

ВПЛИВ ЕЛАГОВОЇ КИСЛОТИ ОТРИМАНОЇ ІЗ СУПЛІДЬ ВІЛЬХИ КЛЕЙКОЇ І СІРОЇ НА ФУНКЦІОНАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ МІКРОСОМ ІЗ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ

**Гордієнко А.Д., д.фарм.н., доцент,
Корнієнко В.І., к.фарм.н.,
Ладогубець О.В., к.б.н., доцент,
Пономаренко О.В., к.вет.н., с.н.с.,
Гаркуша І. В., асистент**

Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків

Анотація. Показано, що в системі *in vitro* субстанція елагової кислоти, отриманої із суплідь вільхи клейкої і сірої, інгібує процеси ферментативного і аскорбатзалежного ПОЛ інтактних мікросом і відновлює гідроксилазну активність мікросом в умовах експериментального токсичного гепатиту, викликаного тетрахлорметаном.

Ключові слова: елагова кислота, ферментативне і аскорбатзалежне ПОЛ, гідроксилазна активність, мікросоми.

Актуальність проблеми. Антиоксидантні лікарські засоби як інгібітори процесу патологічного перекисного окислення мембранних ліпідів (ПОЛ) продовжують знаходитись у полі зору науковців-фармакологів через універсальність цього процесу як відповідної реакції організму на дію різноманітних ушкоджуючих факторів зовнішнього середовища [1]. Інтенсифікація ПОЛ під час багатьох захворювань, в тому числі і при захворюваннях печінки, призводить до порушення функції клітин органів, перш за все внаслідок ушкодження їх мембранного апарату. При цьому продукти ПОЛ змінюють фізико-хімічні властивості клітинних мембран і виступають провідними факторами явищ деструкції й цитолізу. Гальмування розвитку ПОЛ можливе за рахунок створення потужного резерву антиоксидантного захисту, спрямованого на інактивацію вільних радикалів. Численними дослідженнями доведено наявність прямих антирадикальних властивостей у природних фенольних сполук, зокрема дубильних речовин, різнобічне фармакологічне вивчення яких висвітлюється в науковій літературі [2, 3]. Захисний механізм дії гепатопротекторів, як відомо, обумовлений їх антиоксидантними властивостями [4].

Завданням дослідження було вивчення впливу субстанції на основі дубильних речовин елагової кислоти на процеси ПОЛ інтактних мікросом з печінки щурів у системі *in vitro* і на гідроксилазну активність мікросом в умовах експериментального гепатиту, викликаного тетрахлорметаном у безпородних щурів порівняно з біофлавоноїдним антиоксидантом кверцетином.

Матеріали і методи дослідження. Елагова кислота (ЕК) була отримана із суплідь вільхи клейкої (*Alnus glutinosa*) і сірої (*Alnus cinerea*) (сім. *Betulaceae*) методом латентного гідролізу елаготанінів у м'яких умовах. ЕК належить до класу гідролізованих дубильних речовин і містить у структурі чотири фенольні гідроксили, атоми водню яких можуть брати участь в інактивації вільних радикалів і таким чином стримувати аномальну ліпопероксидацію.

Досліди проводили на білих щурах-самцях масою 200-220 г. Мікросоми з печінки щурів виділяли за методом [5]. Вплив досліджуваної субстанції на ферментативне та аскорбатзалежне ПОЛ інтактних мікросом реєстрували за швидкістю вбирання кисню, як зазначено в роботі [6]. Модель гострого гепатиту, викликаного тетрахлорметаном та схему введення тваринам субстанції елагової кислоти та препарату порівняння кверцетину в дозах 1мг/кг і 100 мг/кг відповідно робили як описано в роботі [7]. Функціональну активність мікросом визначали за швидкістю окислювального гідроксилування амідопірину [8]. Вбирання кисню суспензією мікросом визначали за допомогою кисневочутливого електрода типу Кларка при температурі +30°C на полярографі LP-7e (Чехія). Вміст білка мікросом визначали за методом Лоурі [9]. Статистичну обробку проводили з використанням критерію Ст'юдента.

Результати дослідження. У табл. 1 представлені дані вивчення антиоксидантних властивостей елагової кислоти і кверцетину в порівнянні з іонолом.

