

УДК 57.081.23

МЕХАНИЗМЫ РЕАЛИЗАЦИИ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА ЛЮЦЕРНЫ ПОСЕВНОЙ**Е.Е. Пономарев¹, А.Н. Крячко², Е.В. Кузнецова¹, Н.В. Байматов³, Р.Р. Максютков¹**¹ БИТУ (филиал) МГУТУ им. К.Г. Разумовского (ПКУ), г. Мелеуз, Россия² ООО «Эраконд», г. Стерлитамак, Россия³ Федеральное медико-биологическое агентство РФ, г. Москва, Россия**ВВЕДЕНИЕ**

Медико-статистические данные свидетельствуют о росте так называемых радиоиндуцированных повреждений, в том числе и онкопатологии. Сложившаяся радиоэкологическая обстановка на современном этапе развития цивилизации сопровождается ростом острой и хронической лучевой патологии.

К числу эффективных средств для профилактики острой и хронической лучевой патологии относятся полифенольные соединения растительного генеза. Из существующего спектра антиоксидантов полифенольные соединения отличаются повышенной фармакологической способностью. Известно, что антиоксидантная активность полифенолов обуславливается рядом факторов: наличием в структуре гидроксильных (-ОН) групп, алкильных (-СН₃) и терпеновых (СН = С(СН₃)₃-СН = СН₂) групп в орто-положении [6].

Полифенолы реализуют, как известно, антиоксидантный эффект с помощью широкого спектра механизмов: скавенированием активных форм кислорода (АФК), хелатированием переходных металлов, ингибированием оксидаз. По мнению ряда авторов, механизмы отдачи атомов водорода гидроксильными группами играют существенно большую роль в реализации антирадикальных свойств полифенолов, чем механизмы образования фенокси-радикалов (ароксидов) за счет делаколизации неспаренных электронов в ароматические кольца [6]. Полифенолы, в отличие от других антиоксидантов, являются экзогенными субстратами для синтеза *in vivo* эндогенных антиоксидантов, в частности убихинона [5]. Убихинон, или Кофермент Q, синтезируется в организме из мевалоновой кислоты, фенилаланина и тирозина. Убихинон, представляющий 2,3 – метокси-5-метил – 1,4 – бензохинон с изопреновой цепью в 6-м положении, относится к эффективным эндогенным антиоксидантам благодаря наличию в его структуре ряда функциональных групп с антиоксидантной активностью. Высокая антирадикальная активность Коэнзима Q обусловлены химическим строением соединения, которая в орто-положении имеет метильную (-СН₃) группу, а в мето-положении остатки изопрена, число которых может варьировать от 6 до 10. Две метоксигруппы (-ОСН₃) у 2-го и 3-го атомов углерода фенольного кольца также способны инактивировать свободные радикалы: смещение электронов в атоме кислорода в сторону фенольного кольца приводит к увеличению полярности – О-СН₃связи, поэтому убихинон легко вступает в окислительно-восстановительные реакции со свободными радикалами (R•). Убихинон Q содержит в орто-положении метильную группу (СН₃), которая обуславливает антирадикальную активность рассматриваемого кофермента дыхательной цепи митохондрий. Результаты исследований последних лет позволили прийти к выводу, что относительно высокой активностью характеризуются пространственно-затрудненные (ПЗФ), или так называемые экранированные фенолы (ЭФ), которые помимо гидроксильных групп содержат заменители в орто-положении фенольного кольца и метильный радикал в пара-положении [1, 2].

С учётом вышеизложенного следует считать перспективными исследования, направленные на идентификацию в продуктах питания и лекарственных растениях фармакологически активных полифенольных соединений, содержащих в своём составе широкий спектр функциональных групп (гидроксильные, алкильные, терпеновые), обеспечивающих высокую степень антирадикальных свойств.

Цель исследования – идентификация высокоэффективных флавоноидов в составе 40 %-го водного экстракта люцерны посевной.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для анализов «Эраконд» растворяли в элюенте (ацетонитрил: вода=80:20), концентрация составила 10 мг/мл. Данный образец анализировался методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Хроматографический анализ проводили на системе Waters Breeze со спектрофотометрическим детектором при длинах волн 275 и 360 нм. Определение проводили при градиентном элюировании на колонке Luna C18 250x4.6 мм, 5 мкм. Скорость потока подвижной фазы 1 мл/мин.

Для количественного определения флавоноидов в представленном образце были построены градуировочные графики для смесей стандартов флавоноидов с концентрациями стандартных веществ 0.005 мг/мл, 0.01 мг/мл, 0.025 мг/мл и 0.05 мг/мл (хроматограмма рис. 1).

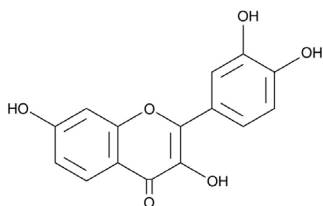


Рисунок 2 – Структурная формула физетина

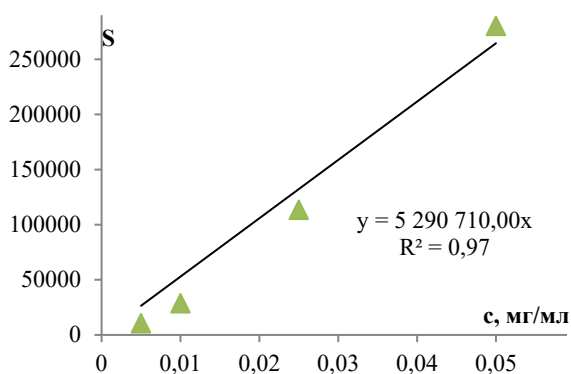


Рисунок 3 – Градуировочный график для физетина (длина волны определения 275 нм)

