УДК 619:616

ПЕРСПЕКТИВНАЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНАЯ ДОБАВКА С АНТИОКСИДАНТНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

Харченко Ю.А., Дмитриев В.Н.

ОГБУЗ «Белгородский онкологический диспансер», Белгород, e-mail: kharchenko70@rambler.ru

Антиоксиданты природного происхождения все шире используются в клинической практике. В ходе работы изучены положительные свойства продукта, содержащегося в отходах производства дигидрокверцетина, получившего условное название биофлавоноидный комплекс лиственницы. Он представляет собой сыпучую порошкообразную массу кремового цвета и содержит в своём составе: дигидрокверцетин; димеры и тримеры дигидрокверцетина; дигидрокемпферол; эриодиктиол; нарингенин; остальное – неидентифицированные природные вещества. Установлено, что биофлавоноидный комплекс лиственницы малотоксичен для лабораторных и сельскохозяйственных животных. Применяемый в качестве добавки к корму, он положительно влияет на морфологические и биохимические показатели крови, повышает естественную резистентность и сохранность сельскохозяйственных животных и птицы. Учитывая положительные свойства биофлавоноидного комплекса лиственницы, его низкую стоимость, рекомендуется дальнейшее изучение эффективности данной биологически активной добавки с целью более широкого внедрения в клиническую практику.

Ключевые слова: биофлавоноиды, дигидрокверцетин, биофлавоноидный комплекс лиственницы

PROMISING BIOLOGICALLY ACTIVE FOOD ADJUNCT WITH ANTIOXIDANT ACTION

Kharchenko Yu.A., Dmitriev V.N.

Belgorod oncology dispensary, Belgorod, e-mail: kharchenko70@rambler.ru

The role of the antioxidants based on natural origin increased in clinical practice during the past years. In this trial we studied the positive properties of the product contained in the waste production of dihydroquercetin, entitled bioflavonoid complex of larch. It is a loose powdery mass of cream-colored and contains in its composition in terms of dry substance: dihydroquercetin; dimers and trimers of dihydroquercetin; dihydrokaempferol; eriodictyol; naringenin; the rest – unidentified natural substances.The larch bioflavonoid complex showed low toxicity in laboratory and farm animals biological experiments. If it is used as a feed supplement, it has a positive effect on the morphological and biochemical parameters of blood, increases natural resistance and decreasing mortality of farm animals and poultry. Taking into account the positive properties of bioflavonoid complex of larch, its low cost, it is recommended that further investigation of the efficacy of this biologically active additives.

Keywords: bioflavonoids, dihydroquercetin, bioflavonoid complex of larch

В настоящее время биологически активные вещества растительного происхождения приобретают всё большее значение, так как они обладают меньшим побочным действием, чем синтетические препараты, сходны по структуре и действию с естественными компонентами организма человека [24]. Одним из перспективных источников фитопрепаратов считаются лекарственные растения, содержащие флавоноиды, которые в силу широкого распространения в растениях и большого структурного разнообразия в настоящее время находятся в центре внимания исследователей в области фармакогнозии, фармации и медицины [11]. Под термином флавоноиды (от латинского слова flavus— жёлтый, считается, что первые выделенные из растений флавоноиды имели желтую окраску, однако позднее установлено, что многие из них бесцветны) объединены различные соединения, генетически связанные друг с другом, но обладающие различным фармакологическим действием. Флавоноиды широко распространены в растительном мире. Флавоноидсодержащие растения и препараты применяются в медицине и ветеринарии благодаря широкому спектру фармакологической активности, малой токсичности, а также также возможностью длительного применения без риска возникновения побочных реакций.