Таблиця 1

Вплив елагової кислоти на ПОЛ інтактних мікросом з печінки щурів у системі *in vitro*, (M±m; n=6)

Субстанції	ID ₅₀ , мкг/мл	
	ферментативне ПОЛ	аскорбатзалежне ПОЛ
елагова кислота	6,0±0,5* p<0,05	2,0±0,15* p<0,05
кверцетин	47,0±6,0* p<0,05	48,0±5,0* p<0,05
іонол	500,0±50,0	480,0±45,0

Примітка. ID₅₀ – концентрація субстанцій в мкг/мл, яка інгібує процеси ПОЛ мікросом на 50,0 %,

* – відмінності вірогідні в порівнянні з іонолом,
n – кількість спостережень

Як видно з табл. 1 величини ID₅₀, рівні концентраціям препаратів, які інгібують ПОЛ на 50,0%, свідчать про те, що елагова кислота і кверцетин проявляли антиоксидантну дію як в умовах ферментативного, так і аскорбатзалежного ПОЛ інтактних мікросом. Причому антиоксидантна активність елагової кислоти при ферментативному ПОЛ була в 3 рази вищою ніж при аскорбатзалежному ПОЛ.

Антиоксидантний ефект елагової кислоти (ID₅₀=6,0±0,5мкг/мл) був у 7,8 разів вищим, ніж у кверцетину (ID₅₀=47,0±6,0 мкг/мл) і в 83,3 разів вищим, ніж у іонолу (ID₅₀=500,0±50,0 мкг/мл) при ферментативному ПОЛ мікросом. При аскорбатзалежному ПОЛ мікросом активність елагової кислоти (ID₅₀=2,0±0,15мкг/мл) була в 24,0 рази вищою за активність кверцетину (ID₅₀=48,0±5,0мкг/мл) і в 240,0 раз вищою за активність іонолу (ID₅₀=480,0±45,0 мкг/мл).

Порівняльні дані елагової кислоти і кверцетину вказують на те, що елагова кислота проявляла у 7,8 разів більш високу антиоксидантну активність, ніж кверцетин при ферментативному ПОЛ і в 24,0 рази вищу – в умовах аскорбатзалежного ПОЛ мікросом.

Високий антиоксидантний ефект елагової кислоти можна пояснити високим вмістом ОН-груп у їх молекулах, а також їх взаємним розташуванням і особливостями структури самих молекул [2, 3].

За умов гострого гепатиту, викликаного тетрахлорметаном, через 24 год після отруєння тварин токсикантом вірогідно знижується швидкість окислювального гідроксилування амідопірину в мікросомах печінки щурів (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив елагової кислоти на окиснювальне гідроксилування амідопірину мікросом в умовах ураження печінки щурів тетрахлорметаном, (M±m; n=6)

Умови експерименту	V _{амідоп.} /V _{НАДФН}
інтактний контроль	2,000±0,075
патологія, тетрахлорметан	1,12±0,02* p<0,05
тетрахлорметан + елагова кислота в дозі 1,0 мг/кг	1,620±0,065** p<0,05
інтактний контроль	1,72±0,07
патологія, тетрахлорметан	1,10±0,03* p<0,05
тетрахлорметан + кверцетин в дозі 100,0 мг/кг	1,40±0,05** p<0,05

Примітки: 1. * – відмінності вірогідні в порівнянні з інтактним контролем.

2. ** – відмінності вірогідні в порівнянні з патологією

3. V_{амідоп.}/V_{НАДФН} – гідроксилазна активність мікросом, відношення швидкості поглинання кисню мікросомами при окисненні НАДФН у присутності амідопірину до швидкості вбирання кисню при окисненні НАДФН.

Таке зниження однієї з основних функціональних характеристик мікросом при отруєнні тварин токсикантом, очевидно, зумовлено різким падінням рівня цитохрому P-450, а також зниженням вмісту фосфоліпідів у мембранах мікросом [4].

Елагова кислота у дозі 1,0 мг/кг, введена тваринам внутрішньошлунково на тлі патології тетрахлорметаном, вірогідно збільшувала гідроксилазну активність мікросом, в такій же мірі як і препарат кверцетин у дозі 100,0 мг/кг (табл. 2).

Таким чином, гепатозахисний ефект елагової кислоти обумовлений антиоксидантною дією і проявлявся в дозі значно меншій (у 100 разів) у порівнянні з кверцетином.

Висновки

1. В системі *in vitro* елагова кислота в значно більшій мірі ніж кверцетин проявляє антиоксидантну активність в умовах як ферментативного, так і аскорбатзалежного ПОЛ інтактних мікросом.
2. В умовах гострого гепатиту, викликаного тетрахлорметаном, елагова кислота вірогідно збільшує гідроксилазну активність мікросом і може бути рекомендована для подальшого фармакологічного вивчення як препарат гепатопротектор.

