

ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ И МЕМБРАНОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ ЛЮТЕОЛИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМ

© 2016 г. А.М. Попов* **, А.Н. Осипов***, Е.А. Корепанова***,
О.Н. Кривошапко*, А.А. Аргюков*, А.А. Климович*

*Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
690022, Владивосток, просп. 100-лет Владивостоку, 15

E-mail: popovam@piboc.dvo.ru

**Дальневосточный федеральный университет, 690000, г. Владивосток, ул. Октябрьская, 27;

***Российский государственный медицинский университет им. Н.И. Пирогова МЗ РФ,
117997, Москва, ул. Островитянова, 1

E-mail: osipov@fbm.msu.ru

Поступила в редакцию 30.09.15 г.

После доработки 21.04.16 г.

Лютеолин, водонерастворимый 3',4',5,7-тетрагидроксифлавоноид, является одним из наиболее хорошо изученных представителей биофлавоноидов. Лютеолин является незаменимым компонентом пищи человека и других млекопитающих, который, изменяя активность различных ферментов обмена веществ, рецепторов-мишеней и сигнальных трансдукторных путей, обладает широким спектром биологической активности. В данной работе мы провели сравнительное исследование антиоксидантных (радикалперехватывающих) свойств лютеолина в системах 2,2'-азо-бис(2-метилпропионамидин)дигидрохлорид–люминол и гемоглобин–пероксид водорода–люминол и оценили его влияние на проницаемость плоских бислойных липидных мембран. Тролокс был использован в качестве эталонного антиоксиданта, а аскорбиновая кислота и дигидрокверцетин взяты в качестве стандартов. Лютеолин показывает умеренную антиоксидантную активность, проявляя более высокий антиоксидантный потенциал, чем тролокс и аскорбиновая кислота, но уступает дигидрокверцетину в тестах по антиоксидантной активности в исследованных системах. По эффективности антиоксидантного действия исследуемые вещества могут быть выстроены в следующий ряд: дигидрокверцетин > лютеолин > тролокс > аскорбиновая кислота. Следует подчеркнуть, что водорастворимая форма лютеолина – дисульфат лютеолина – не уступает ему по антиоксидантной активности. Лютеолин не вызывает значимого изменения проницаемости плоских бислойных мембран в диапазоне доз от 1,5 до 30 мкМ. Полученные нами данные свидетельствуют о наличии у лютеолина достаточно высокой радикалперехватывающей активности и об отсутствии первичного мембранотропного действия. Можно предположить, что отмеченный для лютеолина множественный плейотропный характер активности в отношении различных биологических систем связан не только с нейтрализующим эффектом в отношении активных форм кислорода, но и со способностью лютеолина как блокировать, так и модулировать различные клеточные сигнальные процессы и биохимические пути. Предполагаемые механизмы биологической активности лютеолина и дисульфата лютеолина обсуждаются.

Ключевые слова: биофлавоноиды, флавоны, лютеолин, дисульфат лютеолина, антиоксиданты, противовоспалительная активность.

Лютеолин (ЛТ), водонерастворимый 3',4',5,7-тетрагидроксифлавоноид (рис. 1а), является одним из наиболее хорошо изученных представителей флавоноидов. ЛТ является незаменимым компонентом пищи человека и других

млекопитающих, который, изменяя активность различных ферментов обмена веществ, рецепторов-мишеней и сигнальных трансдукторных путей, обладает широким спектром фармакологической активности, включая онкологические заболевания. При этом следует отметить, что до настоящего времени при его применении не зарегистрировано каких-либо серьезных побочных эффектов [1–4].

Сокращения: ЛТ – лютеолин, ДГК – дигидрокверцетин, ААРН – 2,2'-азобис(2-метилпропионамидин)дигидрохлорид, АОА – антиоксидантная активность.

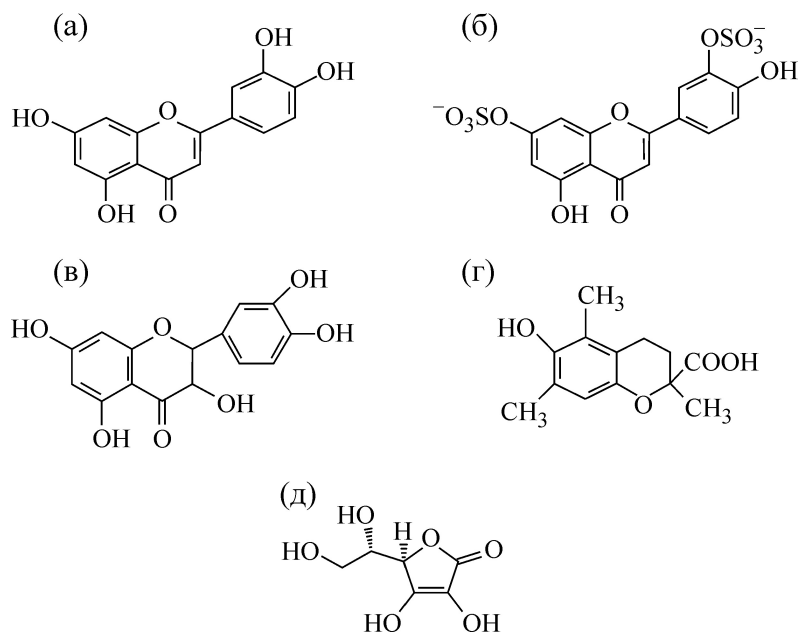


Рис. 1. Химические структуры исследуемых веществ – лютеолина (а), 7,3'-дисульфат лютеолина (б), дигидрокверцетина (в), тролокса (г), аскорбиновой кислоты (д).

