

УДК 615.011

Оценка мембраностабилизирующих свойств фитозэкстрактов в экспериментах *in vitro*

© *Роднаева Ольга Анатольевна*

кандидат биологических наук, доцент
Бурятский государственный университет
Россия, Улан-Удэ, 670002, ул. Октябрьская, 36а
E-mail: oarodnaeva@gmail.com;

© *Чукаев Сергей Александрович*

кандидат медицинских наук, доцент
Бурятский государственный университет
Россия, Улан-Удэ, 670002, ул. Октябрьская, 36а
E-mail: s_chukaev@mail.ru

В рамках работ по поиску перспективных фармакологических средств для создания на их основе лекарственных препаратов, в настоящее время большое место отводится исследованиям *in vitro*, предполагающим использование для оценки биологической активности клеточных культур, субклеточных фракций или отдельных ферментов. Одним из важных свойств потенциальных лекарственных веществ является степень их воздействия на мембраны клеток. Учитывая многочисленные данные об успешном использовании средств природного происхождения в профилактических целях и комплексной терапии заболеваний, поиск перспективных фармакологических средств из арсенала средств растительного происхождения, является в настоящее время актуальной задачей. В работе представлены результаты экспериментов *in vitro* по оценке мембраностабилизирующего действия средств растительного происхождения на моделях осмотического и перекисного гемолиза эритроцитов.

Ключевые слова: растительные экстракты, клеточные мембраны, мембраностабилизирующий эффект, эритроциты, гемолиз.

Введение

В работах по поиску веществ, перспективных для создания на их основе лекарственных препаратов, в настоящее время большое место отводится исследованиям *in vitro*, предполагающим использование для оценки биологической активности и других имеющих к ней отношение свойств материала клеточных культур, субклеточных фракций или отдельных ферментов. Такой подход обеспечивает минимизацию количества задействованных животных на одно исследованное соединение и низкую степень инвазивного вмешательства в их нормальную жизнедеятельность.

К числу свойств, исследуемых на ранних стадиях, относится мембраностабилизирующая активность, которая вносит существенный вклад в обеспечение ряда фармакологических эффектов. Кроме того, имея представление о том, какое действие препарат оказывает на мембраны клеток — угнетаю-

щее или стабилизирующее, можно сделать вывод о его вероятном взаимодействии с органами и тканями [1–3].

Для оценки мембраностабилизирующего действия в качестве модельного объекта удобно использовать клетки эритроцитов, чрезвычайно восприимчивые к окислительному повреждению, так как являются носителями кислорода. Их мембраны богаты полиненасыщенными липидами и ионами Fe^{2+} — потенциальными катализаторами свободнорадикальных реакций, и в этой связи могут служить достоверной моделью для оценки мембраностабилизирующей, антирадикальной активности лекарственных средств.

Перспективной группой в этом отношении являются средства растительного происхождения, обладающие разнообразным спектром активности и низкой токсичностью, благодаря сумме биологически активных веществ, в частности флавоноидных комплексов, отдельных индивидуальных соединений. Опубликованы данные, демонстрирующие выраженные мембраностабилизирующие свойства настоев листьев крапивы двудомной, плодов облепихи крушиновидной [1–3]. В связи с этим, актуальным является изучение свойств этих растений в других лекарственных формах.

Цель исследования

Сравнительная оценка степени выраженности мембраностабилизирующих свойств сухих экстрактов листьев крапивы двудомной и листьев облепихи крушиновидной в экспериментах *in vitro*.

Материалы и методы

В исследовании были изучены мембраностабилизирующие свойства фармакологических средств растительного происхождения: сухого экстракта листьев облепихи крушиновидной (ЭОК) и сухого экстракта листьев крапивы двудомной (ЭКД), полученные методом трехкратной экстракции 40% -ным этанолом в Отделе биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН. Указанные фитосредства тестировались в концентрациях 0,03 г/л, 0,1 г/л, 0,3 г/л, 1,0 г/л, 3,0 г/л.