Термин «биофлавоноиды» впервые появился в середине прошлого века. В 1936-1937 годах лауреат Нобелевской премии венгерский биохимик Альберт Сент-Дьёрди в результате поиска противоцинготных факторов пищи выделил из лимона и красного перца субстанцию, которая способствовала укреплению капилляров и повышала противоцинготную активность аскорбиновой кислоты. Вскоре выяснилось, что в пищевых и лекарственных растениях достаточно часто встречаются вещества, обладающие биологически активным действием. Назвали эти вещества растительного происхождения флавоноидами или биофлавоноидами. Особое внимание изучению значимости флавоноидов стали уделять в конце XX, начале XXI вв. К настоящему времени из различных растительных источников обна-

ружено и описано более 9000 флавоноидных соединений, принадлежащих к восьми основным классам флавоноидов [21]. При этом важно отметить, что только за последние 10–15 лет число фармакопейных растений, содержащих флавоноиды, увеличилось с 11 до 30 видов. Вместе с тем созданию лекарственных препаратов на основе флавоноидных растений препятствует недостаточная степень изученности их химического состава, зависимостей в ряду «химическая структура – спектральные характеристики» и «компонентный состав – фармакологические свойства». Кроме того, в настоящее время остро стоит проблема объективной стандартизации сырья лекарственных растений и фитопрепаратов, содержащих флавоноиды, поскольку во многих случаях в методиках анализа отсутствует доказательная база или же не используются современные инструментальные возможности [11].

Флавоноиды представляют собой полифенольные соединения, в структуре которых лежит дифенилпропановый углеродный скелет, т.е. соединения С3-С3-С6 ряда, имеющие в молекуле два бензольных кольца, соединённых друг с другом трёхуглеродным фрагментом. Большинство из флавоноидов находятся в клетках в виде соединений с сахарами (гликозиды) и органическими кислотами.

Другое название флавоноидов – арилбензо[b]пираны. Биогенетеческим предшественником этих соединений является халкон. Циклизация халкона ведёт к биосинтезу флаванона, который таким образом является предшественником всех других типов. Они образуются из халкона в результате реакций окисления, восстановления, гидратации, дегидрирования [17].

Общепринятая классификация флавоноидов предусматривает их деление на классы, исходя из степени окисленности центрального трёхуглеродного фрагмента (атомы С2, С3 и С4). Основными классами флавоноидов являются: флаваны, катехины, лейкоантоцианидины, антоцианидины, флаванононы, флавононолы, флавоны, флавонолы.

Исследование флавоноидных соединений коры лиственницы было начато в 70-х годах XX века [14, 15, 19]. В коре лиственницы широко распространены гликозиды и сахарные эфиры оксикоричных кислот. Оксикоричные кислоты занимают особое положение среди растительных фенольных соединений поскольку они являются биогенетическими предшественниками большинства других фенольных соединений [4]. Попытка обнаружения в коре лиственницы лейкоантоцианидинов была безуспешна, вероятнее всего, из-за их высокой реакционной способности, но они являются необходимым звеном в биосинтезе флаван-3-олов. Из флавоноидов, содержащих кетонную группу, наименее окисленный тип – флаваноны. Эти соединения встречаются в большинстве семейств высших растений. Например, они обычны в древесине лиственницы, сосны и других хвойных. Богатым источником флаванонов служат цитрусовые. В коре лиственницы обнаружен только один представитель флаванонов – нарингенин [7]. Флаванонолы, т.е. 3-гидроксифлаваноны, встречаются в природе редко. Однако некоторые из них находятся в значительных количествах в отдельных видах растений. Так, таксифолин (дигидрокверцетин) – основной флавоноидный компонент флавоноидной фракции, извлекаемой из древесины лиственницы [3]. Флавоны, как и их 3-гидроксипроизводные (флавонолы), относятся к наиболее распространённым метаболитам растительного мира. Эти вещества можно найти практически в любом виде растений. Среди растительных метаболитов достаточно часто встречаются димерные производные флавона, называемые бифлавоноидами [17].