Более того, при терапевтическом использовании препаратов на основе ЛТ было показано, что они обеспечивают надежную защиту от перекисного окисления липидов, предотвращая развитие патологических процессов, индуцированных усилением процессов перекисного окисления липидов в организме. Наряду с антиоксидантными свойствами ЛТ проявляет противоаллергическое, противоопухолевое, гипогликемическое (регулирует уровень глюкозы в крови, улучшая чувствительность к инсулину), спазмолитическое, противовоспалительное, желчегонное, капилляроукрепляющее, болеутоляющее (в мышцах) действие и многие другие терапевтические эффекты [5–8].

Хорошо известно [1–4], что ЛТ может значительно уменьшать избыточное образование активных форм кислорода и, тем самым, предотвращать повреждения, индуцированные «окислительным стрессом» на клеточном и молекулярном уровне. Следовательно, эффективная нейтрализация формирующихся внутриклеточных свободных радикалов с помощью ЛТ и его производных может стать основой терапевтического подхода, направленного на предотвращение окислительного стресса и связанных с ним осложнений при болезнях воспаления, к которым относятся онкологические, сердечно-сосудистые и многие другие заболевания.

Учитывая отмеченный выше широкий спектр биологической активности ЛТ и его фармакологическую перспективность как по-

тенциального противовоспалительного средства, цель настоящей работы состояла в проведении исследования антиоксидантных (радикал-перехватывающих) свойств ЛТ в системах 2,2'-азо-бис(2-метилпропионамидин)дигидрохлорид-люминол и гемоглобин- H_2O_2 -люминол в сравнении с тролоксом, аскорбиновой кислотой и дигидрокверцетином (ДГК), а также в оценке его мембранотропной активности с использованием плоских бислойных липидных мембран. Кроме того, в данной работе мы определили протективную активность ЛТ и его дисульфатированного производного (рис. 1б) в отношении перекисного окисления линолевой кислоты в сравнении с известными антиоксидантами – тролоксом, ДГК и розмариновой кислотой.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Лютеолин и дисульфат лютеолина были выделены из морской травы *Z. marina* в лаборатории биотехнологии ТИБОХ ДВО РАН согласно работе [9]. В настоящей работе были использованы: 2,2'-азобис(2-метилпропионамидин)дигидрохлорид (ААРН), гемоглобин, аскорбиновая кислота, розмариновая кислота (Sigma-Aldrich, США); люминол, тролокс (Fluka, Германия); ДГК (ОАО «Диод», Россия); K_2HPO_4 , КОН, диметилсульфоксид («Химмед», Россия).

Антиоксидантные свойства ЛТ изучали с помощью двух хемилюминесцентных модель-

ных систем окисления: гомогенной системы, состоящей из гемоглобина, пероксида водорода и люминола и гомогенной системы, представляющей собой раствор азосоединения ААРН и люминола, как описано ранее [10].

Исходя из отношения концентрации тролокса (C_T) к концентрации исследуемого препарата (C_X) в модельной системе, по рассчитанным значениям констант K_X и K_T определяли величину антиоксидантной активности (АОА) исследуемых препаратов:

$$AOA = C_T / C_X = K_X / K_T,$$

где K_X – константа изменения латентного периода для исследуемого вещества; K_T – константа изменения латентного периода для тролокса.

В наших исследованиях тролокс (рис. 1г) был использован в качестве эталонного антиоксиданта, а ДГК и аскорбиновая кислота (рис. 1в,д) – как известные стандартные антиоксиданты. ЛТ, тролокс и ДГК сначала растворяли в этаноле до концентрации 10 мМ, затем полученный раствор разводили фосфатным буфером до концентрации 100 мкМ и использовали в работе. Все растворы были приготовлены непосредственно перед экспериментом.

Измерение хемилюминесценции, сопровождающей окисление люминола в системе гемоглобин– H_2O_2 –люминол, проводили согласно работе [10]. В кювету хемилюминометра последовательно добавляли стандартные ингредиенты и определенный объем исследуемого вещества. Инициирование окисления люминола осуществляли введением 90 мкМ перекиси водорода. Исследуемые вещества добавляли перед введением H_2O_2 .

АОА препаратов в системе ААРН–люминол также определяли по окислению люминола, инициированному пероксильными радикалами, согласно работе [10]. В среду инкубации, содержащую люминол, вводили ААРН и измеряли контрольную хемилюминограмму. Кинетику хемилюминесценции регистрировали в присутствии исследуемых веществ, которые добавляли в инкубационную среду перед вводом ААРН.

