

УДК 577.121+615.324

ЛИПИДНАЯ ФРАКЦИЯ ИЗ МОРСКОЙ БУРОЙ ВОДОРΟΣЛИ *SACCHARINA JAPONICA* КАК ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО ПРИ ГЕПАТОЗАХ

© 2015 В.Г. Спрыгин¹, Н.Ф. Кушнерова¹, С.Е. Фоменко¹, Т.В. Момот^{2,3}, Т.В. Павлова¹¹Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН²Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток³Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН

Поступила в редакцию 01.04.2015

Показано, что липидная фракция, выделенная из водно-спиртового экстракта (70%) таллома бурой водоросли сахарины японской, содержащая комплекс нейтральных липидов и фосфолипидов с высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот семейства n-3 и n-6, оказывает гепатозащитное действие в условиях CCl₄-токсического гепатита у крыс. Отмечалось восстановление удельной массы печени и ее этерифицирующей функции, снижение активности аланинаминотрансферазы в крови и уровня малонового диальдегида в печени, снятие жировой инфильтрации за счет снижения количества общих липидов и восстановление фосфолипидного спектра мембран гепатоцитов. Действие липидного комплекса из сахарины японской в сохранении липидного обмена печени оказалось более эффективным, чем эталонного гепатопротектора «Эссенциале®». Сахарина японская представляет перспективный вид сырья для получения гепатопротекторных препаратов, содержащих эссенциальные фосфолипиды.

Ключевые слова: сахарина японская, печень, липидный обмен, фосфолипиды, четыреххлористый углерод, токсический гепатит

Патология печени различного генеза является широко распространенной причиной заболеваемости и смертности населения. В основе большинства механизмов гепатозов лежит повреждение мембранных структур гепатоцитов, что делает обоснованным применение средств, обладающих репаративными свойствами. К таковым относятся препараты, содержащие фосфолипиды. Эталонным гепатопротектором фосфолипидной природы считается широко известный в аптечной сети препарат «Эссенциале®» [6]. В то же время высокая стоимость и зарубежное производство определяют необходимость поиска отечественных источников сырья для получения препаратов с аналогичными свойствами. В последнее время все чаще внимание исследователей привлекают морские гидробионты, в частности, морские водоросли, в состав которых входит достаточно высокий процент

веществ липидной природы, в частности, фосфолипиды, содержащие полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) семейства n-3 и n-6 [7]. Однако работ, посвященных изучению гепатопротекторной активности липидных комплексов из морских водорослей крайне мало, что обуславливает актуальность проведения исследований в плане расширения ресурсного диапазона для получения природных гепатопротекторов, содержащих фосфолипиды. Наибольший интерес в этом отношении представляют собой массовые виды морских водорослей, имеющих пищевое значение. Ранее нами было показано [5], что липидный комплекс, выделенный из экстракта *Saccharina japonica* (ранее *Laminaria japonica*), содержит в значительных количествах фосфолипиды, которые преимущественно составляют мембранный матрикс. Также в состав комплекса входит целый ряд липидных фракций, являющихся важнейшими предшественниками биосинтеза фосфолипидов в организме животных и человека. В связи с этим представляется интересным изучить гепатопротекторные свойства комплекса липидов, выделенных из *Saccharina japonica*, в условиях экспериментального токсического гепатита.

Цель работы: явилось изучение гепатопротекторных свойств липидной фракции, выделенной из водно-спиртового (70%) экстракта таллома бурой морской водоросли *Saccharina japonica* при интоксикации крыс четыреххлористым углеродом.