Мембраностабилизирующую активность растительных экстрактов определяли по методу Kovalev I. E., [5] с использованием 1%-ной суспензии отмытых эритроцитов донорской крови. Перекисный гемолиз эритроцитов вызывали реактивом Фентона. Степень гемолиза регистрировали через 2 часа по оптической плотности при длине волны 540 нм. Осмотический гемолиз вызывали добавлением дистиллированной воды в оптимальных условиях, которые были определены в предварительных исследованиях, при длине волны 540 нм. Мембраностабилизирующее действие анализируемого средства оценивали по степени гемолиза, относительно контроля. Исследования проводили в трехкратной повторности. Контрольные показатели гемолиза принимали за 100%. Процент гемолиза подсчитывали по формуле

$$\text{гемолиз (\%)} = A / A_0 \times 100\% ,$$

где A — оптическая плотность, опыт (экстракт),

A_0 — оптическая плотность, контроль (без экстракта).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием общепринятых методов вариационной статистики, с применением коэффициента Стьюдента.

Результаты исследований

Данные, полученные при оценке влияния фитосредств на осмотический гемолиз эритроцитов (рис. 1), свидетельствуют о выраженном мембраностабилизирующем действии их в максимальной концентрации (3,0 г/л). При этом снижение процента гемолизированных клеток для ЭОК и ЭКД составляет 49,6 и 46,7% соответственно, в сравнении с контролем (100%).

Однако, при уменьшении концентрации исследуемых средств в пробах, процент гемолиза эритроцитов значительно выше, при чем независимо от изменения концентрации фитозэкстрактов.

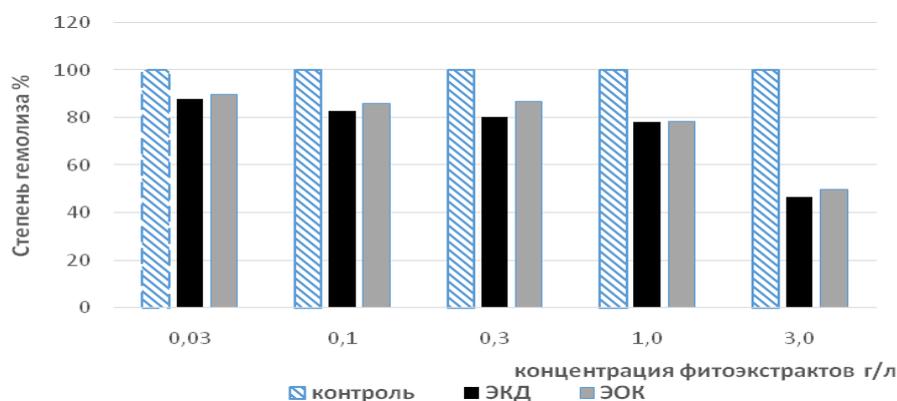


Рис. 1. Влияние фитозэкстрактов на степень осмотического гемолиза эритроцитов

Сходная тенденция отмечается и на модели перекисного гемолиза (рис. 2). Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что резистентность эритроцитарных мембран повышается с увеличением концентрации растительных экстрактов. Так, при использовании ЭОК в максимальной концентрации (3,0 г/л) процент гемолиза эритроцитов составляет 48,3%. При добавлении в среду меньших концентраций фитосредства процент гемолиза существенно от контрольных значений не отличается. В диапазоне концентраций от 0,03 до 1,0 г/л данный фитозэкстракт способствует снижению процента гемолиза до 69,0–83,5% от уровня контроля.

При использовании ЭКД также отмечается, зависимое от концентрации средства в пробе, снижение процента гемолиза эритроцитов. Наиболее выраженное мембраностабилизирующее действие фитозэкстракт оказывает в концентрации 3,0 г/л, при которой гемолиз эритроцитарных клеток составляет 14,3%. Значительное снижение регистрируемого показателя отмечается также при использовании ЭКД в концентрации 1 г/л (процент гемолиза ниже на 52,0% в сравнении с контролем). При использовании более низких концентраций ЭКД выраженного снижения интенсивности процесса гемолиза эритроцитов не отмечается.

