

УДК 615.322+577.121

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОСЕЙ СОЦВЕТИЙ АРАЛИИ МАНЧЖУРСКОЙ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

© 2013 Т.В. Момот¹, Н.Ф. Кушнерова²

¹ Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток

² Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН,
г. Владивосток

Поступила в редакцию 17.05.2013

Показано, что комплекс биологически активных веществ, входящий в состав экстракта из отходов от переработки аралии Манчжурской (*Aralia mandshurica Rupr. et Maxim*) - «Армафен», нормализует соотношение фракций нейтральных и фосфолипидов в сыворотке крови животных после интоксикации этиловым спиртом. «Армафен» обнаруживает более выраженные фармакологические свойства, чем коммерческий препарат «Легалон», по способности восстанавливать показатели липидного обмена в сыворотке крови.

Ключевые слова: *аралия Манчжурская, этиловый спирт, липиды, сыворотка крови*

В наземной флоре Уссурийской тайги отмечается богатое разнообразие видового состава растений, используемых для производства фармакологических препаратов. Так, известен ряд препаратов, обладающих стресс-протекторным действием, так называемых адаптогенов, включающих широко известные средства традиционной народной медицины. Это корни женьшеня, элеутерококка, аралии, родиолы розовой, семена лимонника и др. Кроме того доказаны их гепатопротекторные свойства [3]. В то же время в аптечной сети широко представлен ряд гепатопротекторных препаратов на основе плодов расторопши пятнистой: «ЛИВ-52» (Индия), «Карсил» (Болгария), «Легалон» (Германия), «Силегон» (Венгрия), «Сиромин» (Словения) и др. Учитывая, что названные препараты зарубежного производства, очевидна актуальность и необходимость поиска и изучения новых источников сырья, имеющегося на территории России, для получения препаратов с гепатопротекторными свойствами, в частности, среди отходов от переработки (оси соцветий, кожица, косточки, отжим после отделения сока, листья и др.) дикорастущих растений Уссурийской тайги. Это поможет создать безотходную технологию и сохранить экологическую обстановку на территориях перерабатывающих предприятий.

Момот Татьяна Викторовна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории фармакологии. E-mail: kushnerova83@mail.ru

Кушнерова Наталья Федоровна, доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией биохимии. E-mail: natasha50@mail.ru

Одним из сырьевых источников среди отходов от переработки дикоросов для получения фармакологических препаратов являются оси соцветий аралии Манчжурской (*Aralia mandshurica Rupr. et Maxim*). Из них был выделен водно-спиртовой экстракт «Армафен» (патент № 2329056; свидетельство на товарный знак RU № 226923; Еп № 226932), в состав которого входит широкий спектр биологически активных полифенольных соединений: катехины, лейкоантоцианы, флавонолы, процианидины, олигомерные таннины и лигнин. Полифенолы составляют свыше 60% сухого остатка экстракта и характеризуют его фармакологическую активность, так как эти вещества способны инактивировать супероксиданионы и выступать в качестве ловушек свободных радикалов [11], являющихся центральным звеном развития патологии печени при токсических гепатитах.

Цель работы: изучение применения экстракта «Армафен» для восстановления показателей липидного обмена в крови животных при алкогольном гепатите.

Методы исследования. Суховоздушное сырье экстрагировали 40% этиловым спиртом методом реперколяции. Выход экстракта составлял 1 л на 1 кг сырья. Эксперимент проводили на крысах-самцах Вистар массой 160-180 г, содержащихся на стандартном рационе питания, по схеме, приведенной в работе А. Gajdos [7]. Сначала, в течение 7 дней крысам внутрибрюшинно вводили 33% этанол в дозе 7,5 мл на 1 кг массы тела животного 2 раза в сутки. Затем после последнего дня введения этанола вводили перорально через зонд в течение 7 дней водный

раствор сухого остатка экстракта из осей соцветий аралии, а в качестве препарата сравнения вводили эталонный гепатопротектор коммерческий полифенольный препарат «Легалон» (MADAUS AG, Германия), содержащий в качестве активного начала комплекс флавоноидов из экстракта плодов расторопши пятнистой (*Silybum marianum*). Комплекс полифенолов из армафена вводили в виде водного раствора (предварительно освобождали от спирта путем упаривания в вакууме), легалон – в виде взвеси в 1% крахмальном клейстере. Препараты вводили в дозе (в объеме 0,4 мл), эквивалентной 100 мг общих полифенолов/кг массы тела. Доза в 100 мг/кг соответствует известной терапевтической дозе для полифенольных гепатопротекторов [1]. Контролем служили животные, получавшие дистиллированную воду через зонд в соответствующем объеме.