Действие ЛТ на электрическую проводимость плоских фосфолипидных мембран оценивали, как описано ранее [10]. Для формирования модельных мембран использовали раствор азолектина в декане (25–30 мг/мл). Стандартное измерительное напряжение равнялось 50 мВ.

Перекисное окисление линолевой кислоты оценивали ферритиоцианатным методом [11].

Растворы, содержащие 1 мл каждого из исследуемых образцов, а также 2 мл 2,5%-й линолевой кислоты в этаноле, 4 мл 0,02 М фосфатного буфера (рН 7,0), 0,4 мл 100 мМ ААРН и 2 мл дистиллированной воды, смешивали друг с другом и помещали в термостат на 3 ч при 37°C. Из реакционной смеси через 24 ч брали аликвоты по 0,1 мл и разбавляли их 9,7 мл 75%-го этанола, а затем добавляли 0,1 мл 30%-го раствора тиоционата алюминия и 0,1 мл 0,02 М раствора соляной кислоты. Абсорбцию исследуемых растворов измеряли на спектрофотометре при 500 нм через 24 ч, когда она достигла максимального значения в контроле.

Для математической обработки экспериментального материала мы использовали программу Microsoft Excel 7,0 с применением методов вариационной статистики и вычислением средней арифметической величины (M), среднего квадратичного отклонения (C), ошибки средней арифметической (m) и t -критерия Стьюдента. Достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования АОА лютеолина проводили с использованием двух модельных тестов – системы гемоглобин– H_2O_2 и системы, содержащей азоинициаторы. Количественной мерой АОА является длительность периода, в течение которого хемилюминесценция была снижена в результате присутствия антиоксиданта в реакционной среде. Необходимость использования данных модельных систем была продиктована желанием исследовать радикалперехватывающую способность исследованных соединений в отношении двух типов радикалов – гидроксиланионов, образующихся в системе гемоглобин– H_2O_2 , и алкилперекисных радикалов, образующихся в системе, которая содержит азоинициаторы [10]. Чем больше величина АОА у исследуемого препарата, тем эффективнее он перехватывает радикалы-инициаторы в данной модельной системе.

На рис. 2 представлены кинетики хемилюминесценции системы гемоглобин– H_2O_2 –люминол без исследуемых веществ и в присутствии тролокса, аскорбиновой кислоты, ДГК и ЛТ. При проведении этих экспериментов максимальная интенсивность свечения (амплитуда хемилюминесценции) и время от момента введения H_2O_2 до начала развития свечения (латентный период) были выбраны в качестве измеряемых параметров.

