *Journal of Ethnopharmacology*, 239. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.111842>
17. Wnorowski, A., Wnorowska, S., Wojas-Krawczyk, K., Grenda, A., Staniak, M., Michalak, A., Woźniak, S., Matosiuk, D., Biała, G., Wójciak, M., Sowa, I., Krawczyk, P., & Strzemski, M. (2020). Toxicity of *Carlina Oxide* – A Natural Polyacetylene from the *Carlina acaulis* Roots – *in vitro* and *in vivo* study. *Toxins*, 12(4), 239. <https://doi.org/10.3390/toxins12040239>
18. Fedoryshyn, O. M., Petrina, R. O., Kravych, A. S., Kniazieva, K. S., Hubrii, Z. V., & Atamanuk, V. M. (2023). Research on aspects of the extraction kinetics of metabolites of *Carlina acaulis* while mixing. *Voprosy khimii i khimicheskoi tekhnologii*, 1(146), 3–10. <https://doi.org/10.32434/0321-4095-2023-146-1-3-10>
19. Konechna, R., Khropot, O., Petrina, R., Kurka, M., Gubriy, Z., & Novikov, V. (2017). Research of antioxidant properties of extracts of the plants and the callus biomass. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(7), 182–185.
20. Dadi, T. H., Vahjen, W., & Zentek, J. (2020). *Lythrum salicaria* L. herb and gut microbiota of healthy post-weaning piglets. Focus on prebiotic properties and formation of postbiotic metabolites in ex vivo cultures. *J. Ethnopharmacol*, 261.
21. Vorobets', N. M., & Pinyazhko, O. B. (2012). Fiziolohichno aktyvni rechovyny ta antyoksydantna aktyvnist' sutsvit' arniky hirs'koyi (*Arnica montana*). *Ukrayins'kyi farmatsevtichnyy zhurnal*, 1–2 (18–19), 82–85.
22. Pokorny, J. (2008). Application of phenolic antioxidants in food products. *EJEAF Chem.*, 7, 3320–3324.
23. Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Food.*, 63, 1035–1042.
24. Roki, D., Menkovic, N., Savikin-Fodulovic, K., Krviokuca-Dokic, D., Ristic, M., & Grubisic, D. (2001). Flavonoids and essential oil in flower heads of introduced *Arnica chamissonis*. *J Herbs Spices Med Plants*, 8(4), 19–27. https://doi.org/10.1300/J044v08n04_03
25. Abbasi, A. M., Khan, M. A., & Ahmad, M. (2010). Ethnopharmacological application of medicinal plants to cure skin diseases and in folk cosmetics among the tribal communities of North-West Frontier Province. *Ethnopharmacol*, 128, 322–335.

26. Spitaler, R., Schlorhauser, P. D., & Ellmerer, E. P. (2006). Altitudinal variation of secondary metabolite profiles in flowering heads of *Arnica montana*. *Phytochemistry*, 67, 409. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.11.018>
27. Della Loggia, R., Tubaro, A., Sosa, S., Becker, H., Saar, St., & Isaac, O. (1994). The role of triterpenoids in the topical antiinflammatory activity of *Calendula officinalis* flowers. *Planta Med.*, 60, 516–520. <https://doi.org/10.1055/s-2006-959562>
28. Sheludko, L. P., & Kutsenko, N. I. (2013). Medicinal plants (breeding and seed production): monograph. Poltava, 183–189.
29. Lushchak, V.I., Bahnyukava, T.V., & Luzhna, L.I. (2006). Pokaznyky oksydatyvnoho stresu. 2. Perekysy lipidiv. *Ukrayins'kyi biokhimichnyi zhurnal*, 78(5), 113–119.
30. Morgan, G. A., Leech, N. L., Gloeckner, G. W., & Barrett, K. C. (2012). *IBM SPSS for Introductory statistics. In: Use and Interpretation*, 4-th ed.; Routledge Taylor & amp; Francis Group, New York.
31. Prochazkova, D., Bousova, I., & Wilhelmova, N. (2011). Antioxidant and properties of flavonoids. *Fitoterapia*, 82, 513–523.
32. Chekman, I. S. (2000). Flavonoids are a clinical and pharmacological aspect. *Fitoterapiia v Ukraini*, 2, 3–5.
33. Kishimoto, S., Maoka, T., Sumitomo, K., & Ohmiya, A. (2005). Analysis of carotenoid composition in petals of *Calendula* (*Calendula officinalis* L.). *Biosci Biotechnol Biochem.*, 69(11), 2122–2128. <https://doi.org/10.1271/bbb.69.2122>.
34. Pintea, A., Bele, C., Andrei, S., & Socaciu, C. (2003). HPLC analysis of carotenoids in four varieties of *Calendula officinalis* L. flowers. *Acta Biologica Szegediensis*, 47(1–4), 37–40. <https://www2.sci.u-szeged.hu/ABS/2003/ActaHP/4737.pdf>.
35. Shahrbabaki, S. M. A. K., Zoalhasani, S., & Kodory, M. (2013). Effects of sowing date and nitrogen fertilizer on seed and flower yield of pot marigold (*Calendula officinalis* L.) in the Kerman. *Adv Environ Biol.*, 7, 3925–3929.
36. Lushchak, V. I., Bahnyukava, T. V., & Luzhna, L. I. (2006). Pokaznyky oksydatyvnoho stresu. 2. Perekysy lipidiv. *Ukrayins'kyi biokhimichnyi zhurnal*, 78(5), 113–119.
37. Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *W World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9–19. DOI: 10.1097/WOX.0b013e3182439613

O. S. Yaremkevych, O. M. Fedoryshyn

Lviv Polytechnic National University,
Department of Technology of Biologically Active Substances, Pharmacy and Biotechnology

**RESEARCH ON THE ANTIOXIDANT PROPERTIES
OF EXTRACTS FROM STEMLESS CARLINE THISTLE (*Carlina acaulis* L.),
MOUNTAIN ARNICA (*Arnica montana* L.) AND POT MARIGOLD (*Calendula officinalis* L.).**

The intensity of lipid peroxidation (LPO) and oxidative modification of proteins (OMP) was investigated under the influence of 40 % and 70 % aqueous-ethanol plant extracts (PE) of the root of *Carlina acaulis* L., flowers of *Arnica montana* L. and *Calendula officinalis* L. on rat liver hepatocytes under conditions of free radical oxidation initiation *in vitro*. Investigated plant extracts reduce the formation of free radicals in proteins and lipids, which is evidently associated with the presence of phenolic compounds, flavonoids, and polyphenols in the extracts. The best results were demonstrated by the plant extracts of arnica and calendula. Arnica extract at a concentration of 40 % exhibited better antioxidant properties than its 70 % extract.

Key words: antioxidant activity; plant extract; lipid peroxidation (LPO); oxidative modification of proteins (OMP); *Carlina acaulis* L.; *Arnica montana* L.; *Calendula officinalis* L.