Животные были разделены на 4 группы по 10 крыс в каждой: 1-я – контрольная (интактная); 2-я – введение 33% этанола в течение 7 дней; 3-я – введение экстракта аралии в период отмены токсиканта в течение 7 дней; 4-я – введение легалона в период отмены токсиканта в течение 7 дней. Через 14 дней животных выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом с соблюдением правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986).

Экстракты общих липидов из сыворотки крови готовили по методу J. Folch et al. [6]. Фракционное разделение фосфолипидов осуществляли методом двумерной микротонкослойной хроматографии на силикагеле [12], а их идентификацию и количественное определение по методу [13]. Хроматографическое распределение нейтральных липидов и их количественное определение проводили методом одномерной микротонкослойной хроматографии на силикагеле по методу [4]. Обнаружение пятен нейтральных липидов осуществляли с помощью паров йода. Количественное содержание отдельных фракций выражали в процентах от общей суммы нейтральных липидов и фосфолипидов, соответственно. Результаты обрабатывали по параметрическому критерию Стьюдента (t), используя статистическую программу InStat (Graph Pad Software Inc. USA, 2005).

Результаты и обсуждение. Алкогольная интоксикация в течение 7 дней сопровождалась достоверными изменениями в содержании фракций нейтральных липидов и фосфолипидов в сыворотке крови крыс (табл. 1). Они проявлялись в увеличении содержания триацилглицеринов на 13% ($p < 0,05$) и свободных жирных кислот на 30% ($p < 0,05$), что связано с активацией

периферического липолиза в жировой ткани в ответ на выброс в кровь катехоламинов (реакция на токсикант). Увеличение уровня холестерина на 19% ($p < 0,01$) можно объяснить активацией его синтеза из ацетил-КоА, который образуется в избытке при окислении этилового спирта. Увеличение количества эфиров жирных кислот на 8% ($p < 0,05$) обусловлено реакцией жирных кислот с этанолом. Снижение содержания эфиров холестерина на 17% ($p < 0,001$) определяет нарушение этерифицирующей функции печени и, как следствие, синтеза и катаболизма липопротеинов. Кроме этого уровень ЭХС снижен на 17% ($p < 0,001$) в результате ингибирования этанолом активности ЛХАТ (лецитин :холестерин-ацилтрансферазы) [5].

Следует отметить достоверные изменения в содержании отдельных фракций фосфолипидов, которые служат основным источником структурного материала для обновления клеточных и субклеточных мембран. Так, отмечалось уменьшение в содержании основных структурных компонентов мембран – фосфатидилхолина на 7% ($p < 0,01$) и фосфатидилэтаноламина на 25% ($p < 0,01$) при одновременном увеличении лизофосфатидилхолина на 46% ($p < 0,001$) и лизофосфатидилэтаноламина на 67% ($p < 0,001$), что обусловлено увеличением активности фосфолипазы A_2 под действием этанола. Снижение содержания фосфатидилхолина также может быть связано со снижением его биосинтеза в результате ингибирования этанолом активности холинфосфотрансферазы [5]. Достоверно возросло содержание сфингомиелина на 21% ($p < 0,001$) и фосфатидилинозита на 15% ($p < 0,05$), тогда как количество дифосфатидилглицерина уменьшилось на 34% ($p < 0,001$). Эти результаты свидетельствуют о нарушении функции митохондрий и получении энергии через окисление этанола.

Известно, что сфингомиелин и холестерин имеют жесткую систему взаимной регуляции, при этом уровень сфингомиелина в мембранах определяет степень их способности абсорбировать холестерин. Сфингомиелин смещает направление потока холестерина в сторону плазматической мембраны, стимулируя его биосинтез *de novo* и ингибируя его этерификацию [10], что и обуславливает наблюдаемое снижение содержания этерифицированной формы холестерина. При введении армафена (3 группа) после интоксикации этанолом показатели липидного обмена достоверно не отличались от таковых у интактных животных. При введении легалона в период отмены токсиканта (4 группа) наблюдалась выраженная тенденция к восстановлению липидных показателей в сыворотке крови, однако ряд величин еще достоверно отличался от контроля. Так, следует отметить повышенный уровень свободных жирных кислот

(на 27%, $p < 0,01$), холестерина (на 13%, $p < 0,05$), лизофосфатидилхолина (на 13%, $p < 0,01$), лизофосфатидилэтаноламина (на 50%, $p < 0,001$), а также сниженный уровень эфиров холестерина (на 9%, $p < 0,05$) и дифосфатидилглицерина (на

22%, $p < 0,001$). То есть, при введении легалона сохранялась повышенная активность фосфолипаз и не полностью восстановилась этерифицирующая функция печени.

