

ДОСЛІДЖЕННЯ МЕМБРАНОСТАБІЛІЗУВАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ ПЕРСИКА ЗВИЧАЙНОГО

Зайченко Г. В., Міщенко О. Я., Шаріфов Х. Ш., Халєєва, О. Л.
Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

У дослідженнях останніх років виявлено, що провідним механізмом патогенезу багатьох захворювань та дистресу є дисбаланс в системі перекисного окислення ліпідів і антиоксидантного захисту. Надлишок вільних радикалів супроводжується індукцією процесів вільнорадикального окислення біомакромолекул. При цьому порушується структурно-функціональна цілісність клітинних мембран, і, як наслідок, відбувається пошкодження клітин організму [3]. У зв'язку з цим одним із шляхів підвищення адаптації організму до несприятливих умов навколишнього середовища, підвищення його стресостійкості є використання засобів антиоксидантної дії. Найбільш перспективним напрямком є застосування засобів рослинного походження, що містять поліфенольні сполуки з антиоксидантними властивостями, мають широкий спектр дії та мінімальні побічні ефекти при їх тривалому застосуванні [7, 9].

У листях персика звичайного (*Persica vulgaris* L.) широко представлені флавоноїди, які знаходяться у вигляді глікозидів і вільних молекул (кемпферол-3-глюкопіранозид, кемпферол-3-софорозид, кверцетин-3-софорозид, кверцетин) [5, 13]. Відомо, що флавоноїди мають високу антирадикальну активність. Будучи антиоксидантами, вони захищають клітини організму від шкідливої дії активних радикалів, які постійно утворюються в результаті природних метаболічних процесів, а також під впливом зовнішніх факторів (забруднення навколишнього середовища, куріння, радіація, побутова хімія). Негативний вплив вільних радикалів проявляється також прискоренням процесу старіння організму, порушенням імунітету, виникненням онкологічних захворювань [2, 12, 20]. Антиоксидантні властивості флавоноїдів визначаються фенольним фрагментом молекули, який має високу рухливість електронів. Структурний аналіз та експериментальні дані свідчать про прямий взаємозв'язок між антиоксидантною активністю флавоноїдів і кількістю фенольних ОН-груп в їх молекулах [1, 6]. Флавоноїди, виступаючи донорами атомів водню, здійснюють зв'язування іонів металів вільних радикалів. Хелатування іонів металів вільних радикалів є ще одним важливим механізмом антиоксидантної дії природних флавоноїдів [11]. Флавоноїди можуть виступати як структурні антиоксиданти. Проникаючи в гідрофобну область мембрани, молекули флавоноїдів зменшують рухливість ліпідів, що знижує ефективність взаємодії вільних радикалів з новими ліпідними молекулами. Антиоксидантна активність флавоноїдів зростає в присутності аскорбінової кислоти [14]. Висока антиоксидантна активність флавоноїдів може бути наслідком їх гальмівного впливу на ферменти і зв'язування гормонів з цитоплазматичними та ядерними рецепторами, а також індукція експресії генів [4]. Флавоноїди, будучи антиоксидантами, інактивують вільні радикали, змен-

шують інтоксикацію, пом'якшують прояви побічних ефектів, викликаних синтетичними ксенобіотиками [2].

Флавоноїди забезпечують адаптогенну активність екстракту з листя персика звичайного. Вони виявляють здатність обмежувати дію стресу, забезпечують його профілактику, послаблюють симптоматику наявного стресу, знижують його потенційні наслідки, які призводять до значного порушення імунітету, підвищують стійкість організму до впливу несприятливих зовнішніх факторів [12]. Антиоксидантну активність флавоноїдів листя персика звичайного можна розглядати як можливий механізм, через який реалізуються детоксикаційний, адаптогенний, імуномодулювальний і протипухлинний ефекти [11, 12].

З огляду на те, що до складу густого екстракту з листя персика звичайного входять поліфенольні сполуки 12,8% (серед них сума флавоноїдів становить 4,71%), які виявляють антиоксидантну активність, було доцільним провести дослідження їх мембраностабілізуючих властивостей.