На рис. 3 приведены данные о влиянии тролокса, аскорбиновой кислоты, ДГК и ЛТ

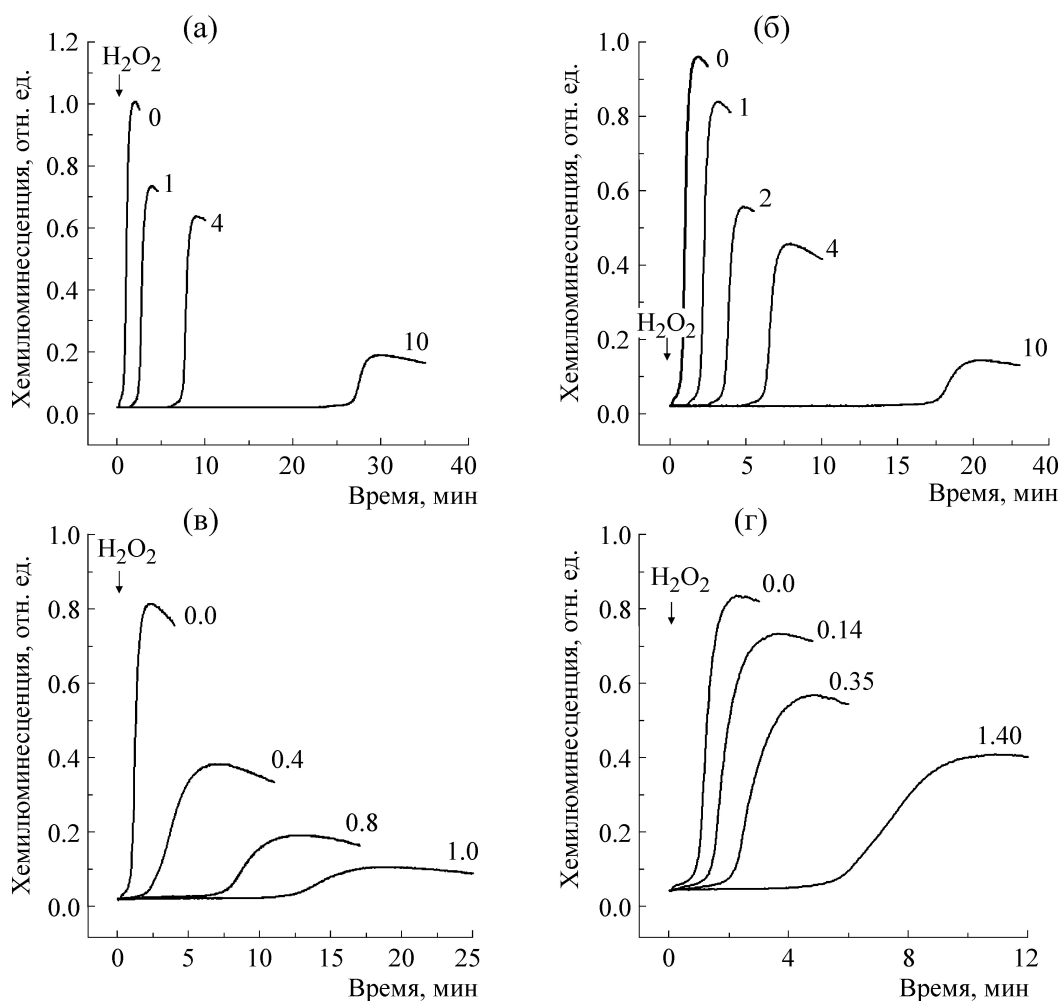


Рис. 2. Кинетики хемилюминесценции системы гемоглобин–H₂O₂–люминол в присутствии тролокса (а), аскорбиновой кислоты (б), дигидрокверцетина (в) и лутеолина (г). Цифры у кривых – концентрация исследуемых веществ (мкМ). По оси ординат – интенсивность хемилюминесценции (отн. ед.).

на амплитуду и латентный период хемилюминесценции в модельной системе гемоглобин–H₂O₂–люминол. Окисление люминола сопровождается образованием радикала люминола и в конечном итоге приводит к образованию возбужденного продукта окисления, который переходит в основное состояние с высвечиванием кванта света хемилюминесценции. Количество выделившихся квантов света хемилюминесценции пропорционально количеству образовавшегося конечного продукта окисления и, следовательно, является мерой окисленности люминола. Добавление в данную модельную систему веществ, способных препятствовать окислению люминола (антиоксидантов), приводит к уменьшению количества квантов света хемилюминесценции [10].

Измерив кинетику интенсивности хемилюминесценции в системе гемоглобин–H₂O₂–люминол в присутствии тролокса, ДГК, аскорби-

новой кислоты и ЛТ, мы произвели сравнительный расчет их антиоксидантных свойств. В левой части табл. 1 представлены значения констант тушения хемилюминесценции модельной системы гемоглобин–H₂O₂–люминол, которые свидетельствуют о том, что ЛТ близок по АОА с тролоксом, но эта активность более чем в два раза выше, чем у аскорбиновой кислоты, и примерно в три раза ниже, чем у биофлавоноида ДГК.

Для исследования антиоксидантных свойств ЛТ в качестве второй модельной системы мы использовали водную гомогенную систему на основе ААРН и люминола. Максимальная интенсивность свечения (амплитуда хемилюминесценции) и время от момента введения ААРН до начала развития свечения (латентный период) были выбраны в качестве измеряемых параметров. Как видно из данных, приведенных на рис. 4 и 5, ЛТ оказывает значительное