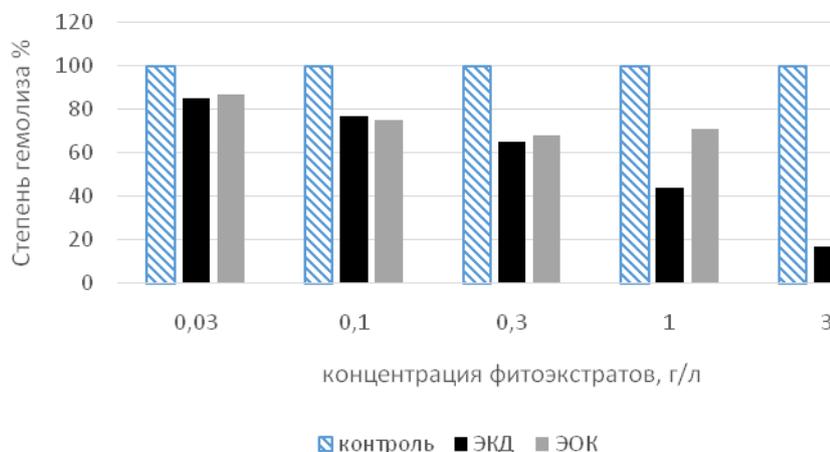


Рис. 2. Влияние фитοэкстрактов на степень перекисного гемолиза эритроцитов

Заключение

Сравнительный анализ определения мембраностабилизирующего действия, в условиях гипосмотичности среды и перекисной атаки мембран, катализируемой ионами металлов переменной валентности, сухих экстрактов листьев облепихи крушиновидной и листьев крапивы двудомной, свидетельствует о выраженном мембранозащитном влиянии указанных фитосредств только в максимальной исследуемой концентрации (3,0 г/л). Кроме того, видимый эффект на модели перекисного гемолиза отмечается при использовании ЭКД в концентрации 1,0 г/л. Указанный эффект обусловлен наличием антиоксидантных, антирадикальных свойств исследуемых растительных средств в отношении активных форм кислорода, что было подтверждено в экспериментах *in vitro* хемилюминисцентным способом [5]. Более низкие концентрации тестируемых экстрактов обладают в равной степени умеренным мембраностабилизирующим эффектом в условиях гемолиза донорских эритроцитов. Проведенные исследования необходимы для учета при составлении профилактической и терапевтической схемы использования указанных фитосредств.

Литература

1. Мухамадияров Р. А., Кривая Е. В., Круч М. А., Плотников М. Б. Оценка мембраностабилизирующего действия липосом с различными антиоксидантными препаратами на модели осмотического гемолиза // Современные проблемы науки и образования. 2012. № 4. URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=6862> (дата обращения: 06.12.2017).
2. Тринеева О. В., Сливкин А. И. Исследование мембраностабилизирующей, антиоксидантной и антитоксической активности водных извлечений из лекарственного растительного сырья (на примере плодов облепихи крушиновидной и листьев крапивы двудомной) на тест-системе *ragamesium caudatum* // Вестник Воронежского

государственного университета. Сер. Химия. Биология. Фармация. 2016. №1. С. 165–169.

3. Урбанова Е. З., Гуляев С. М., Николаев С. М., Туртуева Т. А. Мембраностабилизирующий эффект экстракта *Phlojodicarpus sibiricus* // Сибирский медицинский журнал. 2013. №8. С. 104–105.

4. Чукаев С. А., Роднаева О. А., Абидуева Л. Р., Нагаслаева Л. А. Оценка антиоксидантных свойств фармакологических средств растительного происхождения в экспериментах *in vitro* хемиллюминесцентным методом // Вестник Бурятского государственного университета. 2011. Вып. 12. Сер. Медицина. С. 46–50.

5. Kovalev I.E., Daniel N., Andronati S.A., et al. Influence enomelanina on hemolysis caused by free radical reactions and other factors // *Farmakologia i toksikologia*. 1986. №4. P. 89-91 (in Russian).

Evaluating Membrane-stabilizing Properties of Phytoextracts in Experiments *in vitro*

Olga A. Rodnaeva

Cand. Sci. (Biology), Assistant Prof.

Buryat State University

36a Oktyabrskaya St., Ulan-Ude 670002, Russia

E-mail: oarodnaeva@gmail.com

Sergei Al. Chukaev

Cand. Sci. (Medicine), Assistant Prof.

Buryat State University

36a Oktyabrskaya St., Ulan-Ude 670002, Russia

E-mail: s_chukaev@mail.ru

To discover promising pharmacological agents for developing some medicine on their basis, at present *in-vitro* research is being used to evaluate the biological activity of cell cultures, subcellular fractions or individual enzymes. One of the important properties of potential drugs is their effect on cell membranes. Considering the numerous data on the successful use of natural products for preventive and integrated treatment of diseases, making promising pharmacological agents of herbal products, is currently an urgent task. The paper presents the results of *in vitro* experiments on the evaluation of the membrane-stabilizing action of plant-derived agents on models of osmotic and peroxidic hemolysis of erythrocytes.

Keywords: plant extracts; cell membranes; membrane-stabilizing effect; erythrocytes; hemolysis.