Матеріали та методи. Досліджено густий екстракт з листя персика звичайного (ГЕЛП), який отримано на кафедрі хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету під керівництвом проф. Кисличенко В. С. шляхом упарювання 30% спиртового витягу з листя персика сорту «Сальве», заготовленого в Таджикистані в серпні 2014 року після збору плодів. Вологість густого екстракту становила 10,93% [15].

Вивчення мембранопротекторних властивостей ГЕЛП проводили методом спонтанного гемолізу за Jager F.S. [10]. Метод заснований на вимірюванні концентрації позаеритроцитарного гемоглобіну, що надходить у сироватку крові внаслідок лізису мембран еритроцитів, викликаного перекисним окисненням мембранних ліпідів киснем повітря. У даному експерименті як препарат порівняння використовували токоферолу ацетат – синтетичний препарат природного антиоксиданту вітаміну Е [17] та препарат «Імуно-Тон», аналог за фармакологічною дією. Критерієм вибору вітаміну Е послужили його антиоксидантні властивості, тобто здатність ефективно «гасити» синглетний кисень і «перехоплювати» вільні радикали [1]. Як обов'язковий компонент біологічних мембран токоферолу ацетат виявляє протективні властивості щодо стабілізації мембранних структур. Крім того, у порівнянні з іншими антиоксидантами вітамін Е – один з найбільш ефективних і тому часто використовується в експериментальній фармакології як стандартний препарат з мембраностабілізуючими властивостями. Виходячи з дози для людини (300 мг/кг), умовнотерапевтична добова доза вітаміну Е для щурів склала 50 мг/кг [19].

У дослідах використовували безпородних білих щурів самців масою 180-200 г. Досліджувані препарати тваринам вводили щодня внутрішньошлунково. Контрольні тварини отримували воду. На 14-у добу досліду у всіх тварин брали кров із хвостової вени і визначали ступінь гемолізу еритроцитів у дослідних і контрольній групах ($\lambda = 540$ нм). Розрахунок проводили за формулою:

$$X = \frac{(E1 + E2)}{2E3} \times 100\%,$$

де $E1$ - екстинкція першої проби з робочим розчином;

E2 - екстинкція другої проби з робочим розчином;

E3 - екстинкція проби з дистильованою водою.

При проведенні досліджень дотримувалися «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001), що узгоджуються з директивами Європейського Союзу 2010/10/63 EU із захисту тварин, які використовуються для наукових цілей [18].

Статистичну обробку результатів проводили методами варіаційної статистики за допомогою стандартного пакету статистичних програм «Statistica, V. 6,0» [8, 16].

Результати та їх обговорення. Результати дослідження мембраностабілізувальної дії ГЕЛП на моделі спонтанного гемолізу наведені в таблиці.

Таблиця

Мембраностабілізувальна дія ГЕЛП та препаратів порівняння на моделі спонтанного гемолізу

Умови досліджу	n	Доза	Ступінь гемолізу, %	Мембраностабілізувальна активність, %
Інтактний контроль	6		23,85±1,18	-
ГЕЛП	6	100 мг/кг	17,45±1,32*	26,8
Вітамін Е	6	50 мг/кг	16,40±1,42*	31,0
Сироп «Імуно-Тон»	6	15 мл/кг (1:100)	18,77±1,32	21,3

Примітки:

1. * – відхилення достовірні щодо інтактного контролю, $p < 0,05$;
2. n – кількість тварин у групі.

У ході експерименту достовірно зниження ступеня спонтанного гемолізу в дослідних тварин у порівнянні з групою інтактного контролю спостерігали під дією ГЕЛП та еталонного антиоксиданта вітаміна Е.

Досліджуваний засіб ГЕЛП виявляв мембраностабілізувальну активність на рівні класичного антиоксиданта вітаміна Е. Аналог за фармакологічною дією препарат порівняння «Імуно-Тон» у дозі 15 мл/кг не чинив вірогідного захисного впливу на мембранні структури еритроцитів.

Висновки

Густий екстракт з листя персика звичайного на моделі спонтанного гемолізу виявив помірну мембраностабілізуювальну активність. За вираженістю даного виду активності він не поступався класичному антиоксиданту вітаміну Е. Препарат порівняння «Імуно-Тон» не виявив вірогідного гальмівного впливу на гемоліз.