Спрыгин Владимир Геннадьевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии. E-mail: vsprygin@poi.dvo.ru

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

Фоменко Светлана Евгеньевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии. E-mail: sfofenko@poi.dvo.ru

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

Павлова Татьяна Васильевна, старший инженер лаборатории биохимии. E-mail: pavlovat_81@mail.ru

Материалы и методы исследования. Образцы водоросли *Saccharina japonica* собирали в период с 1 августа по 30 сентября 2014 г. в прибрежной зоне залива Петра Великого Японского моря. Собранные образцы промывали профильтрованной морской водой и затем нагревали 2 мин. в кипящей воде для инактивации ферментов и обсушивали в тени на открытом воздухе. Далее водоросли сушили в помещении в потоке воздуха до суховоздушного состояния с остаточной влажностью 10-15%. Высушенные водоросли измельчали с помощью лабораторной мельницы Pulverisette 15 (Fritsch, Germany) до размера частиц 3-5 мм. Получение экстрактов проводили методом реперколяции с 70% этиловым спиртом в течение 48 часов при периодическом перемешивании. Объем экстракта на 100 г водоросли составлял 300 мл. Через 48 часов экстракт сливали, водоросли отжимали на сите и полученные извлечения объединяли.

Суммарную липидную фракцию из экстракта *Saccharina japonica* получали по методу Фолча [9]. Для этого 100 мл исходного экстракта упаривали на ротормном испарителе ($t < 30$ °C) для удаления спирта и разводили дистиллированной водой до исходного объема. Полученный образец подкисляли 0,1 н HCl и экстрагировали два раза по 200 мл смесью растворителей хлороформ: метанол – 2:1 (по объему). Для разделения фаз к экстракту добавляли раствор хлористого натрия (0,73%) в количестве 20% от объема. После разделения фаз хлороформный слой, содержащий липиды, отделяли на делительной воронке и упаривали на ротормном испарителе ($T < 37$ °C) до отсутствия запаха хлороформа. Выход липидного экстракта составил 1% от массы сухой водоросли, что согласуется с известными в литературе данными [8].

Эксперимент проводили на крысах-самцах линии Вистар массой тела 200-220 г, содержащихся в стандартных условиях вивария и на стандартном рационе питания. В качестве сравнения использовали коммерческий препарат «Эссенциале®» (полиненасыщенный фосфатидилхолин соевых бобов производства «Рон-Пуленк Рорер», Германия) [1]. Для создания острого токсического гепатита животным вводили в дорзальную шейную складку четыреххлористый углерод (ЧХУ) в дозе 2 мл/кг в 50% масляном растворе (оливковое масло) ежедневно в течение 4 дней [1]. С 5-го дня эксперимента одна группа животных получала в течение 7 дней эссенциале (в вазелиновом масле) в дозе 80 мг/кг [4], другая группа – липидный комплекс из *Saccharina japonica* в той же дозе (в вазелиновом масле). Животным контрольной группы вводили эквивалентное количество вазелинового масла. В ходе исследования были выделены следующие группы животных по 10 крыс в каждой: 1-я – контроль; 2-я – введение ЧХУ в течение 4 дней; 3-я – введение ЧХУ с последующей отменой (депривация) в течение 7 дней; 4-я – введение липидной фракции из сахарины в период

депривации в течение 7 дней; 5-я – введение эссенциале в период депривации в течение 7 дней. Через сутки после последнего введения препаратов крыс 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). Исследование одобрено Комиссией по вопросам этики Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева ДВО РАН.