В коре лиственницы идентифицирован ряд флавонолов: кемпферол, кверцетин, мирицетин, изорамнетин, морин [8]. В 1973 г. из коры лиственницы сибирской Larix sibirica Л.Т. Пашининой с сотрудниками был выделен биофлавоноид лиственол, уточненную структуру которого изучили Z. Shen и сотрудники в 1985 г. благодаря использованию более совершенных методов исследования. Авторы назвали изученное вещество лариксинолом (larixinol). Было выяснено, что данное соединение относится к новому классу флавоноидных соединений – спиробифлавоноидов. К настоящему времени кроме лариксинола из коры лиственницы выделены еще три спирофлавоноидных соединения: лариксидинол, ларизинол и трифлариксинол [21].

Наиболее важная для растения внутренняя часть коры, граничащая с камбием, осуществляющая проведение продуктов ассимиляции, создающая нисходящий ток веществ, участвующая в накоплении веществ, используемых в процессе жизнедеятельности растения – это луб (флоэма). Из луба лиственницы идентифицированы нарингенин, эриодиктиол, дигидрокемпферол, дигидрокверцетин, кемпферол, кверцетин, (+)-катехин, ресвератрол и астрингенин [9].

Исследования химического состава полифенольного комплекса коры лиственницы показали, что он является сложной сме-

сью фенольных соединений [8]. С помощью хроматографических методов полифенольный комплекс коры лиственницы можно разделить на фракции: I – фенолокислоты и их эфиры; II – мономерные флавоноиды; III – спирофлавоноиды; IV – олигомерные и полимерные флавоноидные соединения. Содержание фракций составило: I – 7-10 %, II – 12-15 %; III – 35- 40 % и IV – 40-45 % [6]. 19 При проведении исследования в лаборатории фармакологии НИОХ СО РАН (Новосибирск) было выявлено, что полифенольный комплекс коры лиственницы обладает капилляроукрепляющей активностью, превосходящей активность дигидрокверцетина, известного мощного антиоксиданта и капилляропротектора, в 1,2-1,4 раза. По величине антиоксидантного эффекта сравним или незначительно уступает, а по гепатопротекторному превосходит дигидрокверцетин, при этом его антихолестазные свойства выражены в среднем в 2 раза сильнее [21].

Широкая амплитуда биологической активности флавоноидов связана с многообразием их химических структур и вытекающих из них различных физико-химических свойств. Являясь малотоксичными соединениями, флавоноиды обладают антиоксидантными, капилляропротекторными, желчегонными, гепатозащитными, кардиопротекторными, противоатеросклеротическими, противовоспалительными, антимикробными, противовирусными и другими видами фармакологических свойств.

Многие жизненно важные метаболические и физиологические процессы, протекающие в организме, тесно связаны со свободнорадикальным окислением. Оно влияет на физико-химические свойства биологических мембран, их проницаемость, структуру, что отражается на функциональной активности клеток и организма в целом. Свободные радикалы являются постоянными продуктами кислородного метаболизма в клетках живых организмов и в норме продуцируются в результате разнообразных процессов, принимающих участие практически при всех физиологических функциях [18].

Избыток свободных радикалов и продукты, образующиеся при ускорении свободнорадикального окисления, способны непосредственно реагировать с белками, нуклеиновыми кислотами и ферментами, что ведёт к потере их биологической активности. Интенсификация свободнорадикального окисления является закономерным процессом потенцирования патогенных эффектов воздействия этиологических факторов инфекционной и неинфекционной природы. Активация процессов свободнорадикального окисления описана при ишемии, гипоксиях, стрессах, эндокринопатиях, опухолевом процессе, различных бактериальных инфекциях и интоксикациях [10, 22, 23].