Література

1. Антиоксидантная активность некоторых фитопрепаратов, содержащих флавоноиды / О. Л. Кулагин и др. // Фармация. – 2007. – Т. 55, № 2. – С. 30–32.
2. Антиоксиданты: клинико-фармакологический аспект / И. С. Чекман и др. // Український медичний часопис. – 2014. – №1 (99). – С. 36-39.
3. Зайченко, Г. В. Вплив екстракту листя персика на стан метаболічних процесів та прооксидантно/антиоксидантний баланс щурів в умовах хронічного іммобілізаційного стресу / Г. В. Зайченко, Х. Ш. Шаріфов, О. Я. Міщенко, О. Ю. Кошова // ScienceRise. Pharmaceutical Science. – 2017. – № 1 (5). – С. 13-16.
4. Кобзар А. Я. Фармакогнозія в медицині / А. Я. Кобзар – К.: Медицина, 2007. – 544 с.
5. Корнильев Г. В. Изменение содержания фенольных веществ в плодах и листьях нектарина / Г. В. Корнильев, В. Н. Ежов // Вестник Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина. Серия биология. – 2009. – № 10 (878). – С. 21-27.
6. Корнильев Г. В. Об антиоксидантной активности листьев некоторых сортов нектарина / Г. В. Корнильев, В. Н. Ежов // Бюллетень Никитского ботанического сада. – 2008. – № 97. – С. 68-71.
7. Куркин, В. А Фенилпропаноиды лекарственных растений: прогноз антиоксидантной и иммуномодулирующей активности [Электронный ресурс] / В. А. Куркин, В. В. Поройков // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 2, Ч. 2. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=22694>
8. Лапач, С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К.: Морион, 2000. – 320 с.
9. Липкан, Г. Н. Лекарственные растения – адаптогены [Текст]: 3-е изд- переработан., исправл. и доп. / Г. Н. Липкан. – К., 2014. – 686 с.
10. Посібник до лабораторних і семінарських занять з біологічної хімії / Л. М. Вороніна та ін. – Харків: Основа, 1996. – 432 с.
11. Природные флавоноиды / Д. Ю. Корулькин и др. – Новосибирск: Академическое изд-во «Гео», 2007. – 232 с.
12. Растительные флавоноиды как функциональные добавки в косметических и пищевых продуктах / М. В. Кривченкова, Е. В. Клышинская, М. А. Ильиных, С. Н. Бутова // Вестник Российской академии естественных наук. – 2012. – № 3. – С. 47-51.
13. Упир Л. В. Персик звичайний. // Фармацевтична енциклопедія: 2-ге вид., перероб. і доп. / гол. ред. ради та автор передмови В. П. Черних. – К.: Моріон, 2010. – С. 1079.
14. Филиппенко Т. А. Антиоксидантное действие экстрактов лекарственных растений и фракций их фенольных соединений / Т. А. Филиппенко, Н. Ю. Грибова // Химия растительного сырья. – 2013. – № 1. – С. 77-81.

15. Фитохимическое и фармакологическое изучение листьев *Persica vulgaris*, заготовленных в Таджикистане / Л. В. Ленчик, Г. Ф. Наврузова, В. С. Кисличенко и др. // «Vestnik» of the South-Kazakhstan state pharmaceutical academy. – 2014. – Т. 4, №3 (68). – С. 126-132.
16. Халафян, А. А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных: учеб. / А. А. Халафян. – М.: ООО «Бином-Пресс», 2007. – 512 с.
17. A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications / R. Rahimi et al. // Biomed Pharmacother. – 2005. – Vol. 59, № 7. – P. 365-373.
18. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes // Official Journal of the European Union. – 2010. – L. 276. – P. 33-79.
19. Effect of Chronic Treatment with Vitamin E on Endothelial Dysfunction in a Type I in Vivo Diabetes Mellitus Model and in Vitro / S. Dhein et al. // J. of Pharmacology And Experimental Therapeutics Fast Forward. – 2003. – Vol. 305 (Issue 1). – P. 114-122.
20. Inhibitory activity of flavonoids from *Prunus davidiana* and other flavonoids on total ROS and hydroxyl radical generation / M. J. Jung et al. // Archives of Pharmacal Research. – 2003. – № 26 (10). – P. 809-815.