Липиды из ткани печени экстрагировали по методу J. Folch et al. [9]. Количество общих липидов определяли весовым методом в мг на 1 г сухой ткани. Фракционное разделение фосфолипидов осуществляли методом двумерной микротонкослойной хроматографии на силикагеле, а их количественное определение по методу V.E. Vaskovsky et al. [12]. Использовали следующие системы растворителей [11]: в первом направлении – хлороформ: метанол: аммиак (28%-ный) (65:25:5 или 65:35:5, по объему), во втором – хлороформ: ацетон: метанол: ледяная уксусная кислота: вода (30:40:10:10:5 или 50:20:10:10:5, по объему). Для обнаружения холинсодержащих фосфолипидов (фосфатидилхолин, лизофосфатадилхолин, сфингомиелин) использовали реактив Драгендорфа [14]; липиды проявлялись в виде оранжевых пятен на желтом фоне. Для обнаружения фосфолипидов, содержащих аминокетильную группу (фосфатидилэтаноламин, лизофосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин), пластинки опрыскивали 5%-ным раствором нингидрина в ацетоне [11] с последующим нагреванием в течение 2-3 минут над парами воды до появления розовых пятен на белом фоне. Фосфолипиды, содержащие гидроксильную группу (фосфатидилинозит), обнаруживали с помощью периодатного реактива Шиффа [3], пятна липидов имели розово-сиреневый цвет. Для проявления всех фосфолипидных фракций применяли молибдатный реактив [12] и реагент на основе малахитового зеленого [13]. При этом липиды проявлялись в виде синих или зеленых пятен на белом фоне. Содержание отдельных фракций фосфолипидов выражали в процентах от их общего количества. В сыворотке крови определяли активность аланинаминотрансферазы (АлАТ; BIO-LA-TEST, Чехия), в печени – содержание малонового диальдегида (МДА) [2]. Обработку результатов проводили с использованием статистического пакета Instat 3.0 (GraphPad Software Inc. USA, 2005) с функцией проверки соответствия выборки закону нормального распределения. Для определения статистической значимости различий в зависимости от параметров распределения использовали параметрический t-критерий Стьюдента или непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. При изучении состава липидного комплекса из экстракта Сахарины японской было выявлено, что более 60% относится к категории мембрано-активных компонентов [5]. В качестве мембраноактивной фракции принимали сумму эссенциальных фосфолипидов и нейтральных липидов. Эссенциальные фосфолипиды составляли 65% мембраноактивной фракции липидов, при этом суммарное содержание основных структурных компонентов мембран фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина, а также предшественника биосинтеза фосфолипидов – фосфатидной кислоты составляло более 60%. Важным элементом этой композиции является высокое содержание (более 30%) в составе фосфолипидов ПНЖК семейства n-3 – предшественниц биологически активных эйкозаноидов [9].

Введение ЧХУ в течение 4 дней вызывало у животных типичную картину токсического гепатита с изменением биохимических показателей, характеризующих уровень свободно-радикальных процессов в организме и обмен липидов в печени. Отмечали достоверное увеличение в 1,4 раза ($4,8 \pm 0,33$ г/100 г массы против $3,43 \pm 0,21$ г/100 г массы в контроле; $p < 0,001$) удельной массы печени при одновременном снижении массы животных в опытной группе на 20% ($175 \pm 3,9$ г против $219 \pm 5,6$ г в контроле; $p < 0,001$). При визуальном обследовании в печени отмечалась сплошная зернистость жировых включений, то есть проявлялась выраженная жировая инфильтрация, характерная при интоксикации ЧХУ. Количество общих липидов в печени превышало контрольный уровень в 3 раза, что составляло $133,18 \pm 6,54$ мг/г ткани против $44,21 \pm 2,68$ мг/г ткани в контроле.

Таблица 1. Содержание фракций фосфолипидов в печени крыс после поражения четыреххлористым углеродом и введения липидной фракции таллома *S. japonica* и эссенциале (M \pm m)