Флавоноиды способны как непосредственно захватывать свободные радикалы, так и участвовать в восстановлении других антиоксидантов. Непосредственное антиоксидантное действие флавоноидов реализуется за счет наличия в их структуре слабых фенольных гидроксильных групп, легко отдающих свой атом водорода при взаимодействии со свободными радикалами. Сами они превращаются в малоактивные феноксильные радикалы [12]. Флавоноиды как антиоксиданты играют важную роль в предупреждении нарушений структуры и функции печени при различных патологических состояниях, ускорении регенерации и восстановлении функциональной активности гепатоцитов, прооксидантный эффект многих гепатотропных ядов в значительной степени определяет патогенез их повреждающего действия на печень, поэтому необходимость использования флавоноидов в качестве гепатопротекторов не вызывает сомнения [5]. По степени антиоксидантной активности сравнение ряда флавоноидов в эксперименте позволило расположить их в следующем порядке: мирицетин > кверцетин > рамнетин > морин > диосметин > нарингенин > апигенин > катехин > 5,7-диокси-3,4,5-триметоксифлавон > робинин > кемпферол > флавон [25].

Уровень развития лабораторной и промышленной техники XX века долго не позволял получать биофлавоноиды, в том числе дигидрокверцетин, в сколько-нибудь значимых количествах, что поставило барьер на их широком внедрении в профилактическую и клиническую медицину. Препятствием были дорогостоящее сырье, малые объемы производства и, соответственно, высокая рыночная стоимость на мировом рынке. Все дело в том, что на начальном этапе выделять дигидрокверцетин приходилось из редкого, а потому дорогостоящего сырья эвкалипта, виноградной косточки, лепестков роз или японской сакуры. Естественно, себестоимость производства дигидрокверцетина не позволяла наладить массовый выпуск этого препарата.

Усилиями российских ученых и технологов конце 60-х годов прошлого века был разработан новый метод обработки природного сырья для производства дигидрокверцетина, считающегося одним из самых мощных антиоксидантов. Итогом этой работы явилось существенное снижение стоимости получаемого чистого продукта при его вы-

соком качестве и чистоте. Этим природным сырьем является корневая и комлевая часть Сибирской и Даурской лиственницы.

В научных исследованиях в России и за рубежом были изучены свойства дигидрокверцетина и он был признан важнейшим из биофлавоноидов, наиболее эффективно обеспечивающим экзогенную антиоксидантную защиту организма человека. Дигидрокверцетин – эталонный антиоксидант, уникальный природный акцептор свободных радикалов кислорода, не имеющий аналогов. Значение ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) – доходит до 60.000 условных единиц. Метод Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) для измерения антиоксидантной активности был разработан в Национальном институте старения (США) в 1992 г. Единицей измерения в методе ORAC является микромоль Тролокса (Trolox equivalents) на единицу массы (μTE/1 г). Точность теста составляет ± 5 %. Тролокс (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота) – это водорастворимая производная витамина Е (α-токоферол) и аскорбиновой кислоты (витамин С). Шкала ORAC основана на методе оценки способности веществ к поглощению свободных радикалов кислорода.

Учитывая многие положительные свойства дигидрокверцетина, было обращено внимание на продукт, содержащийся в отходах его производства, получивший условное название биофлавоноидный комплекс лиственницы. Данный препарат содержит в своём составе, помимо дигидрокверцетина, комплекс биофлавоноидов. Он представляет собой сыпучую порошкообразную массу кремового цвета и содержит в своём составе в пересчете на сухое вещество: дигидрокверцетин – 8,5 %; димеры и тримеры дигидрокверцетина – 5 %; дигидрокемпферол – 5 %; эриодиктиол – 1,5 %; нарингенин – около1 %; остальное – неидентифицированные природные вещества. Комплекс обладает биологической активностью, превышающей активность очищенного дигидрокверцетина в 1,2 –1,4 раза.

Установлено, что биофлавоноидный комплекс лиственницы малотоксичен для лабораторных и сельскохозяйственных животных. Применяемый в качестве добавки к корму, он положительно влияет на морфологические и биохимические показатели крови, повышает естественную резистентность и сохранность сельскохозяйственных животных и птицы [1, 2, 13, 16, 20, 24].

