

УДК 615.322:582:615.014.425

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ СИРОПОВ ИЗ ДИКОРАСТУЩЕГО СЫРЬЯ*Н.В. Плаксен¹, С.В. Степанов¹, Л.А. Текутьева², Е.С. Фищенко², О.М. Сон²*

¹Тихоокеанский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2), ²Школа экономики и менеджмента Дальневосточного федерального университета (69091, г. Владивосток, ул. Суханова, 8)

Ключевые слова: крысы, четыреххлористый углерод, гепатит, растительное сырье.

В условиях экспериментального гепатита (тетрахлорметан) на 30 крысах линии Август исследовали антирадикальную и гепатопротекторную активность двух сиропов оригинальных рецептур, включавших растительные экстракты травы зверобоя, корня солодки, корня копеечника чайного, плодов шиповника, травы герани луговой, чаги (рецептура № 1) и порошок ягоды годжи (рецептура № 2). На основании исследования перекисного окисления липидов и интегральной антирадикальной активности в печени животных для обеих рецептур установлено наличие антиоксидантной активности и стресс-защитного действия.

Решение проблемы приспособления человека и животных к меняющимся условиям окружающей среды возможно только на основе глубокого понимания механизмов резистентности организма к неблагоприятным экологическим факторам и, в частности, повышения устойчивости липидов мембран к повреждающему действию кислородных радикалов [2, 6]. Известно, что лекарственные препараты группы адаптогенов, повышая сопротивляемость организма к широкому кругу неблагоприятных факторов внешней и внутренней среды и обладая антиоксидантным действием, способствуют стабилизации перекисного окисления липидов биомембран в условиях длительной холодовой нагрузки, введения четыреххлористого углерода и т.д. [4]. Многочисленными исследованиями доказана антиоксидантная активность полифенольных соединений растительного происхождения, важнейшими из которых в этом плане являются флавоноиды и антоцианы [7, 8]. Возможность широкого применения полифенольных соединений в качестве антиоксидантов обуславливает актуальность поиска их новых, недорогих и доступных сырьевых источников. Вредное воздействие свободных радикалов в случае оксидантного стресса можно уменьшить за счет регулярного употребления определенных пищевых продуктов и напитков, лекарственных препаратов, биологически активных добавок, обладающих антиоксидантной активностью.

Материал и методы. Исследования выполнены на 30 крысах линии Август обоего пола массой 220–290 г, которых содержали по 5–6 особей в пластмассовых клетках со стужечной подстилкой на стандартном рационе вивария при естественном световом режиме и свободном доступе к воде и пище.

Нами разработан ассортимент сиропов повышенной физиологической ценности из дикорастущего сырья с заниженным содержанием сахара следующего ассортимента:

рецептура № 1 (бальзам «Алтайский букет»), состав композиции: растительные экстракты травы зверобоя, корня солодки, корня копеечника чайного, плодов шиповника, травы герани луговой, чаги, сахарный сироп, лимонная кислота (подкислитель), сорбат калия (консервант), бензоат натрия (консервант);

рецептура № 2, состав композиции: ягода годжи (порошок), каррагинан (загуститель), лимонная кислота (подкислитель), сахарный сироп, сорбат калия (консервант), бензоат натрия (консервант).

Были сформированы группы по 6 животных:

- ♦ опытная группа № 1 получала сироп № 1;
- ♦ опытная группа № 2 получала сироп № 2;
- ♦ контрольная группа № 1 получала раствор с сахарным сиропом, лимонной кислотой, сорбатом калия и бензоатом натрия;
- ♦ контрольная группа № 2 получала раствор с каррагинаном, лимонной кислотой, сахарным сиропом, сорбатом калия и бензоатом натрия;
- ♦ интактная группа содержалась на стандартном питании.

Для моделирования острого гепатита крысам опытных и контрольных групп вводили в желудок однократно через зонд тетрахлорметан в 50 % растворе на оливковом масле в объеме 4 мл/кг [1]. Животные получали сиропы через зонд, профилактически в течение 5 дней до введения гепатотоксина и с 3-го дня интоксикации в течение 10 дней. Доза сиропов составляла 2,8 мл/кг в день.