Показатели	1 группа Контроль (интактные)	2 группа ЧХУ	3 группа Депривация	4 группа Депривация +экстракт таллома ульвы	5 группа Депривация +эссенциале
ФХ	44,12 \pm 0,61	40,84 ^{***} \pm 0,72	38,25 ^{***} \pm 0,75	^{**} 43,92 \pm 0,98	^{**} 44,80 \pm 0,96
ЛФХ	4,53 \pm 0,19	6,31 ^{***} \pm 0,31	7,56 ^{***} \pm 0,25	^{***} 4,15 \pm 0,19	^{***} 5,51 ^{*,3} \pm 0,23
СМ	9,40 \pm 0,46	11,65 [*] \pm 0,71	14,36 ^{***} \pm 0,65	^{***} 9,00 \pm 0,44	^{***} 9,72 ² \pm 0,51
ФЭ	22,30 \pm 0,93	20,11 ^{***} \pm 0,85	18,62 ^{***} \pm 0,78	[*] 23,31 \pm 0,84	^{**} 22,10 ¹ \pm 0,81
ЛФЭ	3,15 \pm 0,12	5,04 ^{***} \pm 0,17	5,86 ^{***} \pm 0,19	^{***} 3,25 \pm 0,19	^{***} 4,60 ^{*,3} \pm 0,16
ФС	4,32 \pm 0,19	3,42 ^{**} \pm 0,18	3,38 ^{**} \pm 0,18	^{***} 4,43 \pm 0,24	3,90 ^{*,3} \pm 0,21
ФИ	4,78 \pm 0,15	4,10 ^{***} \pm 0,14	3,85 ^{***} \pm 0,10	^{***} 4,60 \pm 0,24	[*] 3,91 ^{*,1} \pm 0,19
ФК	3,10 \pm 0,11	5,38 ^{***} \pm 0,16	5,02 ^{***} \pm 0,17	^{***} 2,90 \pm 0,09	^{***} 2,38 ^{*,3} \pm 0,11
ДФГ	4,30 \pm 0,13	3,15 ^{***} \pm 0,11	3,10 ^{***} \pm 0,09	^{***} 4,44 \pm 0,19	3,08 ^{*,3} \pm 0,09

Примечание: различия статистически достоверны при ^{*,1} - $p < 0,05$; ^{*,2} - $p < 0,01$; ^{***,3} - $p < 0,001$. Звездочки справа – сравнение с контрольной группой, звездочки слева – сравнение с 3-й группой (депривация), цифры справа – сравнение с 4-й группой. Сокращения: ФХ – фосфатидилхолин, ЛФХ – лизофосфатидилхолин, СМ – сфингомиелин, ФЭ – фосфатидилэтаноламин, ЛФЭ – лизофосфатидилэтаноламин, ФС – фосфатидилсерин, ФИ – фосфатидилинозит, ФК – фосфатидная кислота, ДФГ – дифосфатидилглицерин

О развитии токсического гепатита в данной экспериментальной модели свидетельствует повышение активности в крови фермента маркера цитолиза АлАТ в 6 раз ($236,63 \pm 29,65$ Ед/л против $38,56 \pm 3,18$ Ед/л в контроле; $p < 0,001$), обусловленное выходом фермента из гепатоцитов в кровь в результате повышения проницаемости мембран. Биохимическим механизмом этого феномена является активация перекисного окисления жирных кислот мембранных фосфолипидов, что в нашем эксперименте подтверждается двукратным увеличением содержания МДА ($81,6 \pm 4,2$ нмоль/г $39,8 \pm 2,3$ нмоль/г в контроле; $p < 0,001$) в печени крыс. Высокая активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) приводит к изменениям в соотношении фосфолипидных фракций гепатоцитов (табл.), что сопровождалось увеличением на 39%

($p < 0,001$) содержания лизофосфатидилхолина (ЛФХ), на 60% ($p < 0,001$) лизофосфатидилэтаноламина (ЛФЭ), на 74% ($p < 0,001$) фосфатидной кислоты (ФК), что обусловлено активацией фосфолипаз.

Отмечали снижение содержания основных структурных компонентов мембран – фосфатидилхолина (ФХ) и фосфатидилэтаноламина (ФЭ) на 7-10% ($p < 0,001$). Известно, что при активации свободнорадикальных процессов в мембранах в первую очередь подвергаются окислению полиненасыщенные жирные кислоты фосфолипидов, что и вызывает уменьшение содержания соответствующих фракций. Накопление лизофракций фосфолипидов в мембране гепатоцитов приводит к нарушению пространственно-функционального матрикса и вызывает компенсаторный ответ в виде увеличения количества сфингомиелина, кото-

рый наряду с холестерином, является ее стабилизатором. Уменьшение количества дифосфатидилглицерина (ДФГ) на 27% ($p < 0,001$) – основного фосфолипида митохондрий, предполагает нарушение в системе фосфорилирования и ресинтеза АТФ. Следует отметить, что снижение содержания метаболически активных фракций фосфатидилинозита (ФИ) на 14% ($p < 0,001$) и фосфатидилсерина (ФС) на 21% ($p < 0,001$), определяет угнетение активности мембраносвязанных ферментов.