Биофлавоноидный комплекс лиственницы, применённый белым крысам на фоне гепатита, вызванного четырёххлористым углеродом, восстанавливает антитоксическую функцию печени, нормализует в сыворотке крови активность ферментов переаминирования и щелочной фосфатазы, снижает до физиологических значений содержание билирубина и глюкозы, повышает уровень общего белка.

Производственные испытания подтвердили экспериментальные данные о высоком гепатотропном действии биофлавоноидного комплекса лиственницы и его положительном влиянии на физиологическое состояние животных. При этом отмечалось увеличение приростов и сохранности животных, оптимизация обменных процессов, нормализация активности ферментов переаминирования и щелочной фосфатазы, повышалась естественная резистентность организма.

В опытах на поросятах-отъёмышах биофлавоноидный комплекс, применяемый в дозе 1,0 г/кг массы тела, способствует повышению среднесуточных приростов (на 8,3 %), увеличению альбуминов в сыворотке крови (на 22,5 %), снижению активности аланинаминотрансферазы (на 21,1 %), повышению фагоцитарной активности нейтрофилов (на 17,3 %).

Применение биофлавоноидного комплекса поросятам-молочникам в качестве добавки к корму в дозе 1,0 г/кг массы тела способствует увеличению среднесуточных приростов (на 19,1 %), снижению до физиологических значений активности аланинаминотрансферазы (на 14,5 %) и щелочной фосфатазы (на 6,2 %). Увеличивается фагоцитарная активность нейтрофилов (на 24,2 %), в сыворотке повышается количество альбуминов (на 34,7 %) и содержание иммуноглобулинов в сыворотке (на 13,5 %) [20].

После применения препарата цыплятам-бройлерам и гусятам повысилась сохранность птицы (3,2-4,5 %), возрос среднесуточный прирост (на 5,6-9,2 %), снизились затраты корма (на 7,4-11,4) [1, 2].

Учитывая положительные результаты, полученные при исследовании биофлавоноидного комплекса лиственницы, его низкую стоимость, можно рекомендовать дальнейшее изучение эффективности данной биологически активной добавки с целью более широкого внедрения в клиническую практику.

Список литературы

1. Авдонина О.О., Пчелинов М.В., Наумова С.В. Влияние новой биологически активной добавки на естественную резистентность цыплят-бройлеров // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана, том 214, 2013, С. 20 – 24.

2. Алексеев И.А., Пастухова Т.В. Ларикарвит – эффективная кормовая добавка при выращивании гусиного молодняка // Ученые записки Казанской государственной ака-

демии ветеринарной медицины им Н.Э. Баумана, том 214, 2013, С. 29 – 33.

3. Бабкин В.А., Трофимова Н.Н., Остроухова Л.А., Иванова С.З., Федорова Т.Е., Медведева Е.Н., Неверова Н.А., Иванова Н.В., Малков Ю.А. Полифенолы и полисахариды биомассы лиственницы. Технология выделения и биологическая активность // Химия и технология растительных веществ: тезисы докладов V Всероссийской научной конференции. – Уфа, 2008. – С. 23.

4. Бутылкина А.И. Превращения флавоноидов коры пихты и лиственницы в антоцианидиновые соединения / А.И. Бутылкина: дис. ... канд. хим. наук. – Красноярск, 2006. – 103 с.

5. Гордиенко А.Д. Гепатопротекторный механизм действия флавоноидов // Фармация. – 1990, № 3, С. 75–78.

6. Гордиенко И.И., Федорова Т.Е., Иванова С.З., Бабкин В.А. Влияние экстрагента на компонентный состав фенольного комплекса, извлекаемого из коры лиственницы Гмелина // Химия растительного сырья. – 2008. – № 2.– С. 35-38.

7. Иванова Н.В., Остроухова Л.А., Бабкин В.А., Иванова С.З., Попова О.А. Комплекс мономерных фенольных соединений коры лиственницы // Химия растительного сырья. – 1999. – № 4. – С. 5-7.