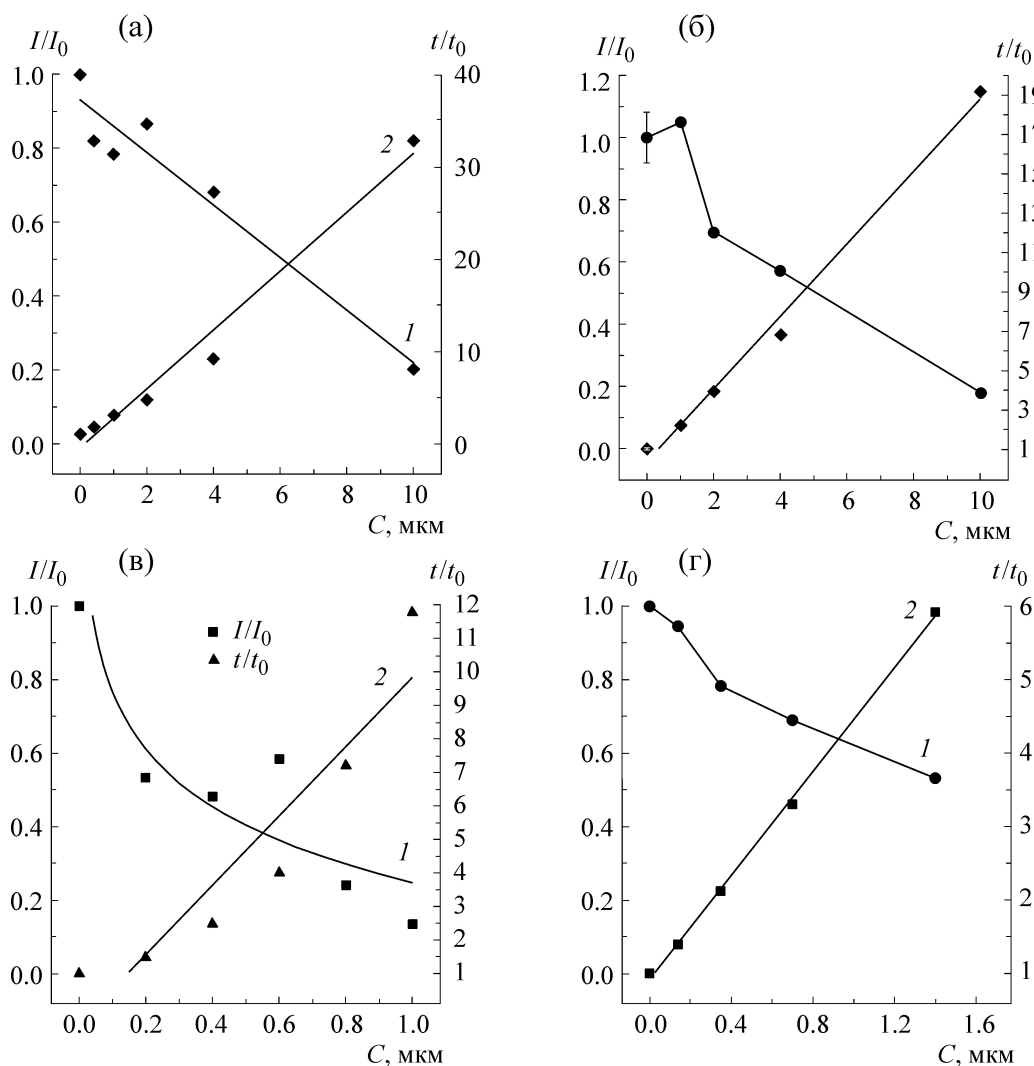


Рис. 3. Влияние тролокса (а), аскорбиновой кислоты (б), дигидрокверцетина (в) и лютеолина (г) на амплитуду (1) и латентный период (2) хемилюминесценции в системе гемоглобин– H_2O_2 –люминол. По оси абсцисс – концентрация исследуемых веществ (мкМ). По оси ординат слева – изменение амплитуды хемилюминесценции, справа – изменение латентного периода хемилюминесценции. Приведенные величины статистически достоверны при $p < 0,05$.

влияние на амплитуду и латентный период хемилюминесценции очевидно вследствие высокой нейтрализующей активности в отношении алкилперекисных радикалов.

Таблица 1. Антиоксидантная активность исследуемых веществ в модельных системах

Вещества	Модельная система гемоглобин– H_2O_2 –люминол		Модельная система ААРН–люминол	
	$K_X, \mu\text{M}^{-1}$	АОА, усл. ед.	$K_X, \mu\text{M}^{-1}$	АОА, усл. ед.
Тролокс	$3,20 \pm 0,30 (K_T)$	1,00	$1,76 \pm 0,09 (K_T)$	1,00
Дигидрокверцетин	$10,40 \pm 0,85$	3,25	$5,30 \pm 0,25$	3,01
Аскорбиновая кислота	$1,84 \pm 0,08$	0,58	–	–
Лютеолин	$3,54 \pm 0,16$	1,11	$3,54 \pm 0,18$	2,01

Примечание. Антиоксидантную активность препарата измеряли как отношение концентрации тролокса к концентрации исследуемого препарата в модельной системе: $АОА = K_X/K_T$, где K_X – константа изменения латентного периода для исследуемых веществ; K_T – константа изменения латентного периода для тролокса. Приведенные в таблице величины статистически достоверны при $p < 0,05$.