Через 7 дней после отмены ЧХУ (период депривации) в печени подопытных животных (3-я группа) большинство изученных биохимических параметров не нормализовалось, что свидетельствовало о продолжающемся токсическом стрессе и недостаточности собственных защитных сил организма противостоять развитию токсической патологии. Так, масса животных в период отмены токсиканта (депривация) изменилась незначительно по сравнению со 2-й группой (ЧХУ) (увеличение на 5%) и составила $183,79 \pm 4,60$ г, тогда как относительно контроля сохранялась достоверно низкой (на 19%, $p < 0,001$). Удельная масса печени животных снизилась на 10% ($p < 0,05$) относительно 2-й группы (ЧХУ), что соответствовало $4,32 \pm 0,15$ г/100 г массы, но в то же время, еще достоверно превышало контрольный уровень на 26% ($p < 0,001$). В печени при вскрытии имелись зернистые включения липидов. Количество общих липидов в печени превышало контрольный уровень в 2,7 раза ($p < 0,001$), что составляло $118,35 \pm 10,56$ мг/г ткани. Достоверно высокими по сравнению с контролем сохранялась активность АлАТ (на 51%, $p < 0,05$) и уровень МДА на 58% (соответственно $58,22 \pm 2,14$ Ед/л и $62,88 \pm 3,18$ нмоль/г; $p < 0,001$). В период депривации были отмечены еще большие отклонения в соотношении фосфолипидных фракций гепатоцитов. Содержание лизофракций (ЛФХ и ЛФЭ) продолжало нарастать, что указывает на дальнейшую активацию ПОЛ и фосфолипаз. Содержание основных структурных компонентов мембран (ФХ и ФЭ) имело тенденцию к дальнейшему снижению по сравнению со 2-й группой, а относительно контрольных значений было снижено на 13-17% ($p < 0,001$). Содержание метаболически активных фракций (ФС, ФИ и ДФГ) оставалось на уровне 2-й группы, при дальнейшем увеличении содержания СМ, которое достигло 53% ($p < 0,001$) по отношению к контролю.

Введение липидного комплекса из *S. japonica* и эссенциале в период отмены ЧХУ показало, в общем, схожий биологический эффект, но с разной степенью выраженности. Так, в 4-й группе (*S. japonica*) масса тела крыс составляла $220 \pm 6,18$ г, тогда как в 5-й группе (эссенциале) – $202 \pm 5,12$ г, что на 8% ($p < 0,05$) ниже контрольных величин. Удельная масса печени в 4-й группе, в среднем, была