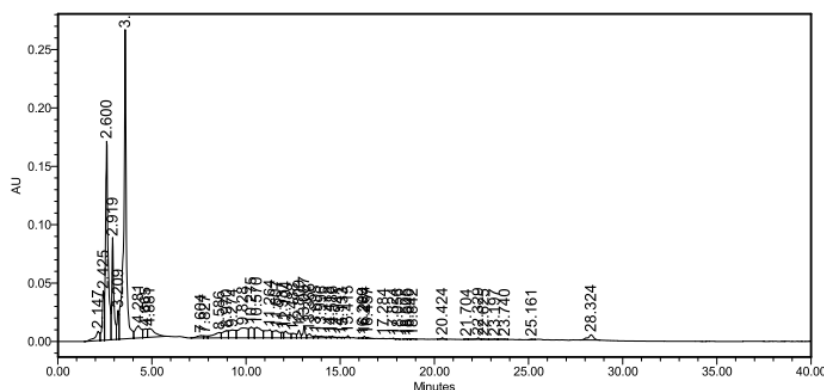


Рисунок 1 – Хроматограмма образца «Эраконд» (длина волны определения 275 нм)

РЕЗУЛЬТАТЫ

Одна из задач радиобиологии – идентификация эффективных радиопротекторов, в том числе относящихся к полифенольным соединениям. В качестве радиопротектора широко используется люцерна посевная, на основе которой выпускается БАД «Эраконд». В ходе экспериментальных исследований, реализованных в ИОХ Уфимского Научного Центра РАН (г. Уфа), в составе 40 %-го водного раствора «Эраконда» идентифицирован биофлавоноид физетин (рис. 2).

Для идентификации и количественного анализа физетина в составе 40 %-го водного экстракта «Эраконда» использован стандарт данного флавоноида (рис. 3).

В результате хроматографического анализа в БАД «Эраконд» идентифицирован физетин в следующих концентрациях: $0,72 \pm 0,08$ мг (0,07 %) – спектрофотометрия при длине волны 360 нм, $15,0 \pm 3$ мг (1,5 %) – спектрометрия при длине волны 275 нм. Одна из задач данной работы состояла в раскрытии механизмов антирадикальной активности физетина.

Физетин, как известно, относится к классу питательных веществ – антиоксидантов, potenziрующих биологические эффекты аскорбиновой кислоты. Исследования показали, что физетин – один из самых мощных сенолитиков, способных активизировать процессы апоптоза. Физетин, в отличие от экранированных фенолов, содержит четыре гидроксильные группы и одну кето-группу (рис. 2).

Многообразие биологических эффектов физетина обуславливается его антиоксидантными свойствами. Способность скавенировать свободные радикалы, как указывают ряд авторов, определяется количеством гидроксильных групп [2].

К числу полифенольных соединений, реализующих антирадикальные свойства за счёт гидроксильных групп относятся следующие представители: ликвиритигенин (2), нарингенин (3), физетин (4), кверцитин (5), дегидрокверцетин (5) – в скобках указано число ОН-групп в структуре полифенолов. По количеству гидроксильных групп физетин уступает дегидрокверцетину и кверцетину. Выраженные антиоксидантные свойства физетина обуславливается наличием в структуре В-ароматического кольца гидроксильной группы в пара-положении (рис. 2).

В ранее проведенных исследованиях установлена антиоксидантная активность экстракта люцерны. В модельной тест-системе, где генерировались процессы пероксидации желточных липопротеидов, водный экстракт люцерны снижал светосумму хемилюминесценции до $90,21 \pm 0,67$ у. е. ($p \leq 0,001$) против $106,73 \pm 1,77$ у. е. в контроле [3]. Эраконд, содержащий широкий спектр полифенольных соединений, рекомендуется в качестве эффективного средства для коррекции патофизиологических сдвигов в системе окислительного гомеостаза при острой лучевой патологии [4].

ЛИТЕРАТУРА

1. Бельков М.В. Инфракрасные спектры и фармакологическая активность экранированных фенолов / М.В. Бельков, Г.И. Полозов, И.В. Скорняков и др. // Журнал прикладной спектроскопии. – 2011. – Т. 78, № 3. – С. 427–432.
2. Зверев Я.Ф. Флавоноиды как перспективные природные антиоксиданты / Я.Ф. Зверев, В.М. Брюханов // Бюллетень медицинской науки. – 2017. – № 1 (5). – С. 20–27.
3. Кари М. Исследование влияния фитопрепаратов на процессы свободнорадикального окисления в желточных липопротеидах *in vitro* / М. Кари, В.Н. Байматов, В.Н. Козлов, А.М. Багаутдинов, Е.Е. Пономарев // Известия Международной академии аграрного образования. – 2018. – № 42–1. – С. 123–127.
4. Козлов В.Н. Активность антиоксидантных ферментов у крыс при экспериментальной острой лучевой болезни / В.Н. Козлов, В.Н. Байматов, Кари Мохаммадулла Ходжа, Е.В. Кузнецова и др. // Ветеринария, Зоотехния и Биотехнология. – 2019. – № 8. – С. 50–56.
5. Чиркин А.А. Биохимия / А.А. Чиркин, Е.О. Данченко. – М.: «Медицинская Литература», 2010. – 624 с.
6. Щетинин П.П. Механизмы реализации антирадикальной активности пространственно затрудненных фенолов / П.П. Щетинин, А.П. Щетинина // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2016. – № 12–3. – С. 112–114.