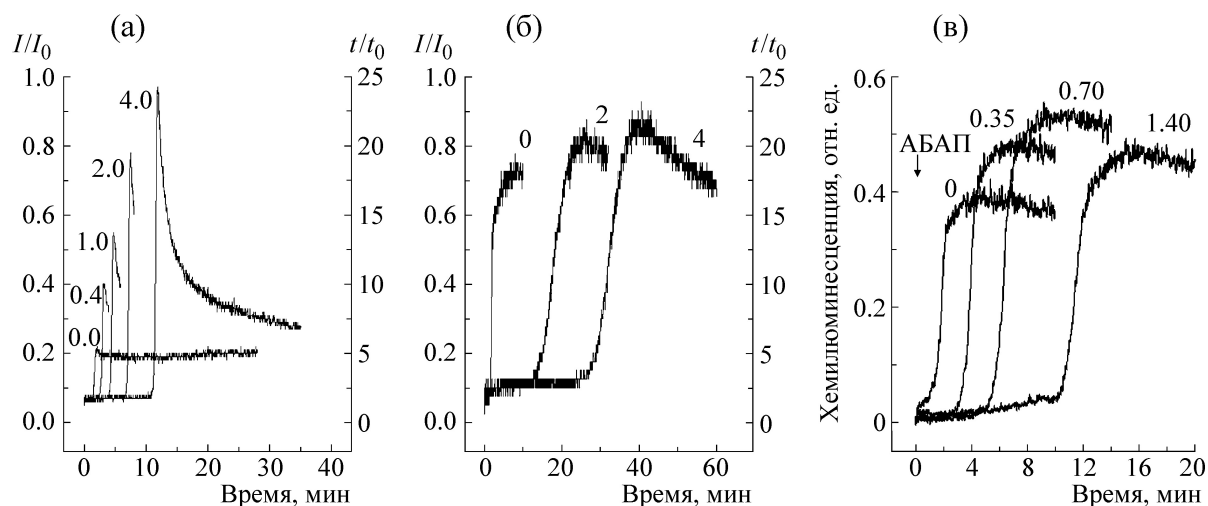


Рис. 4. Кинетики хемилюминесценции системы ААРН–люминол в присутствии тролокса (а), дигидрокверцетина (б) и ЛТ (в). Цифры у кривых – концентрация исследуемых веществ (мкМ). Стрелкой показан момент введения ААРН. По оси ординат – интенсивность хемилюминесценции (отн. ед.).

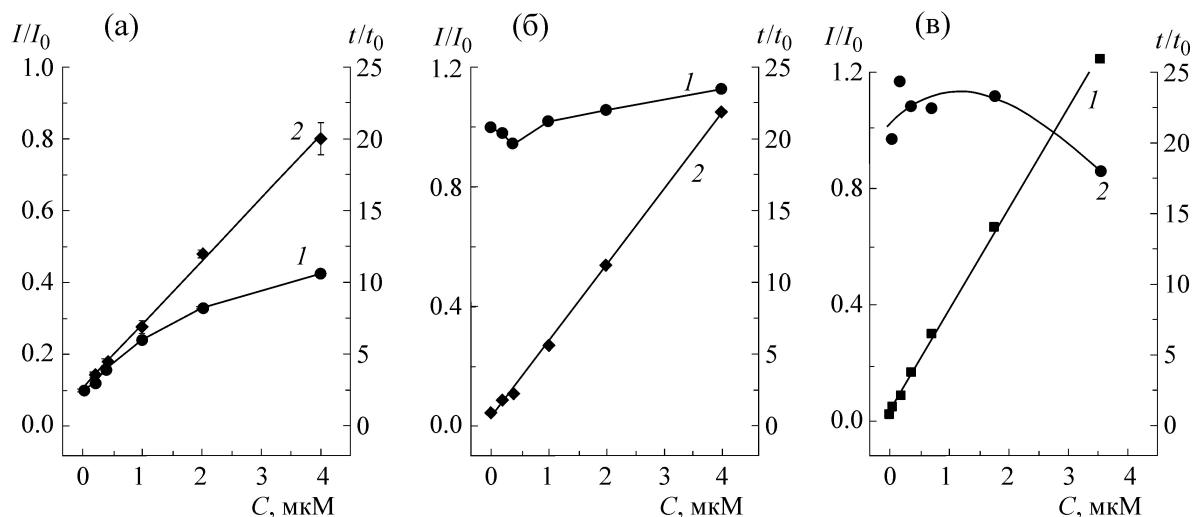


Рис. 5. Влияние тролокса (а), дигидрокверцетина (б) и лютеолина (в) на амплитуду (I) и латентный период (t) хемилюминесценции в системе ААРН–люминол. По оси абсцисс – концентрация исследуемых веществ (мкМ). По оси ординат слева – изменение амплитуды хемилюминесценции, справа – изменение латентного периода хемилюминесценции. Приведенные величины статистически достоверны при $p < 0,05$.

Как показано в правой части табл. 1, ЛТ в модельной системе ААРН–люминол примерно в два раза более эффективен, чем тролокс, но приблизительно в полтора раза менее активен, чем ДГК.

Таким образом, в тестах по антиоксидантной активности в системах гемоглобин– H_2O_2 –люминол и ААРН–люминол лютеонин показывает умеренную антиоксидантную активность, проявляя более высокий антиоксидантный потенциал, чем тролокс и аскорбиновая кислота, но заметно уступая ДГК. При этом следует отметить, что ЛТ демонстрирует примерно в

два раза большую эффективность нейтрализации в отношении алкилперекисных радикалов, образующихся в системе, которая содержит азоинициаторы, чем в отношении гидроксил-анионов, образующихся в системе гемоглобин– H_2O_2 (см. табл. 1).

В табл. 2 приведены результаты исследования влияния ЛТ на параметры интегральной проводимости модельных липидных мембран. Судя по данным электропроводности этих мембран, ЛТ оказывает слабое влияние на их проницаемость в диапазоне концентраций от 0,5 до 10 мкг/мл (примерно от 1,5 до 30 мкМ).

Таблица. 2. Изучение действия лютеолина и розмариновой кислоты на электропроводность бислойных липидных мембран из азолектина

Вещество	Концентрация, мкг·мл ⁻¹	Удельная электропроводность, Ом ⁻¹ ·см ⁻²
Контроль	–	$(1,5 \pm 0,2) \cdot 10^{-8}$
	0,5	$(1,0 \pm 0,2) \cdot 10^{-8}$
Розмариновая кислота	2	$(4,9 \pm 0,7) \cdot 10^{-9}$
	2,5	$(1,0 \pm 0,3) \cdot 10^{-8}$
	10	$(1,5 \pm 0,3) \cdot 10^{-8}$
	0,5	$(3,0 \pm 0,5) \cdot 10^{-9}$
	2	$(3,1 \pm 0,5) \cdot 10^{-9}$
ЛТ	10	$(5,2 \pm 0,8) \cdot 10^{-9}$
	0,5 + 0,5	$(4,3 \pm 0,7) \cdot 10^{-8}$
Розмариновая кислота + ЛТ	10 + 10	$(2,3 \pm 0,3) \cdot 10^{-7}$

Примечание. В среде без буфера содержится 0,1 М КСl. Температура комнатная, концентрация азолектина 30 мг/мл.