$3,38 \pm 0,09$ г/100 г массы, а в 5-й группе – $2,99 \pm 0,11$ г/100 г массы. Количество общих липидов в печени крыс 4-й группы относительно контроля полностью нормализовалось ($45,57 \pm 2,20$ мг/г ткани), тогда как в 5-й группе эта величина была на 20% ($p < 0,05$) выше ($53,19 \pm 2,51$ мг/г ткани). Активность АлАТ при введении комплекса липидов из *S. japonica* достоверно не отличалась от контроля ($41,62 \pm 2,31$ Ед/л), а при введении эссенциале была выше на 25% ($49,65 \pm 2,35$ Ед/л; $p < 0,05$), что свидетельствует о не полном восстановлении структуры мембран гепатоцитов. Величина МДА в 4-й группе также восстановилась до контрольных величин ($40,56 \pm 3,12$ нмоль/г печени), а при введении эссенциале была на 28% ($p < 0,05$) выше контроля ($50,09 \pm 3,08$ нмоль/г печени), что указывало на сохраняющийся повышенный уровень ПОЛ. При анализе фосфолипидного спектра в ткани печени животных 4-й и 5-й групп в сравнении с контрольными значениями, было отмечено, что введение комплекса липидов из *S. japonica* сопровождалось нормализацией исследуемых биохимических параметров. Так, до контрольных значений снизилось количество ЛФХ и ЛФЭ при одновременном увеличении содержания ФХ и ФЭ. Восстановилось соотношение метаболически активных фракций (ФК, ФИ, ФС, ДФГ) т.е. применение комплекса липидов из *S. japonica* в период депривации способствовало снятию токсического действия ЧХУ. При этом в группе эссенциале, несмотря на выраженную тенденцию к нормализации исследуемых биохимических показателей, были отмечены повышенные уровни ЛФХ и ЛФЭ, соответственно, на 22 и 46% ($p < 0,001$). В то же время, содержание ФК, ФИ, ФС и ДФГ не восстановилось до уровня контроля. Это указывает на сохраняющиеся последствия токсического стресса. Таким образом, применение комплекса липидов из *S. japonica* показало более высокую эффективность в восстановлении функции печени. По мнению авторов, основной причиной наблюдаемых различий является то, что биологической активности полиненасыщенного фосфатидихолина из соевых бобов, входящего в состав эссенциале, противопоставлен многокомпонентный липидный комплекс из *S. japonica*. Его более высокая эффективность, по нашему мнению, обусловлена наличием в составе практически всех известных классов фосфолипидов морского происхождения, обладающих репаративными свойствами. При этом свободные жирные кислоты с высокой степенью ненасыщенности (семейство n-3 и n-6) участвуют в преобразовании лизофосфолипидов в основные структурные компоненты мембран и метаболически активные фракции фосфолипидов.

Выводы: на основании полученных результатов следует, что применение липидного комплекса из экстракта *S. japonica* при экспериментальном ЧХУ-гепатите сопровождалось выраженным гепатозащитным действием, которое проявлялось в восстановлении массы животных и весовых показателей печени, нормализации липидного обмена и снижении перекисного окисления липидов. Механизм терапевтического действия липидного комплекса из *S. japonica* обусловлен восстановлением фосфолипидного паттерна мембран гепатоцитов за счет обеспечения необходимого набора пластических ресурсов в виде фосфолипидов и полиненасыщенных жирных кислот для репарации липидного бислоя плазматической мембраны, восстановления ее пространственно-функционального матрикса. По исследованным показателям липидный комплекс из *S. japonica* превосходит препарат «Эссенциале®».