Работа выполнена с соблюдением всех правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных работах [5]. Через сутки после последнего введения гепатотоксина животных выводили из опыта с использованием легкого эфирного наркоза. Об эффективности сиропов судили по следующим тестам [1, 3, 9, 11, 12]:

1) вычисление относительной массы органов (отношение массы органа в мг к массе тела в г), которая характеризует степень выраженности воспалительных процессов;

2) изучение перекисного окисления липидов (ПОЛ) печени по малоновому диальдегиду (МДА) – продукту окислительной дегградации жирных кислот на основе цветной реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (измерения проводили на спектрофотометре Shimadzu UV-1650 PC);

3) оценка интегральной антирадикальной активности (ИАА) антиоксидантов по их способности подавлять

реакцию окисления ABTS пероксильными и алкоксильными радикалами, образующимися при термическом (37 °C) разложении АВАР – 2,2'-азобис(2-аминопропан) гидрохлорида (измерения проводили на спектрофотометре Shimadzu UV-2550 с термостатированной ячейкой);

4) определение коэффициентов стресс-протективной активности сиропов по шестибалльной шкале.

Полученные результаты подвергали статистической обработке с использованием критерия Стьюдента.

Результаты исследования. Под влиянием неблагоприятных факторов, например, чужеродных химических веществ концентрация оксирадикалов резко возрастает и, при определенных условиях, может превысить способность защитной антиокислительной системы противостоять разрушительному действию этих реактивных молекул. Четыреххлористый углерод (CCl_4) легко метаболизирует в трихлорметильный активный радикал (CCl_3) и вызывает каскад радикализирующих реакций. Как известно, четыреххлористый углерод, преобразуемый при участии цитохрома Р-450 в свободные радикалы и электрофильные интермедиаты, является агрессивным гепатотоксином.

На введение CCl_4 печень животных реагировала увеличением относительной массы – одним из первых информативных показателей интоксикации. У животных контрольных групп отмечалось статистически достоверное увеличение массы печени на 28–29 % по сравнению с интактными крысами. В опытных группах относительная масса печени по сравнению с контрольными уменьшалась на 11 %, что указывало на меньшую выраженность гепатита (табл. 1).

При остром CCl_4 -гепатите снижалась выраженность антиоксидантной защиты и параллельно прогрессировало ПОЛ. В липидных экстрактах гомогенатов печени возрастало количество МДА. Показатель антирадикальной защиты (ИАА) снижался в группе контроля № 2 на 55 %, а в группе контроля № 1 – на 23 %. В опытной группе, получавшей сироп № 1, после введения токсина ИАА снижался на 19 %, в опытной группе № 2 – на 18 %. Уровень МДА в контрольной группе № 2 по сравнению с интактной группой повышался в 3 раза, в контроле № 1 таких сильных изменений не зарегистрировано – содержание продукта пероксидации возрастало в 1,8 раза. В группах животных, которым

Таблица 1
Влияние сиропов на относительную массу печени, содержание МДА и индекс ИАА в гомогенатах печени крыс при экспериментальном гепатите ($M \pm m$)

Группа	Масса печени, мг/г массы тела	МДА, нмоль/г сырого веса	ИАА, моль/г сырого веса
Интактные	22,7±2,0	7,97±0,96	4,50±0,43
Контроль № 1	29,1±2,5 ¹	14,15±0,84 ¹	3,49±0,31
Контроль № 2	29,4±2,6 ¹	23,30±0,71 ¹	2,54±0,17 ¹
Опыт № 1	26,0±2,1	13,08±0,39 ¹	3,67±0,22
Опыт № 2	25,8±2,3	10,83±0,54 ^{1,2}	3,69±0,13

¹ Разница с группой «интактные» статистически значима.

² Разница с соответствующим контролем статистически значима.

вводили сиропы, происходили сходные изменения в системе показателей «ПОЛ–антирадикальная система», не достигавшие, однако, физиологических значений (табл. 1).

Введение сиропов до и после воздействия тетрахлорметана оказывало защитное действие, которое проявлялось в частичном предотвращении инволюции лимфоидных органов, уменьшении вдвое числа кровоизлияний и изъязвлений в слизистой оболочке желудка. В группе животных, получавших рецептуру № 1, стресс-протективная активность была на 3 балла выше, чем в соответствующем контроле. В группе животных, получавших рецептуру № 2, эта разница составила 4 балла (табл. 2).