При комбинированном применении ЛТ и розмариновой кислоты (ее мембранная активность была изучена нами ранее [10]) было показано, что только при больших концентрациях смешивание этих природных полифенолов вызывает незначительное увеличение проводимости бислойных липидных мембран (табл. 2).

При изучении химического состава полифенольных соединений в морских травах семейства *Zosteraceae* (*Zostera marina* и *Z. asiatica*) нами было определено, что значительную часть полифенольного комплекса (около 40%) составляет 7,3'-дисульфат лютеолина (рис. 1б) [3]. При экспериментальном моделировании различных патологий *in vivo* нами была изучена фармакологическая активность дисульфата лютеолина, а именно противовоспалительный, кардиопротекторный, противодиабетический, антиоксидантный, гепатопротекторный, противовирусный и противоопухолевый эффекты при сравнении с ЛТ. Как показал эксперимент, защитная биологическая активность дисульфата лютеолина во многих случаях гораздо выше, чем у ЛТ [2,3]. Поэтому представляло интерес провести исследования антиоксидантного потенциала дисульфата лютеолина в сравнении с ЛТ и другими известными антиоксидантами.

На рис. 6 приведены данные экспериментального изучения протективной активности дисульфата лютеолина в сравнении с ЛТ, тролоксом, ДГК и розмариновой кислотой на модели перекисного окисления линолевой кислоты. Можно видеть, что в этой тест-системе

розмариновая кислота проявляет себя как самый эффективный антиоксидант, а лютеолин и дисульфат лютеолина слабо уступают по эффективности защитного действия ДГК. При сравнении с тролоксом исследуемые вещества по эффективности предотвращения окисления линолевой кислоты можно расположить в убывающий ряд: розмариновая кислота > ДГК > дисульфат лютеолина > ЛТ > тролокс.

Таким образом, можно заключить, что в этой модельной системе как лютеолин, так и дисульфат лютеолина обладают достаточно высокой прямой антиоксидантной активностью, эффективно нейтрализуя активные формы кислорода, но уступают розмариновой кислоте и ДГК. Следует подчеркнуть, что результаты исследования АОА лютеолина, полученные на модельных системах перекисного окисления линолевой кислоты, ААРН–люминол и гемоглобин–Н₂О₂–люминол, хорошо согласуются между собой.

Химическое строение ЛТ характеризуется наличием ароматического и пиранового колец, а также гидроксильных групп. Благодаря кольцам А и В этот флавоноид способен образовывать комплексные соединения с солями металлов (железа, алюминия, циркония). Известно, что катионы железа Fe²⁺ являются мощными инициаторами перекисного окисления липидов. Способность ЛТ связываться с ними создает возможность перевода этих катионов в неактивные комплексы, что, возможно, играет решающую роль в ингибировании радикальных

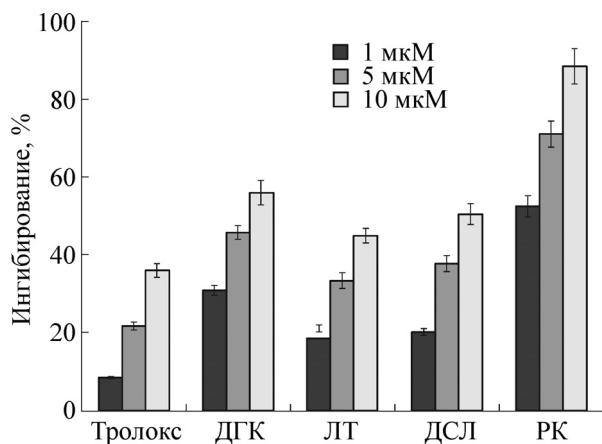


Рис. 6. Сравнительное изучение защитной активности исследуемых веществ против перекисного окисления линолевой кислоты. Концентрация исследуемых веществ (мкМ). По оси абсцисс – исследуемые вещества. По оси ординат – ингибирование перекисного окисления линолевой кислоты, выраженное к контролю. Среднее значение оптической плотности раствора в контроле составляло $0,242 \pm 0,016$. Обозначения: ДГК – дигидрокверцетин, ЛТ – лютеолин, ДСЛ – дисульфат лютеолина, РК – розмариновая кислота.

реакций. Очевидно, что наличие в структуре ЛТ гидроксильных групп обуславливает его способность нейтрализовать активные формы кислорода (супероксидный ион-радикал O_2^- , перекись водорода H_2O_2 и гидроксильный радикал OH^\cdot) [2,11].