Література

1. Природні антиоксидантні засоби в експерименті і клініці / В.А. Туманов, Н.О. Горчакова, Є.М. Горбань та ін. // Фітотерапія. – 2002. – №3–4. – С.3–11.
2. Фенольные антиоксиданты / Н.К. Зенков, Н.В. Кандалинцева, В.З. Ланкин и др. – Новосибирск, 2003. – 205с.
3. The inhibitory effect of tannins on lipid peroxidation of rat heart mitochondria / Hong Chuang–Ye, Wang Chein–Ping, Huang Shiang–Suo et al. // J. Pharm. and Pharmacol. – 1995. – Vol. 47, № 2. – P. 138–142.
4. Гордієнко А.Д. Експериментальне обґрунтування створення нових гепатопротекторів на основі есенціальних фосфоліпідів та поліфенолів // Автореф.дис.докт.фарм.наук. –Харків. – 2011. – 36 с.
5. Kamath S.A. Interaction of Ca²⁺ with endoplasmic reticulum of rat liver: a standardised procedure for the isolation of rat liver microsomes / S.A. Kamath, K.A. Narayan // *Analyt. Biochem.* – 1972. – Vol. 48, № 1. – P. 53–61.
6. Гордиенко А.Д. Влияние гепатопротекторов – флакумина и эссенциале на скорость потребления кислорода при ферментативном и аскорбатзависимом перекисном окислении липидов микросом *in vitro* и *in vivo* / А.Д. Гордиенко, В.В. Левченко, Г.В. Оболенцева // *Лабораторные животные.* – 1992. – Т.2, №1. – С.5–8.
7. Гордієнко А.Д. Вплив таблеток альтан на перекисне окислення ліпідів та гідроксилазну активність мікросом із печінки щурів при СС14 –гепатиті / А.Д. Гордієнко, Л.В. Яковлева // *Експериментальна та клінічна медицина.* –2000. – №4. – С.16–17.
8. Чистяков В.В. Влияние аминазина, фенобарбитала и их сочетания на активность гидроксизазной системы печени и на фармакологический эффект этих препаратов / В.В. Чистяков, Л.А. Ратникова, Э.Ф. Лавреция // *Фармакология и токсикология.* – 1977. – Т. 40, № 4. – С. 438–441.
9. Protein measurement with the folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.J. Rosenbrough, A.L. Farr et al. // *J.Biol.Chem.* – 1951. –Vol. 193, № 1. – P. 265–275.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЛАГОВОЙ КИСЛОТЫ ПОЛУЧЕННОЙ ИЗ СОПЛОДИЙ ОЛЬХИ КЛЕЙКОЙ И СЕРОЙ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МИКРОСОМ ИЗ ПЕЧЕНИ КРЫС
Гордиенко А.Д., д.фарм.н., доцент, Корниенко В.И., к.фарм.н., зав.кафедрой, Ладогубець Е.В., к.б.н., доцент, Пономаренко О.В., к.вет.н., с.н.с., Гаркуша И. В., ассистент
Харьковская государственная зооветеринарная академия, г.Харьков

Аннотация. Показано, что в системе *in vitro* субстанция эллаговой кислоты, полученной из соплодий ольхи клейкой и серой, ингибирует процессы ферментативного и аскорбатзависимого ПОЛ интактных микросом и восстанавливает гидроксизазную активность микросом в условиях экспериментального токсического гепатита, вызванного тетрахлорметаном.

Ключевые слова: эллаговая кислота, ферментативное и аскорбатзависимое ПОЛ, гидроксизазная активность, микросомы.

EFFECT OF ELAGIC ACID PRODUCED FROM FLOSCULES OF STICKY AND GREY ALDER ON THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF MICROSOMES FROM LIVER OF RATS

Gordiyenko A.D., doctor of pharmacological science, reader,
Kornienko V.I., candidate of pharmacological science, head of the department,
Ladogubets O.V., candidate of biological science, reader,
Ponomarenko O.V., candidate of veterinary science, senior researcher,
Garkusha I.V., assistant

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv

Summary. It has been demonstrated that *in vitro* system the substance of elagic acid produced from the floscules of sticky and grey adler inhibits the processes of fermentative and ascorbatdependant POL intact microsomes and reactivates hydroxylase activity of microsomes in the conditions of the experimental toxic hepatitis caused by tetrachlormetan.

Key words: elagic acid, fermentative and ascorbatdependant POL, hydroxylase activity, microsomes.