При действии контрольных рецептов без лекарственных растений после введения гепатотоксина отмечено значительное снижение уровня ИАА и повышение концентрации МДА – продукта окислительной дегградации жирных кислот, причем снижение антиоксидантной активности было значительнее в контроле № 2, в состав рецептуры которого входил загуститель каррагинан. Каррагинан (Е407) – природный гелеобразователь, получаемый при переработке красных морских водорослей методом экстракции с последующей очисткой от примесей [10].

Сироп № 1 оказывал достоверное стресс-защитное действие, что проявлялось в уменьшении размера надпочечников и интенсивности инволюции тимуса и селезенки, в целом стрессированность организма снижалась с 11 до 8 баллов (табл. 2). Сложный состав

Таблица 2
Влияние сиропов на изменение массы органов и количество изъязвлений слизистой оболочки желудка крыс при экспериментальном гепатите ($M \pm m$)

Группа	Надпочечник			Тимус			Селезенка			Язвы желудка		Сумма баллов ²
	масса ¹	%	балл	масса ¹	%	балл	масса ¹	%	балл	абс.	балл	
Интактные	0,12±0,01	100	0	0,92±0,08	100	0	3,6±0,2	100	0	0	0	0
Контроль № 1	0,16±0,01	133	3	0,77±0,06	84	2	3,3±0,5	92	1	7	5	11
Контроль № 2	0,17±0,01	142	4	0,42±0,03	46	5	2,7±0,3	75	2	8	5	16
Опыт № 1	0,13±0,02	108	1	0,77±0,07	84	2	3,2±0,3	89	1	4	4	8
Опыт № 2	0,15±0,02	125	2	0,74±0,07	80	2	2,6±0,4	72	3	5	5	12

¹ Относительная – мг/г массы тела.

² Препарат считается активным, если разница балльной оценки в контрольной и опытной группах превышает 2 балла [3].

сиропа № 1 трудно проанализировать по активности действия каждого компонента в комплексе (недостаток сиропов сложного состава).

Сироп № 2, содержащий порошок ягоды годжи, достоверно снижал уровень продуктов перекисидации (МДА) по сравнению с контролем № 1 (табл.1), гипертрофия надпочечников составляла 25 % относительно контроля и 42 % – относительно нормы, инволюция тимуса 80 и 46 % соответственно. Стрессированность организма снижалась с 16 до 12 баллов (табл. 2).

Обсуждение полученных данных. Таким образом, на основании изучения состояния ПОЛ и ИАА в печени животных, подвергшихся воздействию гепатотоксического агента, установлено наличие антиоксидантной активности и выраженное стресс-защитное действие у сиропов № 1 и № 2. Результаты эксперимента свидетельствуют о снижении интенсивности свободнорадикального окисления на фоне введения фитопрепаратов в виде сиропов, что связано с наличием комплекса биологически активных веществ, входящих в состав исследуемых растений. В частности, ягоды годжи (*Lycium barbarum*) содержат незаменимые полисахариды LBP-1, LBP-2, LBP-3 и LBP-4, которые больше не присутствуют ни в одном продукте питания, витамины, 18 аминокислот, 21 минерал (в т.ч. железо, цинк, йод). Витамина С в этой ягоде больше, чем в апельсине.

Содержащиеся в растениях флавоноиды препятствуют избыточной генерации свободных радикалов, уменьшают их концентрацию в мембранах, защищая молекулы от перекисления, проявляют гепатопротекторное действие. Дубильные вещества инициируют процессы репарации и улучшают работу антиоксидантных систем. Кроме того, в солодке содержатся каротиноиды, которые, встраиваясь в мембранные фосфолипидно-белковые структуры, проявляют антиоксидантную активность. Основные природные антиоксиданты – флавоноиды, ароматические гидроксикислоты, антоцианы, витамины С и Е, каротиноиды и др. Предполагают, что биологическая активность биофлавоноидов обусловлена их способностью тормозить окисление аскорбиновой кислоты, катализируемое ионами тяжелых металлов, с которыми биофлавоноиды образуют хелаты. Считают также, что биофлавоноиды способны тормозить перекисное расщепление липидов. Исключительное значение имеют антоцианы, так как благодаря заряду на атоме кислорода в кольце антоцианиды и антоцианины легче проникают через мембраны клеток [8]. В последнее десятилетие все большее внимание уделяется биофлавоноидам, обладающим антиканцерогенными, антисклеротическими, противовоспалительными и антиаллергическими свойствами и по антиоксидантной активности в десятки раз превосходящим витамины Е, С и β-каротин. Особенно эффективно сочетание биофлавоноидов, содержащихся в овощах, ягодах, фруктах, зернах, орехах и пр. Рекомендуются уровни потребления некоторых флавоноидов приняты в РФ