Ранее было также отмечено [11,12], что ЛТ обладает прямой нейтрализующей радикалперехватывающей активностью в отношении супероксид-аниона ($ED_{50} = 5,9 \pm 0,3$ мкМ) и свободного радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила ($IC_{50} = 22,7 \pm 2,8$ мкМ), что может лежать в основе эффективности его применения при лечении гепатитов разной этиологии и защиты различных нормальных клеток организма

от окислительного стресса. Кроме того ЛТ, по-видимому, действует через внутриклеточные редокс-системы, индуцируя экспрессию ядерного фактора Nrf2, который играет ключевую роль в транскрипционной активации генов антиоксидантной защиты организма [11].

Таким образом, дальнейшие исследования фармакодинамических и фармакокинетических свойств ЛТ и его водорастворимого сульфатированного производного должны помочь наиболее рациональному применению этих соединений как в медицине, так в пищевой промышленности в качестве компонентов функциональной пищи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. А. М. Попов, О. Н. Кривошапко и А. А. Артюков, *Биофармацевтич. журн.* **4** (4), 27 (2012).
2. M. Lopez-Lazaro, *Mini-Reviews in Med. Chem.* **9** (1), 31 (2009).
3. А. М. Попов, О. Н. Кривошапко и А. А. Артюков, *Биофармацевт. журн.* **3** (4), 27 (2011).
4. А. М. Попов, О.Н. Кривошапко, А. А. Климович и др., *Биомед. химия* **62** (1) 22 (2016)
5. Y. Sadzuka, T. Sugiyama, K. Shimoi, et al., *Toxicol. Lett.* **92**, 1 (1997).
6. C. F. Lima, M. Fernandes-Ferreira, and C. Pereira-Wilson, *Life Sci.* **79** (21), 2056 (2006).
7. W. Ju, X. Wang, H. Shi, et al., *Mol. Pharmacol.* **71** (5), 1381 (2007).
8. L. Ziyang, Z. Yongmei, Z. Nan, et al., *Planta Med.* **73** (3), 221 (2007).
9. O. N. Krivoshapko, A. M. Popov, A. A. Artyukov, et al., *Biochemistry (Moscow) Suppl. Ser. B: Biomed. Chemistry* **5** (2) 152 (2011).
10. A. M. Popov, A. N. Osipov, E. A. Korepanova, et al., *Biophysics* **58** (5), 607 (2013).
11. A. Hanneken, F. F. Lin, J. Johnson, and P. Maher, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **47** (7), 3164 (2006).
12. H. Oh, D. H. Kim, J. H. Cho, et al., *J. Ethnopharmacol.* **95** (2–3), 421 (2004).

Study of Antioxidant and Membranotropic Activities of Luteolin Using Different Model Systems

A.M. Popov* **, A.N. Osipov***, E.A. Korepanova***, O.N. Krivoshapko*,
A.A. Artyukov*, and A.A. Klimovich*

*Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences,
prosp. 100 let Vladivostoku, 159, Vladivostok, 690022 Russia

**Far Eastern Federal University, ul. Oktyabrskaya 27, Vladivostok, 690000 Russia

***Pirogov Russian State Medical University, ul. Ostrovityanova 1, Moscow, 117997 Russia

Luteolin, a water-insoluble 3',4',5,7-tetrahydroxyflavon, is one of the best-studied representatives of bioflavonoids. Luteolin is an essential component of human and animal food, which able to affect the activity of various enzymes and hence alter metabolism in the cell, cause changes in receptor-targets and signal transduction pathways, has a wide spectrum of biological activities. In this study, we conducted a comparative study of antioxidative properties (radical interceptor potential) of luteolin in the systems of 2,2'-azo-bis(2-methylpropionamidin)dihydrochloride–luminol and hemoglobin–hydrogen peroxide–luminol and assessed the effect of luteolin on permeability of planar lipid bilayer membranes. Trolox was used as a reference antioxidant, and ascorbic acid and dihydroquercetin were taken as standards. Luteolin shows moderate antioxidant activity, exhibiting a higher antioxidant capacity than trolox and ascorbic acid, but dihydroquercetin gave better results in tests for antioxidant activity in the systems studied. On the effectiveness of the antioxidant action the test substances can be arranged into the following series: dihydroquercetin > luteolin > trolox > ascorbic acid. It should be noted that a water-soluble form of luteolin – luteolin disulfate is comparable to luteolin with respect to antioxidant activity. Luteolin causes no significant change in permeability of planar bilayer membranes in the dose range from 1.5 to 30 μM . Our findings indicate that luteolin can be very effective as a radical interceptor and has no primary membranotropic effect. It can be assumed that the multiple pleiotropic action of luteolin against a variety of biological systems is associated not only with the neutralizing effect in regard to reactive oxygen species, but also with the ability of luteolin to block and modulate different cell signaling processes and biochemical pathways. Proposed mechanisms of biological activity of luteolin and luteolin disulfate are discussed.

Key words: bioflavonoids, flavones, luteolin, luteolin disulfate, antioxidants, anti-inflammatory activity