Работа поддержана Российским научным фондом проект № 14-50-00034.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Венгеровский, А.И. Доклиническое изучение гепатозащитных средств / А.И. Венгеровский, И.В. Марков, А.С. Саратиков // Ведомости фармкомитета. 1999. №2. С. 9-12.
2. Гончаренко, М.С. Метод оценки перекисного окисления липидов / М.С. Гончаренко, А.М. Латинова // Лабораторное дело. 1985. №1. С. 60-61.
3. Кейтс, М. Техника липидологии. – М.: Мир, 1975. 300 с.
4. Саратиков, А.С. Влияние гепатопротекторов фосфолипидной природы на токсичность циклофосфана / А.С. Саратиков, А.В. Ратькин, В.Н. Фролов, В.С. Чучалин // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2004. №2. С. 43-47.
5. Спрыгин, В.Г. Морские водоросли – перспективный источник полифенольных антиоксидантов и комплексов эссенциальных фосфолипидов / В.Г. Спрыгин, Н.Ф. Кушнерова, С.Е. Фоменко, Л.А. Сизова // Известия Самарского научного центра РАН. 2012. Т.14. №1-9. С. 2299-2302.
6. Ушкалова, Е.А. Проблемы применения гепатопротекторов // Фарматека. 2004. №6. С. 45-55.
7. Хотимченко, С.В. Липиды морских водорослей-макрофитов и трав. Структура, распределение, анализ. Монография. – Владивосток: Дальнаука, 2003. 234 с.
8. Dawczynski, C. Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products / C. Dawczynski, R. Schubert, G. Jahreis // Food Chem. 2007. Vol.103, N3. P. 891-899.
9. Folch, J. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues / J. Folch, M. Less, G.H. Sloane-Stanley // J. Biol. Chem. 1957. Vol. 226, N1. P. 497-509.
10. Khotimchenko, S.V. Fatty acids of brown algae from the Russian Far East // Phytochemistry. 1998. Vol.49, N8. P. 2363-2369.
11. Rouser, G. Column chromatographic and associated procedures for separation and determination of phosphatides and glycolipids / G. Rouser, G. Kritchevsky, A. Yamamoto // Lipid Chromatographic Analysis Eds. G.V. Marinetti. – New York: Dekker, 1967: Vol. 1. P. 99-162.
12. Vaskovsky, V.E. A universal reagent for phospholipid analysis / V.E. Vaskovsky, E.Y. Kostetsky, I.M. Vasenden // J. Chromatography. 1975. Vol.114. N1. P. 129-141.
13. Vaskovsky, V.E. A Modified jungnikkel reagent for detecting phospholipids and other phosphorus compounds on thin-layer chromatograms / V.E. Vaskovsky, N.A. Latishev // J. Chromatography. 1975. Vol. 115. P. 246-249.
14. Wagner, H. Thin-layer chromatography of phosphatides and glycolipids / H. Wagner, L. Horhammer, F. Wolff // Biochem. Z. 1961. Vol. 334. N 2. P. 175-184.

LIPID FRACTION FROM BROWN SEAWEED *SACCHARINA JAPONICA* AS PHARMACOLOGICAL REMEDY AT HEPATOSIS

© 2015 V.G. Sprygin¹, N.F. Kushnerova¹, S.E. Fomenko¹, T.V. Momot^{2,3}, T.V. Pavlova¹

¹ Pacific Oceanological Institute named after V.I. Ilyichev FEB RAS

² Far East Federal University, Vladivostok

³ Institute of Marine Biology named after A.V. Zhirmunskiy FEB RAS

It was shown, that lipids fraction separated from water-ethanol extract (70%) of brown kelp thallome *Sacharina japonica* (*Saccharina japonica* (Miyabe)), containing combination of neutral and phospholipids with high content of polyunsaturated fatty acids of n-3 and n-6 family, possess hepatoprotective activity at CCL4-induced liver damage in Wistar rats. It was registered the restoration of the specific liver weight and its esterifying function, reducing of alaninaminotransferase activity in blood and malone dialdehyde level in liver, diminution of fatty infiltration because of decreasing of general lipids and restoration of phospholipids pattern of hepatocyte membranes. It was shown that lipid complex from *Sacharina japonica* facilitates normalization of liver lipid metabolism indexes more effective, than reference hepatoprotector "Essentiale®". *Sacharina japonica* is a promising raw material for obtaining of hepatoprotectors containing essential phospholipids.

Key words: *Sacharina japonica*, liver, lipid metabolism, phospholipids, carbon tetrachloride, toxic hepatitis

Vladimir Sprygin, Candidate of Biology, Leading Research Fellow at the Biochemistry Laboratory. E-mail: vsprygin@poi.dvo.ru; Nataliya Kushnerova, Doctor of Biology, Professor, Chief of the Biochemistry Laboratory. E-mail: nata-sha50@mail.ru; Svetlana Fomenko, Candidate of Biology, Leading Research Fellow at the Biochemistry Laboratory. E-mail: sfomenko@poi.dvo.ru; Tatiana Momot, Candidate of Medicine, Associate Professor at the Department of Fundamental Medicine, Research Fellow at the Pharmacology Laboratory. E-mail: kushnerova83@mail.ru; Tatiana Pavlova, Senior Engineer at the Biochemistry Laboratory. E-mail: pavlovat_81@mail.ru