Таблица 1. Влияние растительных препаратов (армафен и легалон) на содержание нейтральных липидов и фосфолипидов в сыворотке крови крыс при алкогольной интоксикации (% от суммы всех фракций; $M \pm m$).

Липидные фракции	1-я группа контроль	2-я группа 33% этанол	3-я группа отмена +армафен	4-я группа отмена +легалон
нейтральные липиды				
ТАГ	21,21±0,77	23,96±0,86 ¹	22,32±0,26	22,78±0,76
СЖК	6,42±0,44	8,36±0,76 ¹	6,79±0,32	8,19±0,50 ²
ЭЖК	24,14±0,74	26,00±0,55 ¹	24,70±0,63	25,56±0,67
ХС	14,41±0,78	17,16±0,72 ²	14,76±0,96	16,24±0,31 ¹
ЭХС	23,33±0,66	19,30±0,48 ³	23,81±0,44	21,23±0,75 ¹
остаточн. фракция	10,49±0,67	5,22±0,14	7,62±0,53	6,00±0,53
фосфолипиды				
ФХ	63,40±1,17	59,21±1,19 ²	63,69±1,88	63,71±1,46
ЛФХ	7,81±0,35	11,42±0,59 ³	7,61±0,69	8,84±0,22 ²
СМ	8,92±0,41	10,76±0,23 ³	8,69±0,45	8,65±0,36
ФЭ	10,80±0,92	8,11±0,38 ²	11,18±0,47	9,17±0,28
ЛФЭ	2,57±0,15	4,28±0,16 ³	2,52±0,29	3,86±0,16 ³
ФИ	3,92±0,18	4,51±0,22 ¹	3,74±0,35	3,77±0,25
ДФГ	2,58±0,12	1,71±0,15 ³	2,57±0,19	2,00±0,11 ³

Примечание: различия от контроля статистически достоверны при: ¹ - $p < 0,05$; ² - $p < 0,01$; ³ - $p < 0,001$. ТАГ – триацилглицерины, СЖК – свободные жирные кислоты, ЭЖК – эфиры жирных кислот, ХС – холестерин, ЭХС – эфиры холестерина, ФХ – фосфатидилхолин, ЛФХ – лизофосфатидилхолин, СМ – сфингомиелин, ФЭ – фосфатидилэтаноламин, ЛФЭ – лизофосфатидилэтаноламин, ФС – фосфатидилсерин, ФИ – фосфатидилинозит, ФК – фосфатидная кислота, ДФГ – дифосфатидилглицерин

Биохимический механизм действия исследованных препаратов обусловлен тем, что растительные полифенолы, входящие в состав армафена и легалона стимулируют этерифицирующую функцию печени, подавленную стрессом (полифенолы активируют фермент ЛХАТ) [2]. Факт достоверного снижения уровня лизофракций свидетельствует об ингибировании фосфолипаз полифенолами препаратов [9]. Однако при сравнении выраженности восстановительного эффекта действия легалона и армафена проявляются определенные преимущества последнего. Известно, что в состав легалона входит активная группа изомерных флавоноидных соединений (силибинин, силикрестин, силидианин), не образующих олигомерных форм. Видимо армафен, будучи комплексом олигомерных и полимерных веществ, демонстрирует антиоксидантные и антирадикальные свойства в большей степени, чем мономеры легалона. Кроме того, растительные полифенолы, входящие в их состав, имеют способность улавливать свободные кислородные и пероксильные радикалы, образуя при этом

относительно стабильный феноксил-радикал, который сдерживает процессы перекисного окисления липидов и снимает состояние оксидативного стресса [8].