8. Иванова С. З., Федорова Т.Е., Иванова Н.В., Федоров С.В., Остроухова Л.А., Малков Ю.А., Бабкин В.А. Флавоноидные соединения коры лиственницы сибирской и лиственницы Гмелина // Химия растительного сырья. – 2002. – № 4. – С. 5-13.

9. Иванова С.З., Горшков А.Г., Кузьмин А.В., Гордиенко И.И., Бабкин В.А. Фенольные соединения луба лиственницы сибирской и лиственницы Гмелина // Химия растительного сырья. – 2011. – № 2. – С. 107 – 112.

10. Карли Ф. Метаболический ответ на острый стресс. Освежающий курс лекций по анестезиологии и реаниматологии. – Архангельск, 1996. – С. 31-33.

11. Куркин В.А., Куркина А.В., Авдеева Е.В. Флавоноиды как биологически активные соединения лекарственных растений // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 11-9. – С. 1897-1901.

12. Накусов Т.Т. Влияние кверцетина и дигидрокверцетина на свободнорадикальные процессы в разных тканях крыс, подвергнутых гипоксической гипоксии: Дис. ... канд. биол. наук. – Ростов-на-Дону, 2009. – 161 с.

13. Носков С.Б. Фармако-токсикологические свойства ларикарвита и его влияние на качество животноводческой продукции: Дис. ... док. вет. наук. – Москва, 2011. – 298 с.

14. Пашинина Л.Т., Чумбалов Т.К., Лейман З.А. Катехины коры Larix sibirica // Химия природных соединений. – 1970. – № 4. – С. 478.

15. Пашинина Л.Т., Чумбалов Т.К., Лейман З.А. Лиственол – новый флавоноид коры Larix sibirica // Химия природных соединений. – 1973. – № 4, 5. – С. 623–629.

16. Рябцева Е.Н. Фармако-токсикологические свойства ларикарвита и его использование при А-гиповитаминозе поросят: Дис. ... канд. вет. наук. – Белгород, 2009. – 115 с.

17. Семенов А.А. Очерк химии природных соединений / А.А. Семенов. – Новосибирск: Наука. Сибирская издательская фирма РАН, 2000. – 664 с.

18. Скворцов В.В. Оптимизация лечения хронических диффузных заболеваний печени с использованием лазеротерапии: Дис. ... док. мед. наук. Волгоград, 2005. – 230 с.

19. Тюкавкина Н.А., Лаптева К.И., Медведева С.А. Фенольные экстрактивные вещества рода Larix // Химия древесины. 1973. № 13, С. 3–17.

20. Харченко Ю.А. Влияние биофлавоноидного комплекса лиственницы на физиологическое состояние, биохимический состав крови поросят и функциональное состояние печени крыс: Дис. ... канд. биол. наук. – Белгород, 2013. – 108 с.

21. Федорова Т.Е., Иванова С.З., Бабкин В.А. Спирофлавоноидные соединения: структура и распространение в природе // Химия растительного сырья. – 2009. – № 4. – С. 5-13.

22. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. Источники образования свободных радикалов и их значение в биологических системах в условиях нормы // Современные наукоемкие технологии. – 2006. – № 6 – С. 28-34.

23. Шепелев А.П., Корниенко И.В., Шестопалов, А.В., Антипов А.Ю. Роль процессов свободнорадикального окисления в патогенезе инфекционных болезней. Вопросы медицинской химии. – 2000. – № 2. – С. 54-59.

24. Шумакова О.О. Влияние биофлавоноидного комплекса лиственницы на гематологические показатели, естественную резистентность и продуктивность птицы: Дис. канд. биол. наук. – Белгород, 2015. – 97 с.

25. Hussain S.R., Gillard J., Gillard P. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. // Phytochemestry, 1987; Vol. 26. – P. 2489 – 2491.

26. Shen Z., Falshaw C.P., Haslam E., Begley M.J. A Novel Spiro-Biflavonoid from Larix gmelinii // J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1985, № 16. P. 1135 – 1137.