в 2004 г. (МР 2.3.1.19150–04) и составляют суммарно 350–1300 мг/сут. (рекомендуемые нормы в других странах – 800–1000 мг/сут.). Полисахариды в комплексе с ферментами и витаминами способствуют повышению неспецифической резистентности организма к воздействию неблагоприятных факторов.

Литература

1. Венгеровский А.И., Маркова И.В., Саратиков А.С. Доклиническое изучение гепатозащитных средств // Ведомости Фармакологического комитета. 1999. № 2. С. 9–12.
2. Владимиров Ю.А. Биологические мембраны и незапрограммированная гибель клетки // Соросовский образовательный журнал. 2000. Т. 6, № 9 (58). С. 2–9.
3. Добряков Ю.И., Брехман И.И. Поиск природных источников физиологически активных веществ из морских организмов // Валеология: диагностика, средства и практика обеспечения здоровья. Владивосток: Дальнаука, 1996. Вып. 3. С. 83–89.
4. Доровских В.А., Красавина Н.П., Симонова Н.В. и др. Адаптогены и холодовой стресс: вчера, сегодня, завтра. Благовещенск: ДальГАУ, 2006. 214 с.
5. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте. Киев: Вища школа, 1974. 303 с.
6. Зенков Н.К., Ланкин В.З. Окислительный стресс. Биохимические, патофизиологические аспекты. М.: Наука–Интерпериодика, 2001. 490 с.
7. Зорикова С.П., Короткова И.П., Зориков П.С. Ранозаживляющая активность растений, содержащих флавоноиды // Естественные и технические науки. 2010. № 3. С. 152–160.
8. Куракин В.А., Кулагин О.Л., Додонов Н.С. и др. Антиоксидантная активность некоторых тонизирующих и гепатопротекторных фитопрепаратов, содержащих флавоноиды и фенилпропаноиды // Растительные ресурсы. 2008. Т. 44, № 1. С. 122–130.
9. Правила доклинической оценки безопасности фармакологических средств (GLP). М.: Медицина, 1992. 78 с.
10. Талабаева С.В., Кадникова И.А., Соколова В.М., Подкорытова А.В. Исследование физико-химических свойств экстрактов каррагинана из красной водоросли *Chondrus armatus* // Известия ТИНРО. 2001. Т. 129. С. 227–232.
11. Bartosz G., Janaszewska A., Ertel D., Bartosz M. Simple determination of peroxyl radical-trapping capacity // Biochem. Mol. Biol. Int. 1998. Vol. 46. P. 519–528.
12. Buege J.A., Aust S.D. Microsomal lipid peroxidation // Methods in Enzymology / eds by S. Fleischer, L. Packer: Academic Press, 1978. P. 302–310.

Поступила в редакцию 06.02.2013.

STUDYING ANTIOXIDANT PROPERTIES OF SYRUP PREPARED ON THE BASIS OF WILD-GROWING GRASSES

N.V. Plaksen¹, S.V. Stepanov¹, L.A. Tekutieva², E.S. Fischenko², O.M. Son²

¹ Pacific State Medical University (2 Ostyryakova Av. Vladivostok 690950 Russian Federation), ² School of Economics and Managements of the Far Eastern Federal University (8 Sukhanova St. Vladivostok 690950 Russian Federation)

Summary – Under the conditions of experimental hepatitis (carbon tetrachloride) in 30 August rats, the authors have studied antiradical and hepatoprotective effects of two original syrups containing plant extractions of hypericum, licorice root, roots of the tick-trefoil, rosehips, meadow crane grass, and shelf fungus (formulation No. 1) and goji berry powder (formulation No. 2). The study of lipid peroxidation and integral antiradical activities in animal livers in both formulations allowed to determine the antioxidant properties and stress-protective effects.

Key words: rats, carbon tetrachloride, hepatitis, raw plants.

Pacific Medical Journal, 2013, No. 2, p. 73–75.