Выводы: полученные результаты свидетельствуют о высокой эффективности применения природных комплексов полифенолов для сохранения биохимических показателей липидного обмена сыворотки крови в условиях острой алкогольной интоксикации. Эффективность армафена не уступает, а по ряду показателей превосходит эталонный гепатопротектор «Легалон». Учитывая, что полифенольные соединения содержатся в растениях и фруктах, традиционно употребляемых человеком в пищу, и являются эволюционно-адаптированными для человеческого организма, можно рекомендовать армафен, как для использования в качестве профилактического средства для снижения токсического воздействия этанола на организм, так и в производстве крепких ликеро-водочных изделий с целью снижения их токсического действия на печень.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Венгеровский, А.И. Доклиническое изучение гепатопротективных средств / А.И. Венгеровский, И.В. Маркова, А.С. Саратиков // Ведомости фарм. комитета. 1999. № 2. С. 9-12.
2. Гаскина, Т.К. Изменение скорости лецитинхолестеролацилтрансферазной реакции и липидных показателей сыворотки крови под влиянием катергена в условиях острого экспериментального перерождения печени / Т.К. Гаскина, С.А. Курилович, В.Н. Горчаков // Вопр. мед. хим. 1989. Т. 35, № 4. С. 24-28.
3. Спрыгин, В.Г. Отходы от переработки Дальневосточных дикоросов – перспективные источники пищевых антиоксидантов / В.Г. Спрыгин, Н.Ф. Кулинерова, С.Е. Фоменко // Известия Самарского научного центра РАН. 2010. Т. 12, № 1 (3). С. 812-815.
4. Amenta, J.S. A rapid chemical method for quantification of lipids separated by thin-layer chromatography // J. Lipid. Res. 1964. Vol. 5, N 2. P.270-272.
5. Carrasco, M.P. Studies on phospholipid biosynthesis in hepatocytes from alcoholic rats by using radio-labeled exogenous precursors / M.P. Carrasco, M.C. Sanchez-Amate, J.L. Segovia // Lipids. 1996. Vol. 31, N 4. С. 393-397.
6. Folch, J. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue / J. Folch, M. Less, G.H. Sloane-Stanley // Biol. Chem. 1957. Vol. 226. P. 497-509.
7. Gajdos, A. Therapeutic effect of the (+)-catechin on biochemical disorders of the liver in the ethanol intoxicated rat / A. Gajdos, M. Gaidos-Torok, R.C.R. Horn // Soc. Biol. Fil. 1972. V. 166, N.2. P. 277-279.
8. Kropacova, K. Protective and therapeutic effect of silymarin on the development of latent liver damage / K. Kropacova, E. Misurova, H. Hakova // Radiats. Biol. Radioecol. 1998. Vol. 38, N 3. P. 411-415.
9. Natarajan, V. Activation of endothelial cell phospholipase D by hydrogen peroxide and fatty acid hydroperoxide / V. Natarajan, M.M. Taher, B. Roehm // J. Biol. Chem. 1993. Vol. 268, N 2. С. 930-937.
10. Ridgway, N.D. Integration of phospholipid and sterol metabolism in mammalian cells / N.D. Ridgway, D.M. Byers, H.W. Cooka // Progress Lipid Research. 1999. Vol. 38. С. 337-360.
11. Sanz, M.J. Influence of a series of natural flavonoids on free-radical generating systems and oxidative stress / M.J. Sanz, M.L. Ferrandiz, M. Cejudo // Xenobiotica. 1994. Vol. 24, N. 7. P. 689-699.
12. Svetachev, V.I. A simplified technique for thin layer microchromatography of lipids / V.I. Svetachev, V.E. Vaskovsky // J. Chromatography. 1972. Vol. 67, N 2. P. 376-378.
13. Vaskovsky, V.E. A universal reagent for phospholipid analysis / V.E. Vaskovsky, E.Y. Kostetsky, I.M. Vasenden // J. Chromatography. 1975. Vol. 114, N 1. P.129-141.

USE OF AXES OF INFLORESCENCES OF ARALY MANCHZHURIKA FOR RESTORATION OF THE LIPIDIC EXCHANGE AT ALCOHOLIC INTOXICATION

© 2013 T.V. Momot¹, N.F. Kushnerova²

¹ Institute of Marine Biology named after A.V. Zhirmunskiy FEB RAS, Vladivostok

² Pacific Oceanological Institute named after V.I. Iluichev FEB RAS, Vladivostok

It was shown that the complex of biologically active substances, presented in the extract from the byoproducts of araliya Manchzhurika (*Aralia mandshurica* Rupr. et Maxim) processing - "Armafен", normalizes the ratio of the neutral lipids fractions and phospholipids pattern in animal's blood after intoxication ethyl alcohol. "Armafен" finds more expressed pharmacological properties, than the commercial preparation "Legalon", on ability to restore indicators of a lipidic exchange in blood serum.

Key words: *araliya Manchzhurika*, ethyl alcohol, lipids, blood serum